



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA**

CAROLINE GAIA ANDRADE

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CMS121 EM UM MODELO MURINO DE
ALTERAÇÃO METABÓLICA INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA**

Florianópolis

2025

CAROLINE GAIA ANDRADE

**Avaliação dos efeitos do CMS121 em um modelo murino de alteração
metabólica induzida por dieta hiperlipídica**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Jessica Jorge Probst

Florianópolis

2025

Andrade, Caroline Gaia

Avaliação dos efeitos do CMS121 em um modelo murino de alteração metabólica induzida por dieta hiperlipídica / Caroline Gaia Andrade ; orientadora, Jéssica Jorge Probst, 2025.

42 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

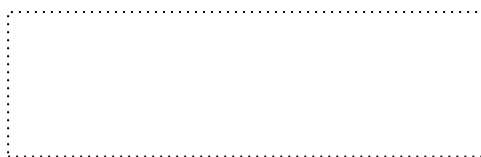
1. Ciências Biológicas. 2. CMS121. 3. Obesidade. 4. Metabolismo. 5. Distúrbios metabólicos. I. Probst, Jéssica Jorge. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Caroline Gaia Andrade

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CMS121 EM UM MODELO MURINO DE
ALTERAÇÃO METABÓLICA INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA**

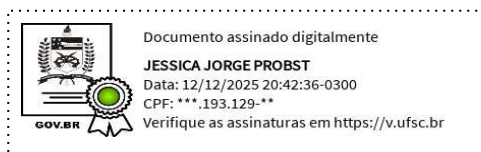
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de
Licenciada e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas.

Florianópolis, 28 de novembro de 2025.



Coordenação do Curso

Banca examinadora



Dra. Jessica Jorge Probst
Orientadora



Prof. Dr. Maurício Peña Cunha
Instituição UFSC



Me. Barbara dos Santos
Instituição UFSC

Florianópolis, 2025.

Para a pequena Caroline, que descobriu seu sonho ao ganhar o primeiro microscópio.

AGRADECIMENTOS

A priori à minha família, que sempre estiveram ao meu lado em cada etapa desses 5 anos de graduação. Aos meus avós, Anete Ildebranda Andrade e Jair Piedade Andrade por terem sido meu momento feliz e seguro em meio ao caos da rotina, e por acreditarem profundamente na minha capacidade mesmo quando eu duvidava, e por me oferecerem amor, apoio e carinho.

Aos meus amigos que estiveram comigo ao longo desse período, e que tornaram tudo mais doce e descontraído. Em especial Ademar, Pedro, João e Isabelle, que me fizeram aprender com os erros e tornaram tudo mais leve.

Ao Projeto Pequenos Grandes Cientistas, que foi uma das experiências mais especiais da minha formação. Onde descobri minha paixão por divulgação científica e pela ciência como um todo. A cada escola visitada, a cada criança curiosa e a cada experimento simples transformado em paixão, eu fui lembrando do porquê escolhi a biologia.

Agradeço também ao Laboratório de Defesas Celulares, onde pude crescer como pesquisadora, errar, acertar e aprender com cada etapa experimental. Agradeço em especial ao professor Alcir, que me abriu as portas e me ensinou com muito prazer e disposição. Sou extremamente grata por toda paciência.

Agradeço à minha orientadora Jéssica, que esteve comigo nos bastidores, revisando, ajustando, perguntando, puxando minha orelha quando precisava e me ensinando a pensar. Obrigada por acreditar em mim mesmo quando eu chegava insegura, por me ensinar com calma cada técnica, por me mostrar que errar faz parte.

Por fim, agradeço a mim mesma. Por não desistir quando tudo parecia difícil, por segurar firme nos dias em que a ansiedade tentou me derrubar, por acreditar nos meus sonhos e me permitir viver tudo isso com coragem. Hoje eu entendo que fazer um TCC não é só sobre escrever um trabalho acadêmico, é sobre escrever também uma parte da nossa vida, e eu tenho muito orgulho da pessoa que me tornei nesse caminho.

“The essence of life is statistical improbability on a colossal scale.” — Richard Dawkins.

RESUMO

Os distúrbios metabólicos associados ao consumo excessivo de gorduras e açúcares simples representam um desafio crescente para a saúde pública, impulsionando a busca por alternativas terapêuticas capazes de modular vias bioenergéticas e reduzir danos sistêmicos. Entre os compostos promissores, o CMS121, um derivado sintético da fisetina, tem demonstrado potencial metabólico e neuroprotetor em modelos de envelhecimento e obesidade genética. Contudo, permanece incerto se seus efeitos se estendem a modelos induzidos por dieta, que mimetizam com maior fidelidade o padrão alimentar ocidental. Assim, este estudo avaliou o efeito do CMS121 nas alterações metabólicas e comportamentais causados por uma dieta hiperlipídica associada ao consumo de frutose. Sessenta animais Swiss machos foram distribuídos em cinco grupos: controle (CTL), CMS121 isolado (CMS), dieta hiperlipídica com frutose (HF) e dois grupos HF com frutose suplementados com CMS121 de forma contínua (+CMS full) ou apenas na fase final do protocolo (+CMS Half). Foram avaliados ganho de peso, ingestão alimentar e hídrica, ingestão calórica, tolerância à glicose, teste de campo aberto e parâmetros bioquímicos plasmáticos incluindo glicose em jejum, triglicerídeos, colesterol total, HDL, LDL, ureia, AST, LDH e lactato. A dieta hiperlipídica produziu o fenótipo esperado, caracterizado pelo aumento do ganho de peso, maior consumo de ração e água, maior consumo calórico, pior resposta ao desafio glicêmico, elevação de colesterol total e LDL e redução de HDL. A suplementação com CMS121, entretanto, não preveniu essas alterações, independentemente do regime de administração. Paralelamente, nenhum dos parâmetros comportamentais avaliados pelo teste de campo aberto apresentou alterações induzidas pela dieta ou pelo composto. Em contrapartida, quando comparado ao grupo controle, o CMS121 isolado reduziu os níveis plasmáticos de triglicerídeos e colesterol total. Os demais parâmetros bioquímicos, incluindo glicose em jejum, HDL, LDL, ureia, AST, LDH e lactato, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos avaliados. Nas condições experimentais adotadas, o CMS121 não demonstrou eficácia metabólica ampla, embora tenha promovido efeitos pontuais sobre o perfil lipídico, como a redução de triglicerídeos e colesterol total no grupo tratado apenas com CMS121, indicando a necessidade de estudos adicionais com diferentes doses e concentrações, tempos de intervenção e combinações experimentais para melhor compreender seu potencial no contexto de disfunção metabólica.

Palavras-chave: CMS121, obesidade, metabolismo, distúrbios metabólicos.

ABSTRACT

The metabolic disturbances associated with the excessive consumption of fats and simple sugars represent a growing public health challenge, driving the search for therapeutic alternatives capable of modulating bioenergetic pathways and reducing systemic damage. Among the promising compounds, CMS121, a synthetic derivative of fisetin, has shown metabolic and neuroprotective potential in models of aging and genetic obesity. However, it remains uncertain whether its effects extend to diet-induced models, which more faithfully mimic the Western dietary pattern. Thus, this study evaluated the effect of CMS121 on metabolic and behavioral alterations caused by a high-fat diet combined with fructose consumption. Sixty male Swiss mice were distributed into five groups: control (CTL), CMS121 alone (CMS), high-fat diet with fructose (HF), and two HF + fructose groups supplemented with CMS121 continuously (+CMS Full) or only during the final phase of the protocol (+CMS Half). The following parameters were assessed: weight gain, food and water intake, caloric intake, glucose tolerance, open field test performance, and plasma biochemical markers including fasting glucose, triglycerides, total cholesterol, HDL, LDL, urea, AST, LDH, and lactate. The high-fat diet produced the expected phenotype, characterized by increased weight gain, higher food and water consumption, greater caloric intake, impaired response to the glucose challenge, elevated total cholesterol and LDL, and reduced HDL. However, CMS121 supplementation did not prevent these alterations, regardless of the administration regimen, and none of the behavioral parameters assessed in the open field test showed diet- or treatment-induced changes. In contrast, when compared to the control group, CMS121 alone reduced plasma levels of triglycerides and total cholesterol. The remaining biochemical parameters, including fasting glucose, HDL, LDL, urea, AST, LDH, and lactate, showed no significant differences among the groups. Under the experimental conditions employed, CMS121 did not demonstrate broad metabolic efficacy, although it promoted specific effects on the lipid profile, such as reducing triglycerides and total cholesterol in the group treated exclusively with CMS121. These findings highlight the need for additional studies using different doses and concentrations, intervention periods, and experimental combinations to better understand its potential in the context of metabolic dysfunction.

Keywords: CMS121, obesity, metabolism, metabolic disturbances.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo de ação do CMS121.....	17
Figura 2 - Protocolo experimental	20
Figura 3 - Ilustração Campo Aberto	22
Figura 4 - Variação de peso corporal.....	24
Figura 5 - Consumo alimentar	25
Figura 6 - Consumo hídrico.....	26
Figura 7 - Ingestão calórica	27
Figura 8 – Perfil glicêmico	28
Figura 9 - Avaliação comportamental no Teste de Campo Aberto	30
Figura 10 - Análise do perfil lipídico	32
Figura 11 - Avaliação de parâmetros bioquímicos séricos e teciduais.....	33
Figura 12 - CTL X CMS121	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC1	Acetil-CoA carboxilase 1
Acetil-CoA	Acetil coenzima A
AGL	Ácidos graxos livres
AMPK	Proteína quinase ativada por 5' AMP
ANOVA	Análise de Variância
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
AUC	Área sob a curva
CA	Campo Aberto
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
HF	Dieta hiperlipídica
HbA1c	Hemoglobina glicada
HC	Dieta hipercalórica
HDL	Lipoproteína de alta densidade (<i>High Density Lipoprotein</i>)
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (<i>Low Density Lipoprotein</i>)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Phosphate Buffered Saline (Solução Salina Tamponada com Fosfato)
RI	Resistência à insulina
SAMP8	Senescence Accelerated Mouse Prone 8 (modelo de envelhecimento acelerado)
SM	Síndrome Metabólica
SUS	Sistema Único de Saúde
TTG	Teste de Tolerância à Glicose
TG	Triglicerídeos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	DISTURBIOS METABÓLICOS.....	13
1.2	MODELOS EXPERIMENTAIS.....	14
1.3	CMS121.....	16
2	JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE.....	18
3	OBJETIVOS	19
3.1	OBJETIVO GERAL	19
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1	ANIMAIS	19
4.2	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	19
4.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS	20
4.4	INGESTÃO CALÓRICA	21
4.5	TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE.....	21
4.6	TESTE COMPORTAMENTAL.....	22
4.7	EUTANÁSIA.....	22
4.8	ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	23
4.9	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1	EFEITOS DO CMS121 NO PESO CORPORAL	23
5.2	AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR, HÍDRICO E CALÓRICO	25
5.3	PERFIL GLICÊMICO	27
5.4	COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO, EXPLORATÓRIO E LOCOMOTOR	29
5.5	ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	30
5.6	SUPLEMENTAÇÃO DO CMS121 EM ANIMAIS SAUDÁVEIS.....	34
5.7	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	35
6	CONCLUSÃO	36
	REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

1.1 DISTÚRBIOS METABÓLICOS

Os distúrbios metabólicos constituem um conjunto de alterações fisiopatológicas que comprometem a homeostase energética e aumentam o risco de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Dentre esses distúrbios, a obesidade destaca-se como condição central, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo e por uma etiologia multifatorial, envolvendo interações entre fatores genéticos, ambientais e comportamentais (SCHWARTZ *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2014).

Embora o índice de massa corporal ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) seja amplamente utilizado como critério inicial de triagem, a identificação da obesidade requer a avaliação complementar da distribuição da adiposidade e dos impactos fisiológicos que o excesso de gordura exerce sobre diferentes tecidos e órgãos (RUBINO *et al.*, 2025). A relevância clínica da obesidade reflete-se em sua alta prevalência global. Estimativas da Organização Mundial da Saúde indicam que cerca de 650 milhões de adultos vivem com obesidade, configurando um grave problema de saúde pública (OMS, 2024). No Brasil, dados do Vigitel mostram que a prevalência praticamente dobrou nas últimas duas décadas, passando de 11,8% em 2006 para 24,3% em 2023 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023). Estudos nacionais também sugerem que padrões alimentares inadequados e baixos níveis de atividade física estão fortemente associados ao aumento da adiposidade na população (ISER *et al.*, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2019). Assim, o crescimento contínuo dos distúrbios metabólicos representa um desafio emergente, especialmente em países em desenvolvimento como o Brasil (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2021).

Em nível bioquímico, a obesidade está associada a importantes alterações nos mecanismos de regulação do balanço energético, especialmente nos sistemas neuroendócrinos responsáveis pelo controle da fome, saciedade e gasto energético (SALTIEL; OLEFSKY, 2017). Além das repercussões metabólicas, também há uma importante interface com distúrbios neurocomportamentais. Evidências mostram que o estado inflamatório crônico associado ao excesso de tecido adiposo pode afetar circuitos neurais envolvidos na regulação emocional, aumentando o risco de comportamentos ansiosos, depressivos e compulsórios (WANG *et al.*, 2023). Alterações na sinalização de hormônios no sistema nervoso central, a exemplo da leptina (produzida principalmente pelo tecido adiposo) e da insulina, podem comprometer mecanismos neuronais relacionados ao

controle da recompensa e do comportamento alimentar, favorecendo episódios de hiperfagia, compulsão alimentar e maior reatividade ao estresse. Dessa forma, a obesidade não se limita às disfunções metabólicas, mas envolve também repercussões neurobiológicas que afetam diretamente o comportamento (HAN *et al.*, 2021).

A obesidade desempenha papel fundamental na fisiopatologia da Síndrome Metabólica (SM), condição definida pela presença simultânea de acúmulo de gordura abdominal, resistência à insulina, alterações no perfil lipídico (aumento dos triglicérides e redução do HDL-colesterol) e hipertensão arterial. Esses desfechos decorrem, em grande parte, da disfunção do tecido adiposo branco, cuja expansão promove inflamação crônica de baixo grau e alterações endocrinometabólicas que contribuem para a resistência à insulina (LAKKA *et al.*, 2002; FORD; GILES, 2003; HAFFNER; TAEGTMEYER, 2003). A SM, por sua vez, está associada a maior risco de mortalidade geral e cardiovascular, reforçando a importância clínica da obesidade visceral como determinante central desse processo.

As complicações cardiovasculares estão entre as principais consequências da SM e da obesidade abdominal. O aumento da adiposidade visceral tem sido associado a maior risco cardiovascular (KRAGELUND; HASSAGER, 2005), especialmente quando coexistem outras condições como diabetes e hipertensão (ANTONIO *et al.*, 2023). Esses dados reforçam a relação entre excesso de gordura corporal, inflamação sistêmica e comprometimento da saúde cardiometabólica. Outra condição fortemente associada à obesidade é o Diabetes mellitus tipo 2 (DM2), caracterizado pela redução da resposta dos tecidos-alvo à insulina, resultando em hiperglicemia crônica. A resistência à insulina, frequentemente originada do excesso de tecido adiposo e da inflamação metabólica, constitui o principal mecanismo fisiopatológico da doença. A hiperglicemia persistente promove complicações microvasculares, como neuropatia periférica, retinopatia e nefropatia (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). Em 2021, estimou-se que 537 milhões de adultos conviviam com diabetes no mundo, com custos globais superiores a 966 bilhões de dólares, evidenciando a magnitude do problema (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2021).

1.2 MODELOS EXPERIMENTAIS

Os eventos bioquímicos e fisiológicos envolvidos na síndrome metabólica, como resistência à insulina (RI), inflamação crônica de baixo grau, disfunção endotelial e alterações no metabolismo lipídico e glicêmico constituem processos centrais para o entendimento da fisiopatologia dos distúrbios metabólicos. A investigação desses

mecanismos exige modelos experimentais capazes de reproduzir, de forma controlada, as alterações observadas em humanos, o que tem motivado o desenvolvimento e aprimoramento de modelos animais nas últimas décadas (TSCHÖP; HEIMAN, 2001).

Diversos tipos de modelos pré-clínicos têm sido utilizados para o estudo da obesidade e de suas comorbidades, sendo classificados, de modo geral, em modelos geneticamente modificados e modelos de obesidade induzida por dieta (LUTZ; WOODS, 2012). Os modelos genéticos incluem linhagens monogênicas em que mutações específicas levam ao desenvolvimento de fenótipos compatíveis com obesidade e RI. Entre esses, destacam-se os camundongos *ob/ob*, que apresentam mutação no gene *ob*, responsável pela síntese da leptina. A ausência desse hormônio, fundamental para a sinalização de saciedade, resulta em hiperfagia, ganho excessivo de peso, hiperinsulinemia e hiperglicemia (WANG; CHANDRASEKERA; PIPPIN, 2014). Apesar da mutação impedir a produção de leptina, esses animais mantêm sensibilidade ao hormônio, podendo apresentar redução da ingestão alimentar e melhora metabólica quando tratados com leptina exógena (COLEMAN, 1978).

Outra linhagem amplamente empregada é a *db/db*, caracterizada por mutações no gene *Lepr*, que codifica o receptor de leptina (CHEN *et al.*, 1996; FRIEDMAN; HALAAS, 1998). Nesses animais, a produção de leptina permanece intacta, mas sua ação é prejudicada pela ausência de receptores funcionais. Consequentemente, ocorrem hiperfagia, rápido ganho de peso e hiperglicemia acentuada, o que torna essa linhagem um modelo particularmente relevante para o estudo da fisiopatologia do DM2 e de suas complicações microvasculares (BIDDINGER; KAHN, 2006; STACHURA *et al.*, 2022).

Apesar de sua utilidade, modelos genéticos de obesidade apresentam limitações importantes, pois a obesidade humana é predominantemente multifatorial e raramente associada a mutações monogênicas (GOOSSENS, 2017). Nesse contexto, modelos de obesidade induzida por dieta tornaram-se alternativas mais fisiologicamente representativas, especialmente quando se busca mimetizar padrões alimentares contemporâneos.

Entre esses modelos, destacam-se as dietas hiperlipídicas (HF), ricas em gordura de origem animal ou vegetal. O consumo crônico desse tipo de dieta induz ganho de peso, aumento dos triglicerídeos (TG) e ácidos graxos livres (AGL), hiperglicemia, hiperinsulinemia e redução da sensibilidade à insulina, alterações semelhantes às observadas em humanos com distúrbios metabólicos (BUETTNER *et al.*, 2006; HARIRI; THIBAUT, 2010; BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007).

As dietas hiperlipídicas, por apresentarem alto teor de gordura e elevada densidade

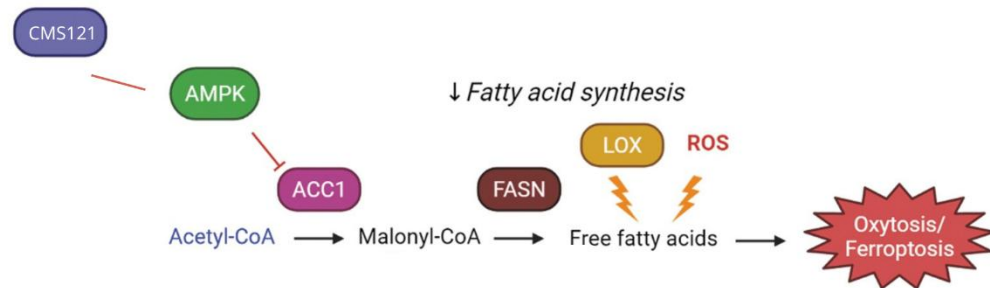
energética, configuram modelos hipercalóricos amplamente utilizados para induzir alterações metabólicas em roedores. Frequentemente associadas também ao consumo de carboidratos simples, essas dietas procuram reproduzir de modo mais fidedigno o padrão alimentar ocidental, caracterizado pelo elevado consumo de alimentos ultraprocessados. Esse tipo de protocolo experimental promove ganho de peso, resistência à insulina, inflamação sistêmica e outras alterações metabólicas relacionadas à síndrome metabólica (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007), sendo, portanto, um modelo amplamente empregado em pesquisas translacionais.

1.3 CMS121

A fisetina é um flavonol amplamente encontrado em frutos e vegetais, como morangos, maçãs, pepinos e cebolas, e apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e neuroprotetoras descritas em diversos modelos experimentais (CHIRUTA *et al.*, 2012; MAHER, 2009; RAVULA *et al.*, 2021). Apesar de seu potencial terapêutico, limitações farmacocinéticas estimularam o desenvolvimento de derivados estruturalmente otimizados. Nesse contexto, surgiu o CMS121, um composto sintético derivado da fisetina e pertencente à classe dos flavonóis, desenvolvido com o objetivo de aumentar a estabilidade, a potência e a eficácia biológica do composto original (CURRAIS *et al.*, 2019).

O CMS121 apresenta atividade neuroprotetora robusta, sendo capaz de prevenir a morte neuronal associada à oxidose/ferroptose e exibindo potência aproximadamente 400 vezes superior à fisetina (CURRAIS *et al.*, 2019). Essa ação está associada à modulação de vias metabólicas reguladas pela proteína quinase ativada por AMP (AMPK), que promove o aumento dos níveis de acetil-CoA, estimula a oxidação de substratos energéticos e inibe a síntese de ácidos graxos por osforilação da acetil-CoA carboxilase 1 (ACC1), conforme exposto na Figura 1. Como consequência, o CMS121 reduz o acúmulo lipídico, atenua o estresse oxidativo e fortalece a homeostase bioenergética neuronal, contribuindo para maior resistência a processos degenerativos.

Figura 1 – Mecanismo de ação do CMS121



Legenda: Mecanismo de ação do CMS121: o composto promove a ativação da via AMPk, levando à fosforilação da ACC1 e, conseqüentemente, à redução da conversão de acetil-CoA em malonil-CoA. Fonte: Adaptado de Currais *et al.* (2024).

A avaliação farmacocinética do CMS121 reforça seu potencial translacional. Em camundongos SAMP8, caracterizados pelo envelhecimento acelerado, o composto preveniu alterações na expressão gênica associadas ao envelhecimento cerebral (CURRAIS *et al.*, 2019). Ensaios clínicos de Fase I confirmaram sua segurança, demonstrando boa tolerabilidade, rápida absorção oral e ausência de efeitos adversos graves em voluntários saudáveis, jovens e idosos, mesmo em doses elevadas (MAHER *et al.*, 2025). Esses resultados sustentam a continuidade do desenvolvimento clínico do CMS121, especialmente em condições neurodegenerativas relacionadas ao envelhecimento.

Além de seus efeitos no sistema nervoso central, o CMS121 tem exibido propriedades protetoras em diversos modelos de neurodegeneração e envelhecimento. Em camundongos com doença de Alzheimer, reduziu lipoperoxidação, inflamação e declínio cognitivo (ATES *et al.*, 2020). Em modelos de envelhecimento acelerado, preservou a função mitocondrial e melhorou o metabolismo cerebral (CURRAIS *et al.*, 2019). Outro estudo também evidenciou seu efeito protetor na perda auditiva associada à idade, promovendo a manutenção de sinapses auditivas (PHAM *et al.*, 2023). Conjuntamente, esses achados indicam que o CMS121 atua sobre múltiplos alvos celulares, conferindo ampla capacidade neuroprotetora.

Evidências recentes sugerem que o CMS121 também exerce efeitos benéficos em contextos metabólicos. Em camundongos db/db, modelo clássico de DM2 e disfunção metabólica, o composto melhorou a tolerância à glicose, reduziu os níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) e insulina, e atenuou a dislipidemia sistêmica (ZAHID *et al.*, 2023). Além disso, protegeu o fígado contra lipotoxicidade e inflamação, reduziu marcadores de lesão renal e restaurou proteínas mitocondriais renais, indicando ação abrangente sobre a

bioenergética e a integridade tecidual.

Corroborando esses achados, estudo recente do nosso grupo demonstrou que o CMS121 também modula parâmetros metabólicos em animais saudáveis submetidos à alimentação padrão (DAFRE *et al.*, 2024). Os animais tratados apresentaram menor ganho de peso, aumento de massa magra e menor ingestão alimentar, além de redução da inflamação hepática e melhora da homeostase glicêmica. Essas evidências reforçam o potencial do CMS121 como uma molécula promissora no contexto da obesidade e de distúrbios metabólicos associados.

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

As dietas hiperlipídicas têm sido amplamente associadas ao desenvolvimento de obesidade e de múltiplas alterações metabólicas, incluindo RI, dislipidemia e inflamação sistêmica de baixo grau, fatores que contribuem significativamente para o aumento da morbimortalidade associada às doenças cardiometabólicas. Além do impacto biológico, essas condições geram elevados custos ao sistema de saúde, reforçando a necessidade de intervenções terapêuticas inovadoras baseadas em mecanismos celulares e moleculares bem caracterizados. Nesse cenário, o CMS121, um derivado sintético da fisetina, tem se destacado por sua capacidade de modular vias metabólicas e reduzir estresse oxidativo e inflamação em diferentes modelos experimentais. Estudos pré-clínicos indicam que o composto melhora parâmetros glicêmicos e lipídicos e exerce efeitos benéficos sobre bioenergética celular, especialmente por meio da ativação da AMPK e da proteção contra processos de ferroptose. No entanto, apesar do crescente interesse no potencial terapêutico do CMS121, ainda são escassas as investigações que avaliem seus efeitos em modelos de obesidade induzida por dieta hiperlipídica, o que representa uma lacuna relevante na literatura.

Diante dessas evidências, justifica-se a investigação do CMS121 como um possível modulador das alterações metabólicas induzidas por dietas hiperlipídicas. Assim, hipotetiza-se que o tratamento com o CMS121 seja capaz de atenuar o ganho de peso, melhorar o controle glicêmico e otimizar o perfil lipídico em modelo experimental de obesidade, contribuindo para a compreensão de seu potencial translacional no contexto das doenças metabólicas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do CMS121 nas alterações metabólicas e comportamentais causados por uma dieta hiperlipídica associada ao consumo de frutose.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os efeitos do CMS121 na perda de peso, controle glicêmico e ingestão alimentar entre os diferentes grupos experimentais, em modelo experimental de obesidade induzida por dieta hiperlipídica.
- Investigar a influência do CMS121 no comportamento ansioso, exploratório e locomotor de animais alimentados com dieta hiperlipídica.
- Avaliar o impacto do CMS121 sobre o perfil lipídico dos animais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

60 camundongos (*Mus musculus*) machos da linhagem Swiss, com 6 semanas de idade foram utilizados para a realização do experimento. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e mantidos no Biotério do Departamento de Bioquímica, onde ficaram alojados 3 animais por caixa. O experimento foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o protocolo nº 1058210524.

O biotério apresentava temperatura regulada (22–24 °C) e controle de luminosidade (ciclo 12 h claro / 12 h escuro). Os animais foram mantidos em caixas forradas com maravalha e com livre acesso à água filtrada e ração. Em todas as caixas foram mantidos pequenos túneis elaborados a partir de cano PVC e bolinhas de papel, que representavam enriquecimento ambiental para os roedores.

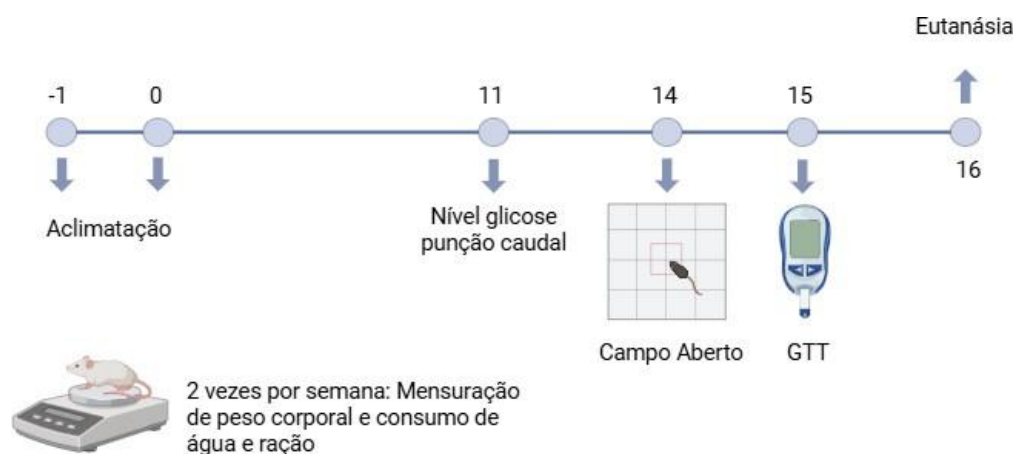
4.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O protocolo experimental está representado na Figura 1, que ilustra a sequência das etapas realizadas ao longo do protocolo. Inicialmente, os animais passaram por um período de aclimatação de sete dias (semana -1), seguido do protocolo com duração total de 16

semanas. Durante todo o período experimental, foram realizadas duas mensurações semanais do peso corporal e do consumo de água e ração.

Na semana 11, foi realizada a punção caudal para determinação dos níveis glicêmicos basais nos animais em jejum. Na semana 14, os animais foram submetidos ao Teste de Campo Aberto (CA). Na semana 15, realizou-se o Teste de Tolerância à Glicose (TTG) e, por fim, na semana 16, ocorreu a eutanásia, seguida da coleta de amostras sanguíneas para análises bioquímicas plasmáticas.

Figura 2 - Protocolo experimental



Legenda: Linha do tempo experimental dos procedimentos realizados nos animais. Após um período de aclimação (dia -1 a 0), foram iniciadas mensurações semanais de peso corporal e consumo de água e ração. No dia 11, foi realizada a avaliação dos níveis glicêmicos por punção caudal. No dia 14, os animais foram submetidos ao teste comportamental de Campo Aberto, seguido pelo Teste de Tolerância à Glicose (GTT) no dia 15. No dia 16, procedeu-se à eutanásia para coleta de tecidos e análises posteriores.

4.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos experimentais, com 12 animais em cada grupo, sendo eles: Controle (CTL), CMS121, High Fat (HF), High Fat + CMS121 Half (+CMS Half) e High Fat + CMS121 Full (+CMS full).

As dietas utilizadas foram formuladas e fornecidas por uma empresa especializada, Pragsoluções Biociências (Jaú, São Paulo, Brazil), mantidas em ambiente controlado e livres de contaminantes. Os animais do grupo CTL receberam dieta com composição nutricional equilibrada, utilizada como base para comparação. Os animais do grupo CMS121 receberam dieta com a mesma formulação da dieta controle, acrescida do composto CMS121 na concentração de 400 ppm/kg (DAFRE *et al.*, 2024). Já os animais do grupo HF receberam a

mesma formulação da dieta controle porém acrescida com 30% de banha. Os animais do grupo +CMS121 Half receberam a dieta hiperlipídica durante a primeira metade do experimento e, posteriormente, passaram a receber a dieta HF associada ao tratamento com CMS121. Já o grupo +CMS121 Full consumiu a dieta HF contendo CMS121 durante todo o período experimental. Além disso, os animais submetidos à dieta hiperlipídica também receberam 10% de frutose dissolvida na água de beber.

4.4 INGESTÃO CALÓRICA

A ingestão calórica corresponde à quantidade total de energia consumida pelos animais em um determinado intervalo de tempo, sendo expressa em kcal por dia por animal ou normalizada por grama de peso corporal. Esse valor é determinado a partir da quantidade de ração ingerida e da densidade calórica da dieta fornecida (PUGH; KLOPP; WEINDRUCH, 1999).

Para o cálculo do consumo calórico, o consumo de ração (em gramas) e de água, com ou sem frutose (em mililitros), foi mensurado duas vezes por semana durante as trocas de maravalha, utilizando uma balança de precisão. A quantidade consumida, inicialmente expressa em gramas, foi convertida para calorias com base na concentração calórica específica de cada dieta de acordo com o fabricante. A dieta padrão (CTL) apresentava 4,131 kcal/g, enquanto a dieta hiperlipídica (HF) continha 5,696 kcal/g, incluindo suas variações com ou sem suplementação com CMS121. Nos casos em que a dieta foi associada à solução de frutose, os valores calóricos individuais foram somados. Por fim, para estimar o consumo calórico semanal per capita, o total de calorias consumidas em cada gaiola foi dividido pelo número de animais alojados nela. Esse método segue protocolos estabelecidos para controle do consumo calórico em roedores e primatas, conforme descrito por Pugh, Klopp e Weindruch (1999).

4.5 TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE

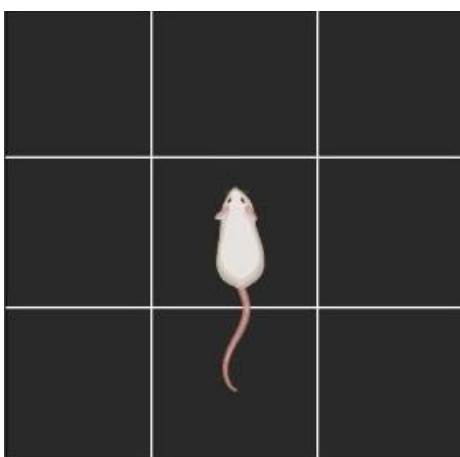
Na décima quinta semana de tratamento os animais foram submetidos ao TTG. Os animais foram submetidos a pelo menos 12 horas de jejum, com acesso a água filtrada. Durante esse período, os animais que recebiam frutose na água de beber foram igualmente mantidos com água sem frutose, de modo a evitar interferências nos níveis glicêmicos basais. Inicialmente, a glicose foi medida em jejum utilizando um glicosímetro (G-Tech Lite®, Accumed Produtos Médicos Hospitalares Ltda., Duque de Caxias, RJ, Brazil). A retirada do

sangue se deu via veia lateral da cauda, com a realização da imobilização dos camundongos utilizando um pano para contenção. Uma gota de sangue de fluxo livre foi necessária para averiguação da glicemia pela tira do medidor de glicose. Em seguida, os animais receberam solução de glicose (2g/kg) via intraperitonal, seguindo o protocolo de Kennard *et al.* (2022). Posteriormente os níveis de glicose sanguínea foram medidos após 30, 60, 90 e 120 minutos em cada animal de todos os grupos.

4.6 TESTE COMPORTAMENTAL

O Campo Aberto foi utilizado com o objetivo de avaliar o comportamento do tipo ansioso e exploratório. Trata-se de um teste comportamental amplamente utilizado em estudos com roedores. Os animais foram individualmente colocados no centro de uma caixa de acrílico com medidas 40x40 cm, com o assoalho dividido em 9 quadrantes conforme figura 2, e filmados por 5 minutos, de acordo com a padronização descrita por Hall (1934). Os parâmetros comportamentais mensurados foram a distância percorrida (cm), o tempo de permanência no centro e nos cantos da arena (segundos), movimento do tipo *rearing* (período em que o animal se sustenta em pé somente com as patas traseiras, caracterizado como um movimento típico exploratório) e a quantidade de bolo fecal.

Figura 3 - Ilustração Campo Aberto



Fonte: Ilustração elaborada pela autora utilizando o software Biorender

Legenda: Modelo ilustrativo do CA

4.7 EUTANÁSIA

Ao final do experimento os animais foram anestesiados com solução de xilazina e

cetamina (10mg/kg e 100mg/kg respectivamente) em solução salina tamponada com fosfato (PBS, do inglês Phosphate-Buffered Saline) via intraperitoneal, e o sangue coletado via punção cardíaca direta.

4.8 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Os glóbulos vermelhos e o plasma foram separados por centrifugação (15 minutos, 2000g, 10°C). No plasma, kits comerciais da Labtest® (Lagoa Santa, MG, Brazil), foram aplicados para análise dos níveis de Glicose (Ref 84), AST-GOT (Ref 109), Triglicerídeos (Ref. 87), Colesterol (Ref 76), Lipoproteína de alta densidade (HDL; Ref. 145), Lipoproteína de baixa densidade (LDL; Ref. 146), Lactato Desidrogenase (LDH; Ref. 86), Ureia (Ref.104) e Lactato (Ref.138).

A quantificação de proteínas nas amostras foi realizada através do método de Lowry, no qual proteínas presentes nas amostras reagem com o reagente Folin-Ciocalteu resultando em um composto de coloração azul, onde a intensidade está relacionada com a concentração da amostra (LOWRY *et al.*, 1951).

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados através do programa Prisma GraphPad 9 (Boston, MA, EUA). A normalidade dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk. As comparações entre os grupos foram realizadas através de Análise de Variância para um fator (One-way ANOVA), seguida do teste post-hoc de Tukey's, quando dados paramétricos; ou através do teste de Kruskal-Wallis com teste post-hoc de Dunn's quando dados não paramétricos. A variação de peso e o escore clínico foram avaliados através da Análise de Variância para dois fatores (Two-way ANOVA) com post-hoc de Tukey, se observada diferença estatística. As comparações estatísticas entre o grupo tratado com CMS121 e o grupo controle foram realizadas utilizando teste T. Os níveis de significância foram ajustados para 5% ($p < 0,05$) e os valores expressos em média \pm desvio padrão (DP).

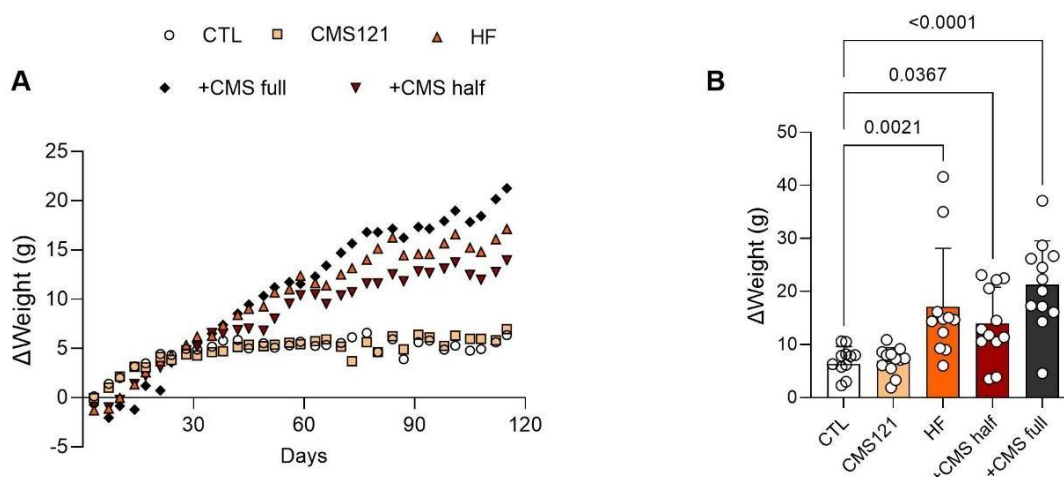
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EFEITOS DO CMS121 NO PESO CORPORAL

A evolução do peso corporal ao longo dos 120 dias revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais (Fig. 2A–B). A ANOVA de

uma via seguida de pós-hoc indicou que os animais alimentados com dieta hiperlipídica (HF) apresentaram maior ganho de peso em comparação ao grupo controle (CTL) ($p = 0,0021$). Esse aumento de peso é compatível com padrões descritos em estudos que utilizam dietas ricas em gordura, nos quais a elevação progressiva do peso corporal é um dos primeiros sinais associados ao impacto metabólico desse tipo de dieta (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007; HARIRI; THIBAUT, 2010). Entretanto, o ganho de peso por si só não caracteriza obesidade; ele representa apenas um dos componentes do fenótipo metabólico, que deve ser confirmado por outros marcadores avaliados no estudo. O tratamento com CMS121 associado à dieta HF também resultou em maior ganho de peso em relação ao CTL, tanto no protocolo parcial (+CMS half; $p = 0,0367$) quanto no protocolo contínuo (+CMS full; $p < 0,0001$).

Figura 4 - Variação de peso corporal



Legenda: (A) Variação do peso corporal ao longo dos 120 dias de protocolo experimental. (B) Comparação da variação de peso corporal entre o D0 e o D120. N = 9–12. Valores expressos como média ou média \pm desvio padrão.

Os grupos submetidos à dieta padrão, com ou sem CMS121 (CTL e CMS121), apresentaram os menores incrementos de peso, sem diferenças significativas entre si ($p > 0,05$). Esse achado sugere que o CMS121, na ausência de um estímulo obesogênico, não altera o peso corporal basal, corroborando a ausência de efeito anorexígeno ou metabólico direto em condições fisiológicas normais.

Em conjunto, esses resultados demonstram que o CMS121 não preveniu o aumento de peso induzido pela dieta hiperlipídica, independentemente do regime de administração.

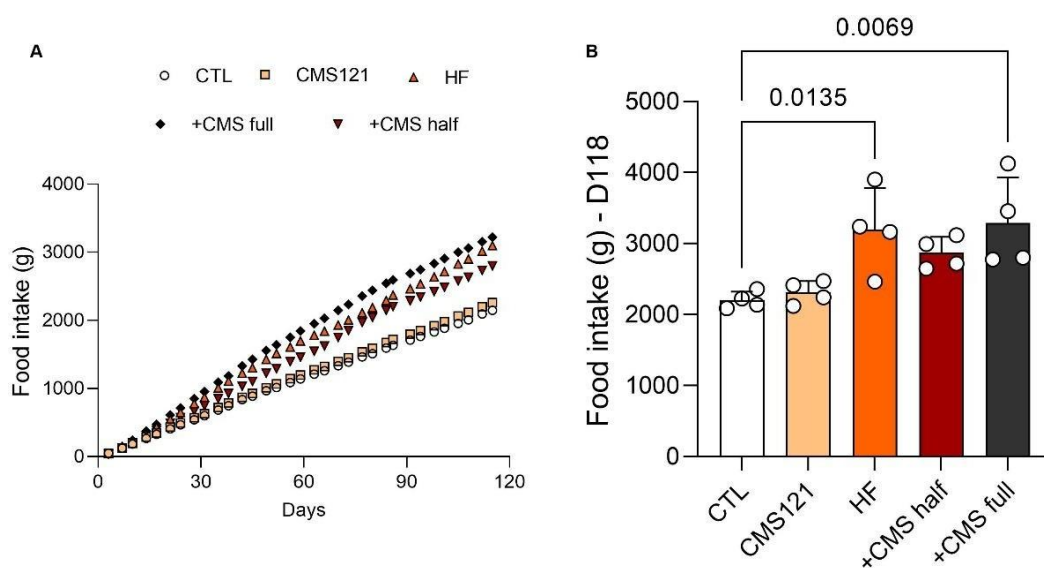
Esses achados contrastam com dados previamente publicados, nos quais o CMS121 reduziu o ganho de peso em até 40% em animais saudáveis e melhorou parâmetros metabólicos (DAFRE *et al.*, 2024). A divergência entre os estudos pode estar relacionada ao estado metabólico de base dos animais, uma vez que os efeitos benéficos descritos anteriormente foram observados apenas em organismos não submetidos a desafios obesogênicos.

Assim, os dados do presente estudo indicam que, no contexto de uma dieta hiperlipídica, o CMS121 não exerce efeito protetor contra o ganho de peso. Esses resultados reforçam a necessidade de investigar os mecanismos pelos quais o CMS121 interage com vias metabólicas sob condições de sobrecarga lipídica, uma vez que seus efeitos parecem depender do estado metabólico inicial dos animais.

5.2 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR, HÍDRICO E CALÓRICO

A análise do consumo total de ração ao longo dos 120 dias revelou diferenças significativas entre os grupos experimentais (Fig. 4A–B). A ANOVA de uma via seguida de pós-hoc indicou que os animais do grupo HF e +CMS full consumiram mais ração do que o grupo controle ($p = 0,0135$ e $p = 0,0069$, respectivamente). O CMS121, administrado isoladamente ou em associação à dieta hiperlipídica, não reduziu o consumo alimentar, indicando ausência de efeito anorexígeno do composto.

Figura 5 - Consumo alimentar

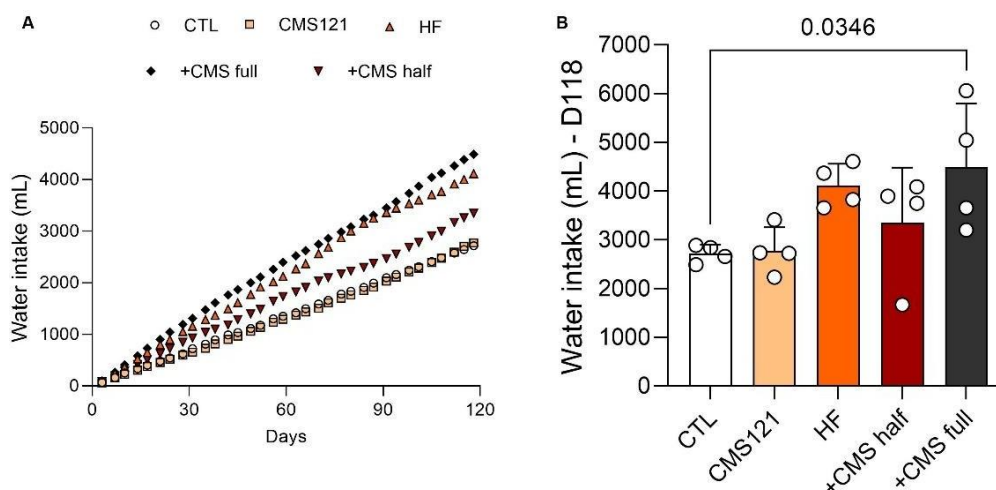


Legenda: (A) Curva de consumo alimentar acumulado (g) ao longo dos 118 dias de protocolo experimental. (B) Quantificação do consumo alimentar total acumulado até o dia 118 (D118). N = 4 caixas por grupo, com 3

animais cada. Valores expressos como média ou média \pm desvio padrão.

A quantificação do consumo hídrico (Fig. 5A-B) apresentou tendência semelhante, embora a ANOVA de uma via seguida de pós-hoc tenha indicado diferença estatística significativa apenas quando comparados os grupos controle e +CMS full ($p = 0,0346$). Assim, o CMS121 não modulou a ingestão hídrica, e as variações observadas refletem predominantemente o impacto da dieta hiperlipídica.

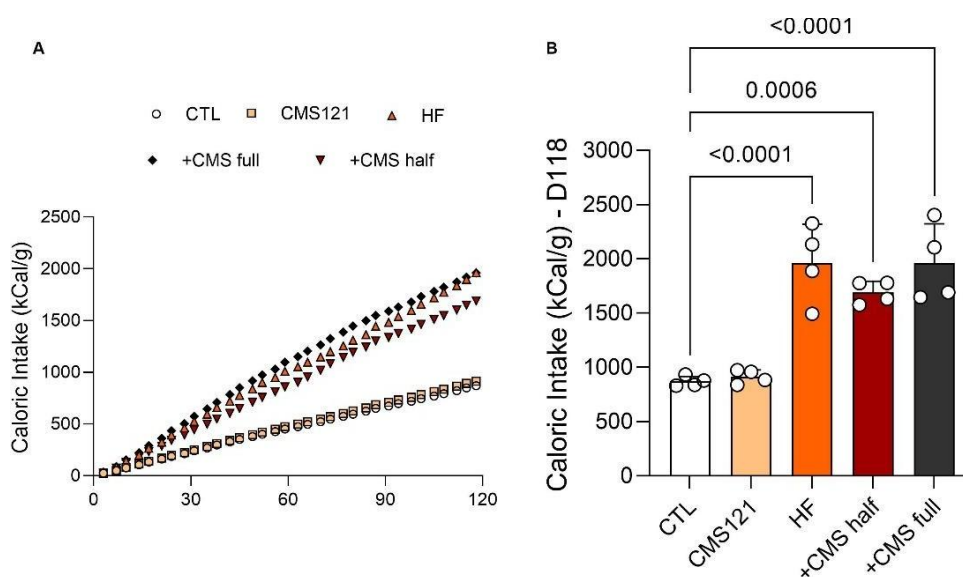
Figura 6 - Consumo hídrico



Legenda: (A) Curva de ingestão de água registrada ao longo dos 118 dias do experimento. (B) Quantificação total do consumo de água total acumulado em 118 dias. Valores expressos em média \pm desvio padrão. $N = 4$ caixas por grupo, com 3 animais cada. Valores expressos como média ou média \pm desvio padrão.

A análise da ingestão calórica (Fig. 6A–B) reforça o efeito obesogênico da dieta HF. Os grupos HF, +CMS half e +CMS full apresentaram consumo energético significativamente maior em comparação ao CTL ($p < 0,001$), caracterizando hiperfagia induzida por excesso de lipídios. No entanto, o tratamento com CMS121, tanto no regime contínuo quanto tardio, não reduziu o consumo calórico nem atenuou o comportamento hipercalórico associado à dieta.

Figura 7 - Ingestão calórica



Legenda: (A) Curva de ingestão calórica registrada ao longo dos 118 dias do experimento. (B) Quantificação total da ingesta calórica acumulada em 118. Valores expressos em média \pm desvio padrão. N = 4 caixas por grupo, com 3 animais cada. Valores expressos como média ou média \pm desvio padrão.

Conforme esperado, a dieta hiperlipídica foi o principal determinante do aumento do consumo alimentar, hídrico e calórico (Buettner; Schölmerich; Bollheimer, 2007), enquanto o CMS121 não exerceu efeito significativo sobre nenhum desses parâmetros. Esses achados indicam que os efeitos metabólicos previamente atribuídos ao CMS121 não estão relacionados à modulação direta do comportamento alimentar, ao menos no contexto de desafio hiperlipídico crônico.

5.3 PERFIL GLICÊMICO

O teste de tolerância à glicose (TTG) é amplamente empregado para a detecção de alterações na homeostase glicêmica em modelos experimentais de diabetes e obesidade (Kennard *et al.*, 2021). No presente estudo, o TTG realizado ao longo de 120 minutos revelou o padrão glicêmico esperado para todos os grupos, com aumento dos valores entre 30-60 minutos após a administração de glicose, seguido de declínio gradual até 120 minutos (Fig. 6A). A análise estatística (ANOVA) confirmou aumentos significativos da glicemia entre 30 e 90 minutos em relação ao tempo basal na maior parte das comparações ($p < 0,001$), conforme apresentado na Fig. 6B.

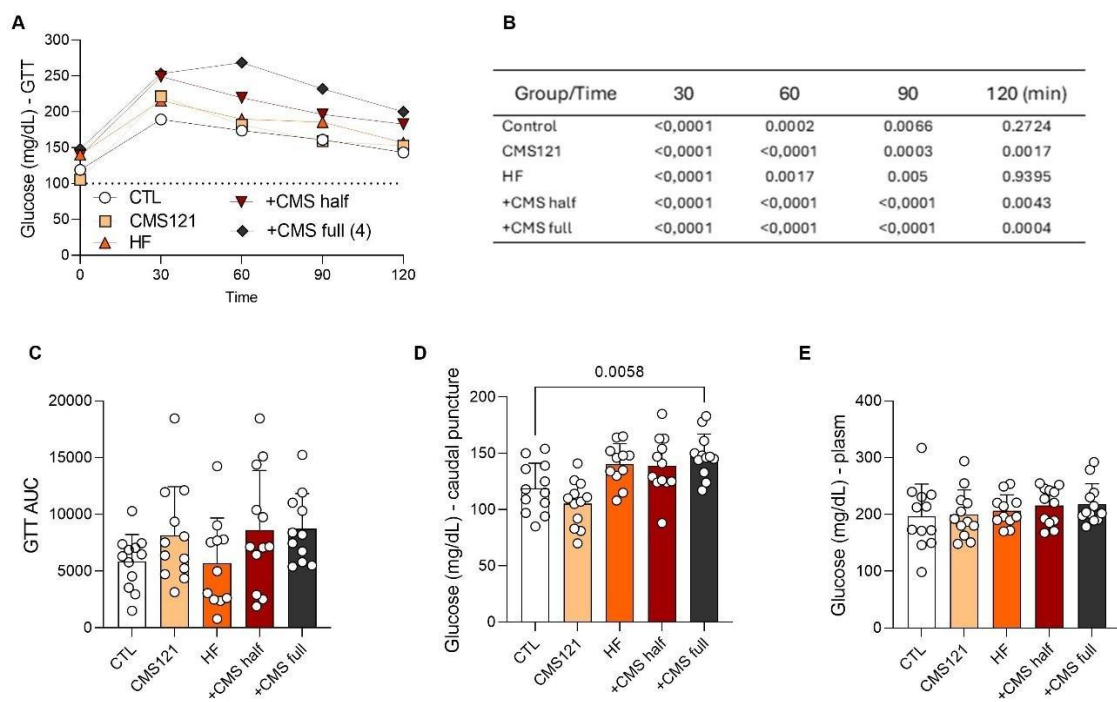
Apesar dessas diferenças nos perfis temporais, não foi observada diferença entre os grupos, visto que a ANOVA de uma via não mostrou diferença estatística na área sob a curva

(AUC) ($p = 0,1713$), conforme Fig. 6C. A elevada variabilidade individual observada entre os animais pode ter contribuído para a ausência de significância na análise integrada.

Ao avaliar a glicemia de jejum aferida na 11ª semana de protocolo, a ANOVA de uma via, seguida de pós-hoc, observou-se aumento no grupo HF+CMS Full em comparação ao CTL ($p = 0,0058$), conforme Fig. 6D, enquanto os demais grupos não apresentaram diferenças relevantes. A glicemia plasmática mensurada ao final do protocolo não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, segundo o teste de Kruskal–Wallis ($p = 0,542$).

Em conjunto, o CMS121 não foi capaz de prevenir ou atenuar as alterações glicêmicas. Em trabalho prévio do nosso grupo de pesquisa, ao comparar o grupo controle com CMS121 também foi observado um aumento dos níveis de glicose nos primeiros minutos, porém também não foi observado diferença estatística nos dados de área sob a curva no TTG (DAFRE *et al.*, 2024). Entretanto ao avaliar a glicemia por punção caudal ao final no experimento, houve uma tendência a redução dos níveis de glicose plasmática em animais saudáveis suplementados com CMS121, indicando que os efeitos do composto sobre a homeostase glicêmica podem ser mais evidentes em condições metabólicas não desafiadas (DAFRE *et al.*, 2024).

Figura 8 – Perfil glicêmico



Legenda: (A) Curva glicêmica obtida durante o teste de tolerância à glicose (TTG) ao longo de 120 minutos.

(B) Tabela com valores de p referentes às comparações entre os tempos do TTG. (C) Valores individuais e média da área sob a curva (AUC) do TTG. (D) Valores individuais e média da glicemia obtida por punção caudal na 11ª semana. (E) Valores individuais e média da glicemia plasmática no dia 118 (D118). N = 11–12 animais por grupo. Valores expressos como média ± desvio padrão.

5.4 COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO, EXPLORATÓRIO E LOCOMOTOR

O teste de campo aberto foi empregado para investigar possíveis alterações na atividade locomotora e comportamentos associados à ansiedade. A análise inicial concentrou-se no número de rearings, indicador clássico de atividade exploratória vertical (HALL, 1934). O teste de Kruskal-Wallis não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,74$), e as médias observadas permaneceram dentro da mesma faixa de variação: 30,5 no grupo controle, aproximadamente 35 no grupo CMS121, 34,5 no grupo HF e valores próximos a 30 e 35,5 nos grupos +CMS half e +CMS full, respectivamente (Fig. 5A). Esses dados indicam que nem a dieta hiperlipídica nem o tratamento com CMS121, isoladamente ou em combinação, foram capazes de modificar a atividade exploratória vertical.

A análise da atividade locomotora horizontal, medida pela distância total percorrida, reforça a ausência de efeitos comportamentais. A ANOVA de uma via não identificou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,606$), e as médias permaneceram próximas entre si, confirmando que nenhum dos tratamentos modificou o nível basal de locomoção dos animais (Fig. 5B).

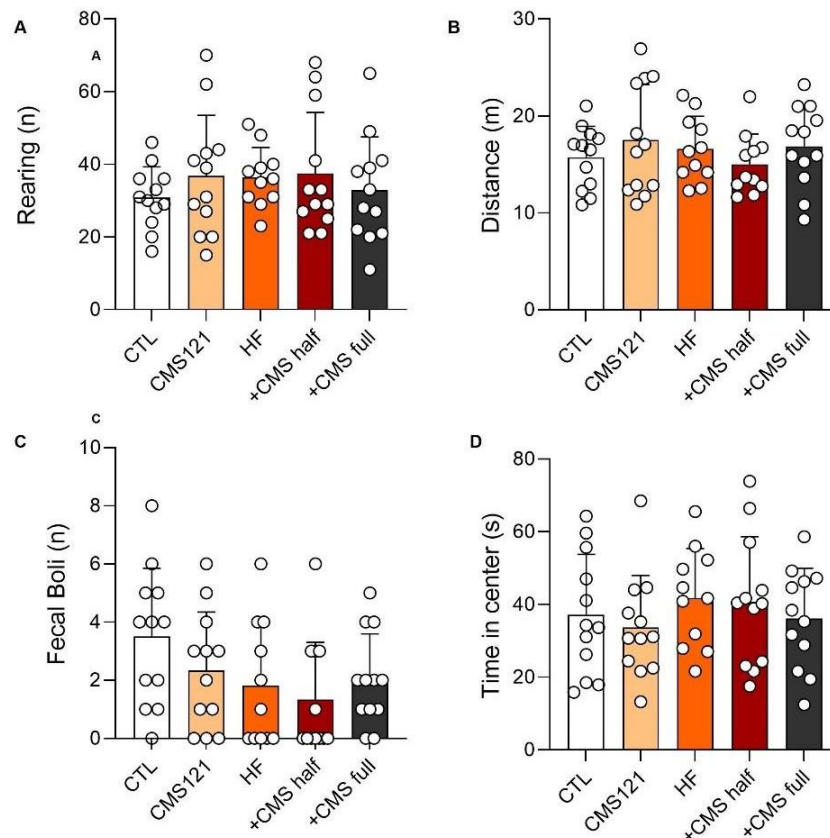
Parâmetros relacionados ao estresse emocional também foram avaliados por meio da quantificação do número de bolos fecais. O teste de Kruskal-Wallis não identificou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,112$), evidenciando que o estresse emocional não foi modificado pelas manipulações experimentais (Fig. 5C). As médias variaram discretamente: cerca de 3 bolos fecais no controle e valores semelhantes nos grupos CMS121, HF, +CMS half e +CMS full, sem qualquer indicação de efeito da dieta ou do tratamento. Embora reduções no número de bolos fecais possam, em alguns contextos, estar associadas à diminuição da responsividade emocional ou mesmo à instalação de comportamentos do tipo depressivo (ARCHER, 1973; CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005), tais interpretações não podem ser sustentadas neste estudo, dada a ausência de significância estatística.

A ausência de efeitos comportamentais também foi observada na análise do tempo gasto no centro da arena, parâmetro frequentemente associado a comportamentos tipo ansioso (SEIBENHENER; WOOTEN, 2015; CAN *et al.*, 2011). A ANOVA não detectou

diferenças entre os grupos ($p = 0,701$), e os valores permaneceram próximos entre si em todas as condições experimentais (Fig. 8D). Assim, não foi evidenciada modulação do comportamento tipo ansioso pelo consumo da dieta hiperlipídica, pelo CMS121 ou pela interação entre ambos.

Em conjunto, os resultados demonstram que nenhum dos parâmetros avaliados no teste de campo aberto apresentou diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$ para todos). Esses achados indicam que a dieta hiperlipídica e o tratamento com CMS121, isolados ou combinados, não exerceram impacto mensurável sobre a atividade locomotora ou comportamentos relacionados à ansiedade, diferentemente do observado na literatura, onde dietas ricas em lipídios são capazes de alterar comportamentos ansiosos e exploratórios em modelos murinos (HAN *et al.*, 2021).

Figura 9 - Avaliação comportamental no Teste de Campo Aberto



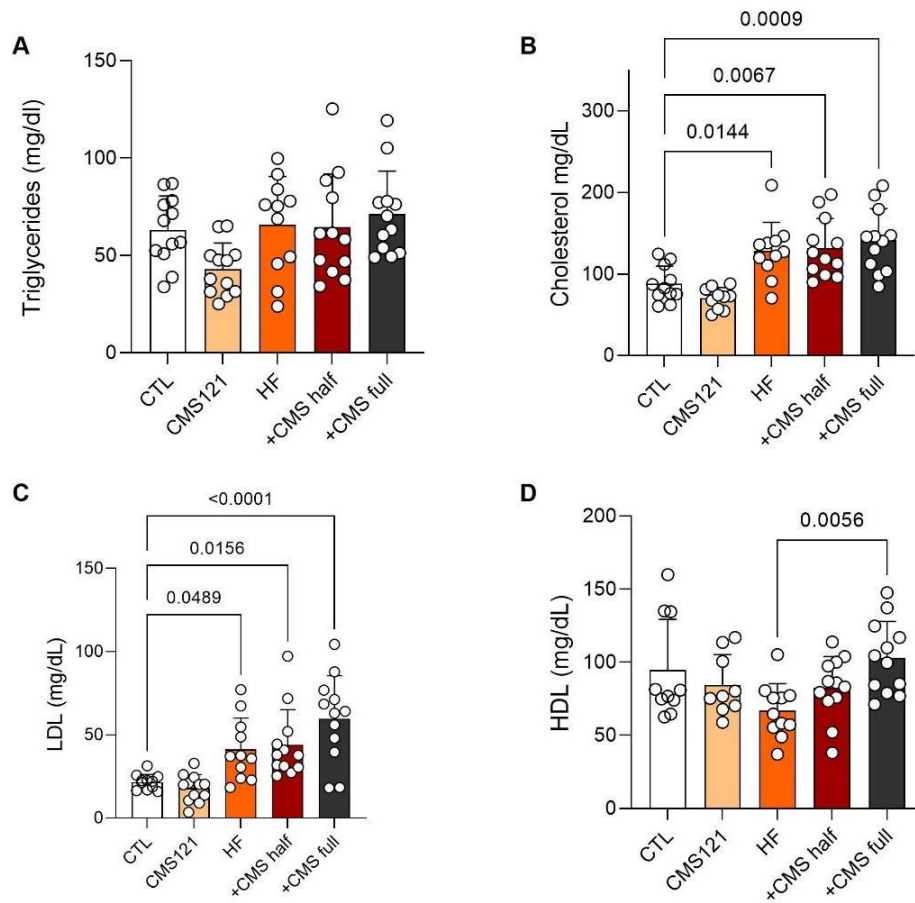
Legenda: (A) Número de rearing (posturas exploratórias verticais). (B) Distância percorrida (metros). (C) Número de bolos fecais. (D) Tempo gasto no centro da arena (segundos). N = 11 para o grupo HF; n = 12 para os demais grupos. Valores expressos como média \pm desvio padrão.

5.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Neste conjunto de análises, foram examinados diversos marcadores bioquímicos plasmáticos com o objetivo de caracterizar de forma abrangente os efeitos metabólicos da dieta hiperlipídica e do tratamento com CMS121. A primeira abordagem concentrou-se nos indicadores clássicos do metabolismo lipídico, como os níveis de triglicerídeos, colesterol total, LDL e HDL, os quais refletem alterações sistêmicas comumente associadas ao consumo de dietas ricas em gordura (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007).

No perfil lipídico, a ANOVA não identificou diferenças estatisticamente significativas nos níveis de triglicerídeos ($p = 0,0261$) (Fig. 9A). Em contraste, o colesterol total apresentou diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,0001$) (Fig. 9B); o teste pós-hoc indicou aumentos significativos nos grupos HF ($p = 0,014$), +CMS half ($p = 0,006$) e +CMS full ($p=0,0009$) indicando que o tratamento com CMS121, parcial ou contínuo, não mitigou a hipercolesterolemia induzida pela dieta. Padrão semelhante foi observado para o LDL ($p < 0,0001$) (Fig. 9C). A dieta hiperlipídica elevou significativamente o LDL: os grupos HF ($p = 0,048$), +CMS half ($p = 0,015$) e +CMS full ($p < 0,001$), apresentaram valores elevados em comparação ao controle, e o CMS121 não exerceu efeito modulador sobre essa elevação. Para o HDL, embora a ANOVA tenha identificado diferença entre os grupos ($p = 0,014$) (Fig. 9D), o pós-hoc não revelou alterações em relação ao controle. O único contraste significativo ocorreu entre HF e +CMS full ($p = 0,005$), sugerindo um possível aumento de HDL associado ao tratamento contínuo com o composto em contexto de sobrecarga lipídica. Os resultados relacionados com o aumento de colesterol total e LDL refletem o efeito da dieta hiperlipídica sobre o perfil lipídico e são coerentes com achados prévios da literatura (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007).

Figura 10 - Análise do perfil lipídico



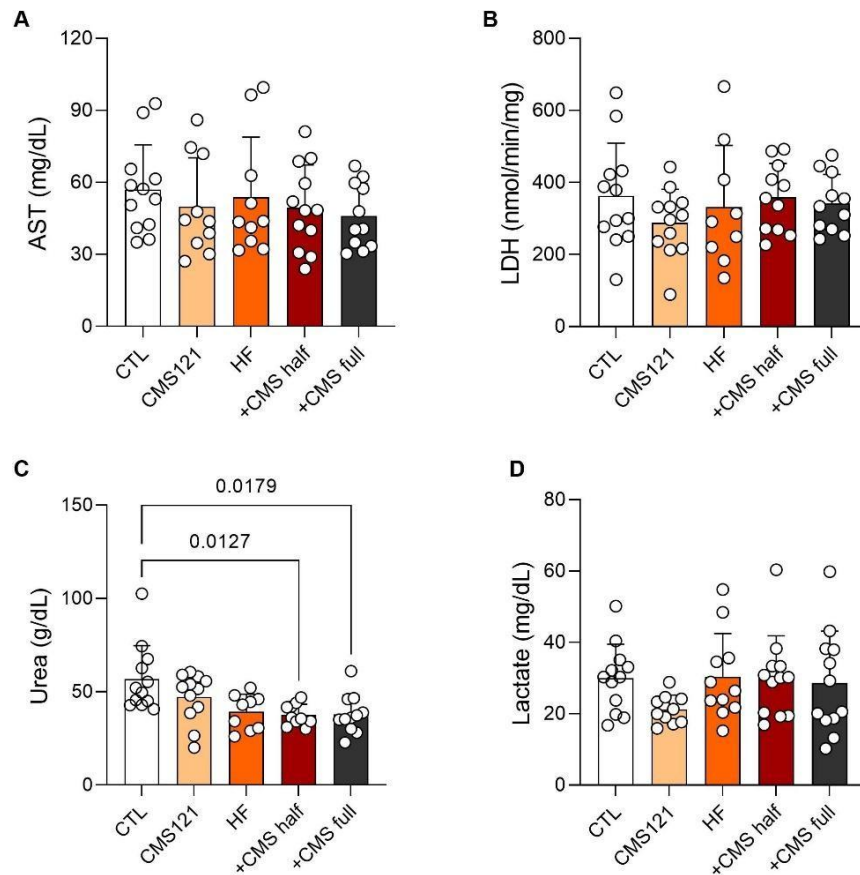
Legenda: (A) Níveis plasmáticos de triglicerídeos (mg/dL). (B) Níveis plasmáticos de colesterol total (mg/dL). (C) Níveis plasmáticos de LDL (mg/dL). (D) Níveis plasmáticos de HDL (mg/dL). N = 11–12 animais por grupo. Valores expressos como média \pm desvio padrão.

De maneira geral, esses achados confirmam que a dieta hiperlipídica promoveu alterações características do desequilíbrio lipídico, incluindo aumento de colesterol total e LDL e redução relativa de HDL, padrão amplamente descrito em modelos de síndrome metabólica (HARIRI; THIBAUT, 2010). O CMS121, contudo, não preveniu essas alterações neste modelo. Esse resultado contrasta com achados prévios que demonstram efeitos protetores do composto sobre o metabolismo lipídico, como a inibição da síntese de ácidos graxos e a ativação de AMPK em modelos de obesidade genética (ZAHID *et al.*, 2023) e de envelhecimento (ATES *et al.*, 2020; CURRAIS; RASCHKE; MAHER, 2024), sugerindo que seu potencial modulador pode ser dependente do contexto fisiopatológico.

A análise dos marcadores hepáticos reforçou a ausência de efeitos deletérios significativos tanto da dieta quanto do CMS121. O teste de Kruskal–Wallis não revelou diferenças nos níveis plasmáticos de AST ($p = 0,682$) (Fig. 10A), indicando ausência de

lesão hepatocelular detectável. De modo semelhante, a ANOVA não identificou alterações nos níveis de LDH ($p = 0,577$) (Fig. 10B), corroborando a preservação da integridade tecidual e a ausência de alterações relacionadas ao metabolismo anaeróbico (HUANG *et al.*, 2025).

Figura 11 - Avaliação de parâmetros bioquímicos séricos e teciduais



Legenda: (A) Níveis plasmáticos de AST (aspartato aminotransferase, mg/dL). (B) Níveis plasmáticos de LDH (lactato desidrogenase, nmol/min/mg). (C) Níveis plasmáticos de ureia (g/dL). (D) Níveis plasmáticos de lactato (mg/dL). N = 11–12 animais por grupo. Valores expressos como média \pm desvio padrão.

Entre os marcadores avaliados, a ureia foi o único a apresentar diferença significativa através do teste de Kruskal–Wallis ($p = 0,012$) (Fig. 10C). Os grupos +CMS half e +CMS full exibiram níveis reduzidos em comparação ao controle ($p = 0,012$ e $p = 0,017$, respectivamente). Embora essa redução sugira possível influência do CMS121 sobre vias associadas ao ciclo da ureia ou ao metabolismo nitrogenado, sua interpretação requer cautela, uma vez que não foi acompanhada de alterações em AST ou LDH que indicassem impacto hepático funcional ou estrutural.

Por fim, o lactato plasmático não apresentou diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,181$) (Fig. 10D). Apesar de a literatura relatar que dietas hiperlipídicas podem promover

aumento de lactato em decorrência da maior dependência da via glicolítica, resistência à insulina e disfunção mitocondrial (HARIRI; THIBAUT, 2010; PEREIRA *et al.*, 2022), nenhum desses efeitos foi detectado no presente estudo. Mesmo considerando que o modelo experimental combinou gordura e frutose, condição que teoricamente favoreceria a conversão de piruvato em lactato, não houve acúmulo plasmático desse metabólito, sugerindo que o desafio metabólico imposto não foi suficiente para gerar distúrbios glicolíticos de magnitude sistêmica.

5.6 SUPLEMENTAÇÃO DO CMS121 EM ANIMAIS SAUDÁVEIS

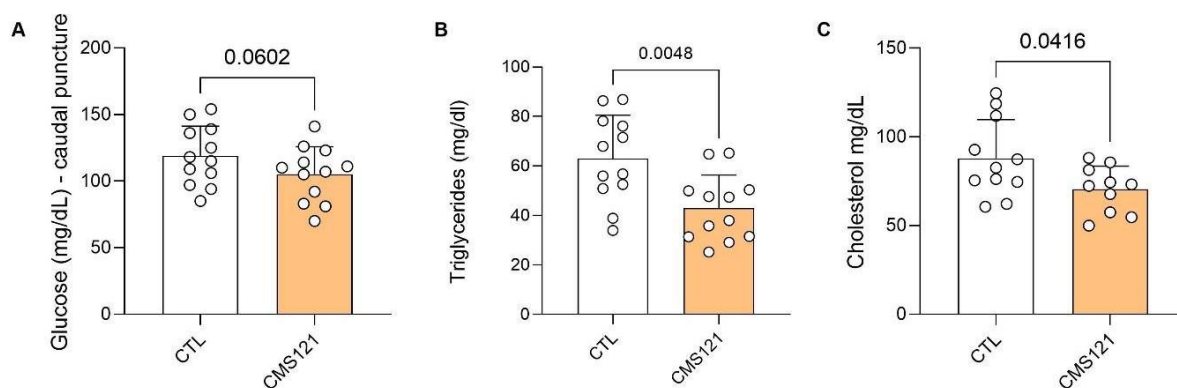
Para avaliar o efeito do CMS121 em condições fisiológicas, realizou-se a comparação direta entre os animais saudáveis do grupo Controle (CTL) e do grupo CMS121. A suplementação com CMS121, por si só, promoveu alterações metabólicas relevantes nos animais do grupo controle, evidenciando um potencial efeito benéfico mesmo na ausência de um desafio metabólico mais agressivo, como a dieta hiperlipídica. Observou-se que o CMS121 reduziu de maneira significativa os níveis plasmáticos de triglicerídeos ($p = 0,0048$) e de colesterol total ($p = 0,041$) em comparação ao grupo CTL, indicando uma ação direta do composto sobre a modulação do metabolismo lipídico basal (Fig. 11 A e B, respectivamente). Essa resposta sugere interferência em vias regulatórias envolvidas na síntese, transporte ou armazenamento de lipídios, o que está de acordo com evidências que descrevem a ativação de AMPK e o aumento de acetil-CoA como mecanismos associados ao composto, ambos relacionados ao controle do metabolismo energético e à contenção da lipogênese (DAFRE *et al.*, 2024).

Embora os efeitos sobre o perfil lipídico tenham sido mais evidentes, foi também observado uma tendência de redução da glicemia medida por punção caudal ($p = 0,0602$) (Fig. 11C). Apesar de não alcançar significância estatística, esse padrão vai de encontro aos resultados obtidos por nosso grupo em animais saudáveis submetidos a dieta padrão, onde a glicose também apresentou uma tendência a níveis mais baixos no TTG e quando avaliada no sangue após jejum nos camundongos alimentados com a dieta CMS121 (DAFRE *et al.*, 2024). Tais resultados sugerem uma possível influência do CMS121 sobre vias relacionadas ao metabolismo glicêmico.

Tomados em conjunto, os resultados demonstram que o CMS121 possui capacidade de modular parâmetros metabólicos relevantes mesmo em condições fisiológicas, atuando tanto no controle lipídico quanto em tendências associadas ao metabolismo de glicose. O perfil regulador observado reforça o interesse no CMS121 como um candidato promissor

para intervenções voltadas à modulação do metabolismo energético e à prevenção de desordens metabólicas.

Figura 12 - CTL X CMS121



Legenda: (A) Valores individuais e média da glicemia obtida por punção caudal. (B) Valores individuais e média dos níveis plasmáticos de triglicerídeos. (C) Valores individuais e média dos níveis plasmáticos de colesterol total. N = 11–12 animais por grupo. Valores expressos como média ± desvio padrão.

5.7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A ausência de efeitos do CMS121 sobre a maior parte dos parâmetros avaliados neste estudo destaca limitações importantes do modelo experimental utilizado. A linhagem Swiss, empregada neste estudo, apresenta elevada variabilidade genética, o que pode resultar em respostas metabólicas heterogêneas e dificultar a detecção de efeitos sutis, diferentemente da linhagem C57BL/6, amplamente utilizada em estudos metabólicos devido à sua previsível suscetibilidade à obesidade e hiperglicemia (COLLINS *et al.*, 2004).

Outra limitação diz respeito à própria matriz alimentar. Ao ser avaliado no contexto metabólico, o CMS121 foi administrado em dieta padrão, enquanto neste trabalho o composto foi incorporado a uma dieta hiperlipídica (ZAHID *et al.*, 2023; DAFRE *et al.*, 2024). O alto teor de gordura pode ter interferido na absorção do composto, reduzindo sua biodisponibilidade ou alterando seu metabolismo. Assim, é possível que o CMS121 não tenha alcançado concentrações eficazes nos tecidos-alvo, ou que sua ação tenha sido superada pela magnitude do insulto metabólico induzido pela dieta.

Além disso, a utilização exclusiva de machos limita a generalização dos resultados, uma vez que fêmeas apresentam diferenças fisiológicas importantes, especialmente relacionadas ao metabolismo energético e à resposta hormonal (MAUVAIS-JARVIS, 2015). A

ausência de análises histológicas e de marcadores inflamatórios e oxidativos também representa uma limitação, os quais poderiam revelar alterações celulares compatíveis com o perfil antioxidante e anti-inflamatório já atribuídos ao CMS121. A ausência dessas medidas pode ter impedido a identificação de efeitos sutis, porém biologicamente relevantes.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a dieta hiperlipídica associada ao consumo de frutose foi eficaz em induzir alterações metabólicas consistentes com modelos estabelecidos de obesidade induzida por dieta, evidenciadas principalmente pelo aumento do peso corporal e pela elevação de marcadores lipídicos. Contudo, o CMS121, nas condições avaliadas, não demonstrou capacidade de reverter ou atenuar esses efeitos, independentemente do regime de administração adotado. No domínio comportamental, o teste de Campo Aberto não revelou alterações significativas associadas nem à dieta nem ao tratamento, sugerindo que, no período experimental considerado, o CMS121 não exerceu impacto mensurável sobre parâmetros de exploração e comportamento tipo ansioso.

Apesar das limitações, o presente estudo contribui para a compreensão do perfil farmacológico do CMS121 ao demonstrar que seus efeitos não são universais e parecem depender de forma sensível do contexto biológico e do grau de desafio metabólico imposto. Os resultados sugerem que, em contextos de sobrecarga metabólica severa ou quando administrado juntamente a uma dieta hiperlipídica, a eficácia do composto pode ser substancialmente reduzida, destacando a importância de avaliar sua atuação em diferentes cenários fisiológicos e patológicos.

Assim, estudos futuros devem considerar diferentes doses e concentrações, vias de administração e períodos de tratamento, além de incluir análises histológicas e moleculares mais detalhadas nos tecidos envolvidos no metabolismo energético. A investigação em linhagens geneticamente mais suscetíveis, bem como em modelos que combinem abordagens dietéticas e genéticas, poderá oferecer uma avaliação mais sensível e mecanisticamente informativa. A inclusão de fêmeas, bem como o uso de testes comportamentais adicionais, também deve ser considerados, a fim de ampliar a compreensão dos efeitos do CMS121 em aspectos metabólicos e comportamentais.

Em conjunto, embora o CMS121 não tenha revertido as alterações metabólicas induzidas pela dieta hiperlipídica neste modelo, os resultados apresentados aqui delineiam

os limites de sua eficácia e oferecem bases importantes para o aprimoramento de futuras investigações que buscam esclarecer seus mecanismos e aplicações terapêuticas potenciais.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Diagnosis and classification of diabetes mellitus.** *Diabetes Care*, v. 37, p. 81-90, 2014.

ANTONIO, Francisco *et al.* **Obesidade, inflamação e aterosclerose.** *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, v. 33, n. 4, p. 373-81, 2023. Disponível em: <https://socesp.org.br/revista/assets/upload/revista/bb0ccaea3bdfd32c0a17db990ee982b5>.

ARCHER, J. **Tests for emotionality in rats and mice: a review.** *Anim Behav.*, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973. doi:10.1016/s0003-3472(73)80065-x.

ATES, Gamze; GOLDBERG, Joshua; CURRAIS, Antonio; MAHER, Pamela. **CMS121, a fatty acid synthase inhibitor, protects against excess lipid peroxidation and inflammation and alleviates cognitive loss in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease.** *Redox Biology*, [s. l.], v. 36, p. 101648, set. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101648>.

BIDDINGER, S. B.; KAHN, C. R. **From mice to men: insights into the insulin resistance syndromes.** *Annu Rev Physiol*, 68, p. 123-158, 2006.

BUETTNER, R.; PARHOFER, K. G.; WOENCKHAUS, M.; WREDE, C. E. *et al.* **Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types.** *J Mol Endocrinol*, 36, n. 3, p. 485-501, Jun 2006.

BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. **High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents.** *Obesity*, v. 15, p. 798–808, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/oby.2007.608>

CAN, Adem; DAO, David T.; TERRILLION, Chantelle E.; PIANTADOSI, Sean C.; BHAT, Shambhu; GOULD, Todd D. **The Tail Suspension Test.** *Journal of Visualized Experiments*, [s. l.], n. 58, p. 3769, 13 dez. 2011. <https://doi.org/10.3791/3769>.

CHEN, H. *et al.* **Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice.** *Cell*, v. 84, n. 3, p. 491–495, 1996.

CHIRUTA, C.; SCHUBERT, D.; DARGUSCH, R.; MAHER, P. **Chemical modification of the multitarget neuroprotective compound fisetin.** *J Med Chem.*, v. 55, p. 378–89, 2012. doi:10.1021/jm2012563

COLEMAN, D. L. **Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice.** *Diabetologia.*, v. 14, n. 3, p. 141-148, 1978. doi:10.1007/BF00429772.

COLLINS, S. *et al.* **Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics.** *Physiology & Behavior*, v. 81, n. 2, p. 243–248, 2004. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.02.006.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. **The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice.** *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 29, n. 4-5, p. 571-625, 2005. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.009.

CURRAIS, A. *et al.* **Elevating acetyl-CoA levels reduces aspects of brain aging.** *eLife*, v. 8, p. e47866, 19 nov. 2019. doi:10.7554/eLife.47866

DAFRE, A. L. *et al.* **CMS121: a novel approach to mitigate aging-related obesity and metabolic dysfunction.** *Aging (Albany NY)*, v. 16, n. 6, p. 4980-4999, 2024. doi:10.18632/aging.205673.

FORD, E. S.; GILES, W. H. **A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using two proposed definitions.** *Diabetes Care*, New York, v. 26, p. 575–581, 2003.

FRIEDMAN, J.; HALAAS, J. **Leptin and the regulation of body weight in mammals.** *Nature*, v. 395, p. 763–770, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/27376>.

GOOSSENS, G. H. **The metabolic phenotype in obesity: fat mass, body fat distribution, and adipose tissue function.** *Obesity Facts*, v. 10, n. 3, p. 207-215, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000471488>.

HAFFNER, S.; TAEGTMeyer, H. **Epidemic obesity and the metabolic syndrome.** *Circulation*, Dallas, v. 108, p. 1541–1545, 2003.

HALL, C. S. **Emotional behavior in the rat.** *Journal of Comparative Psychology*, v. 18, n. 2, p. 241–266, 1934.

HAN, J.; NEPAL, P.; ODELADE, A.; FREELY, F. D.; BELTON, D. M.; GRAVES, J. L. Jr.; MALDONADO-DEVINCCI, A. M. **High-fat diet-induced weight gain, behavioral deficits, and dopamine changes in young C57BL/6J mice.** *Frontiers in Nutrition*, v. 7, p. 591161, 2021. doi: 10.3389/fnut.2020.591161.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. **High-fat diet-induced obesity in animal models.** *Nutrition Research Reviews*, v. 23, n. 2, p. 270–299, 2010.

HUANG, D. Q.; WONG, V. W. S.; RINELLA, M. E. *et al.* **Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in adults.** *Nature Reviews Disease Primers*, v. 11, p. 14, 2025. DOI: 10.1038/s41572-025-00599-1

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **What is diabetes?** 2021. Disponível em: [https://idf.org/about-diabetes/what-is-diabetes/..](https://idf.org/about-diabetes/what-is-diabetes/)

IRISARRI, A.; CORRAL, A.; PEREZ-SALVADOR, N. *et al.* **FTO inhibition mitigates high-fat diet-induced metabolic disturbances and cognitive decline in SAMP8 mice.** *Molecular Medicine*, v. 31, n. 1, p. 73, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s10020-025-01126-4>.

ISER, B. P. M. *et al.* **Prevalência de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais do Brasil – principais resultados do Vigitel 2010.** *Ciência & Saúde Coletiva*,

v. 17, p. 2343-2356, 2012.

KENNARD, M. R. et al. **The glucose tolerance test in mice: Sex, drugs and protocol.** *Diabetes, Obesity and Metabolism*. v. 24, n. 11, p. 2241-2252, 2022. <https://doi.org/10.1111/dom.14811>

KENNARD, M. R. et al. **The use of mice in diabetes research: The impact of experimental protocols.** *Diabetic Medicine*, Hoboken, v. 38, n. 12, e14705, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/dme.14705>.

KRAGELUND, C.; HASSAGER, C. TRACE study group. **Impact of obesity on long-term prognosis following acute myocardial infarction.** *Int J Cardiol.*, v. 98, p. 123-31, 2005.

LAKKA, H. M. et al. **The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men.** *JAMA*, Chicago, v. 288, p. 2709–2716, 2002.

LONGO, M. et al. **Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications.** *Int J Mol Sci.*, v. 20, p. 2358, 2019. doi:10.3390/ijms20092358

LOWRY, O. H. et al. **Protein measurement with the Folin phenol reagent.** *The Journal of Biological Chemistry*, v. 193, p. 265–275, 1951.

LUTZ, T. A.; WOODS, S. C. **Overview of animal models of obesity.** *Curr Protoc Pharmacol.*, Chapter 5, Unit5.61, 2012. doi:10.1002/0471141755.ph0561s58

MAHER, P. **Modulation of multiple pathways involved in the maintenance of neuronal function during aging by fisetin.** *Genes & Nutrition*, v. 4, n. 4, p. 297-307, 10 set. 2009.

MAUVAIS-JARVIS, F. **Sex differences in metabolic homeostasis, diabetes, and obesity.** *Biology of Sex Differences*, v. 6, p. 14, 2015. DOI: 10.1186/s13293-015-0033-y.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL). **Vigitel Brasil 2023: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico.** Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigitel/vigitel-brasil-2023-vigilancia-de-fatores-de-risco-e-protecao-para-doencas-cronicas-por-inquerito-telefonico/view>.

MONTEIRO, C. A.; CANNON, G.; LEVY, R. B.; et al. **Ultra-processed foods: what they are and how to identify them.** *Public Health Nutrition*, v. 22, n. 5, p. 936–941, 2019. doi: 10.1017/S1368980018003762.

PEREIRA, R.; DE PICOLI, R. M. de M.; VALENTI, L.; SHIGUEMOTO, G. E. **Blood lactate as a biomarker of depression: a comparative study between runners and sedentary people.** *Motriz: Journal of Physical Education*, v. 28, 2022. DOI: 10.1590/S1980- 657420220019521.

PHAM, T. B. et al. **Attenuation of age-related hearing impairment in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice treated with fatty acid synthase inhibitor CMS121.** *J Mol Neurosci.*, v. 73, n. 4-5, p. 307-315, 2023. doi:10.1007/s12031-023-02119-w.

PUGH, T. D.; KLOPP, R. G.; WEINDRUCH, R. **Controlling caloric consumption: protocols for rodents and rhesus monkeys.** *Neurobiology of Aging*, v. 20, n. 2, p. 157-165, 1999. DOI: 10.1016/s0197-4580(99)00043-3.

RAVULA, A. R. *et al.* **Fisetin, potential flavonoid with multifarious targets for treating neurological disorders: an updated review.** *European Journal of Pharmacology*, v. 910, p. 174492, 5 nov. 2021.

RUBINO, F. *et al.* **Definition and diagnostic criteria of clinical obesity.** *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, v. 13, n. 3, p. 221–262, fev. 2025.

SALTIEL, A. R.; OLEFSKY, J. M. **Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease.** *The Journal of Clinical Investigation*, v. 127, n. 1, p. 1–4, 2017. DOI: 10.1172/JCI92035.

SCHWARTZ, M. W.; SEELEY, R. J.; ZELTSER, L. M.; *et al.* **Obesity pathogenesis: an Endocrine Society scientific statement.** *Endocrine Reviews*, v. 38, n. 4, p. 267–296, 2017. doi: 10.1210/er.2017-00111.

SEIBENHENER, Michael L.; WOOTEN, Michael C. **Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice.** *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, n. 96, p. e52434, 6 fev. 2015. <https://doi.org/10.3791/52434>.

STACHURA, A. *et al.* **Wound healing impairment in type 2 diabetes model of leptin-deficient mice - a mechanistic systematic review.** *Int J Mol Sci.*, v. 23, n. 15, p. 8621, 2022. doi:10.3390/ijms23158621.

STEINBERG, G. R.; HARDIE, D. G. **New insights into activation and function of the AMPK.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 24, n. 4, p. 255-272, 2023.

WANG, B.; CHANDRASEKERA, P. C.; PIPPIN, J. J. **Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes.** *Curr Diabetes Rev.*, v. 10, n. 2, p. 131-145, 2014. doi:10.2174/1573399810666140508121012

WANG, C.; LI, H.; CHEN, C.; YAO, X.; YANG, C.; YU, Z.; REN, J.; MING, Y.; HUANG, Y.; RONG, Y.; MA, Y.; LIU, L. **High-fat diet consumption induces neurobehavioral abnormalities and neuronal morphological alterations accompanied by excessive microglial activation in the medial prefrontal cortex in adolescent mice.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 11, p. 9394, 2023. doi: 10.3390/ijms24119394

WILDING, J. P. H. **Leptin and the control of obesity.** *Current Opinion in Pharmacology*, v. 1, n. 6, p. 656–661, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1471-4892\(01\)00111-4](https://doi.org/10.1016/S1471-4892(01)00111-4).

ZAHID, S. *et al.* **The geroprotective drug candidate CMS121 alleviates diabetes, liver inflammation, and renal damage in db/db leptin receptor deficient mice.** *Int J Mol Sci.*, v. 24, n. 7, p. 6828, 2023. doi:10.3390/ijms24076828.

ZHANG, Y.; LIU, J.; YAO, J.; JI, G. et al. **Obesity: pathophysiology and intervention.**
Nutrients, 6, n. 11, p. 5153-5183, Nov 18, 2014.