

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
FISIOLOGIA

Jorge Felipe Argenta Model

**INFLUÊNCIA DO PEPTÍDEO SEMELHANTE AO GLUCAGON 1 (GLP-1) EM
DIFERENTES ESPÉCIES: AÇÕES FISIOLÓGICAS E FARMACOLÓGICAS EM
CÃES E GATOS E EFEITOS NA REGULAÇÃO DO METABOLISMO
INTERMEDIÁRIO EM RATAS WISTAR OVARIECTOMIZADAS**

Porto Alegre

2024

Jorge Felipe Argenta Model

**INFLUÊNCIA DO PEPTÍDEO SEMELHANTE AO GLUCAGON 1 (GLP-1) EM
DIFERENTES ESPÉCIES: AÇÕES FISIOLÓGICAS E FARMACOLÓGICAS EM CÃES
E GATOS E EFEITOS NA REGULAÇÃO DO METABOLISMO INTERMEDIÁRIO DE
RATAS WISTAR OVARIETOMIZADAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação
em Ciências Biológicas: Fisiologia do Instituto de
Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal
do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a
obtenção do título de doutor em Fisiologia.

Orientadora: Prof. Dra. Anapaula Sommer Vinagre

Porto Alegre

2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, pela estrutura e suporte financeiro, tornando possível este trabalho.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Anapaula Sommer Vinagre pelas contribuições para o desenvolvimento deste projeto e também por todo o suporte ao longo da minha carreira acadêmica.

Agradeço à professora Dra. Sook J. Chung por me receber em seu laboratório e pela orientação técnica e científica.

Agradeço à professora Dra. Poli Mara Spritzer pela colaboração e disponibilização dos seus espaços para a realização dos experimentos deste estudo.

Agradeço aos colegas, a técnica e professores do LaMEC pelo auxílio no desenvolvimento dos experimentos e companhia.

Agradeço aos demais colegas, técnicos e professores do departamento de Fisiologia.

Agradeço aos meus familiares e amigos, especialmente à minha mãe. Obrigado.

RESUMO

O peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) é um hormônio intestinal que estimula a secreção de insulina nas ilhotas pancreáticas. Os receptores de GLP-1 (GLP1R) estão presentes no sistema nervoso central (SNC), tecido adiposo branco (TAB), estômago e outros órgãos, regulando o metabolismo intermediário e o consumo de alimentos. Devido a esses efeitos, os agonistas do GLP-1R (GLP-1RAs) são utilizados no tratamento da obesidade e diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Além do GLP-1, os estrógenos, principalmente o β -estradiol (E2), também estão intimamente ligados a obesidade e DM2 e suas ações geram diferenças metabólicas significativas entre homens e mulheres e especialmente entre mulheres pré e pós-menopausa. Os GLP-1RAs e os estrógenos apresentam efeitos semelhantes em tecidos como SNC, TAB e células β pancreáticas, ativando vias similares, o que sugere que possuam efeitos sinérgicos. Apesar do uso crescente dos GLP-1RAs, ainda existem lacunas no entendimento de suas ações, como possíveis ações espécie-específicas e interações com outros hormônios. Este estudo possui dois objetivos principais: analisar os efeitos do fisiológicos GLP-1 e farmacológicos dos GLP-1RAs em cães e gatos, e investigar como a ovariectomia influencia a ação do GLP-1 em tecidos reguladores do metabolismo intermediário. Os resultados foram organizados em dois artigos. O primeiro artigo, "*Physiological and pharmacological actions of glucagon like peptide-1 (GLP-1) in domestic animals*", resume as ações do GLP-1 em animais domésticos e suas aplicações na medicina veterinária. Em cães diabéticos, os medicamentos baseados em GLP-1 reduziram a glicemia e aumentaram a captação de glicose, enquanto em gatos diabéticos reduziram a variabilidade glicêmica e a necessidade de insulina exógena. Contudo, os dados atuais são insuficientes para recomendar o uso clínico generalizado desses medicamentos em animais domésticos. O segundo artigo, "*Interactions between glucagon like peptide 1 (GLP-1) and estrogens regulates lipid metabolism in female Wistar rats*", investigou as interações entre GLP-1 e estrógenos em ratas fêmeas submetidas à ovariectomia (OVR). Após 20 dias, foi realizado um tratamento *ex vivo* com liraglutida (10 μ M), um GLP-1RA. Os resultados mostraram que a OVR aumentou o catabolismo lipídico no TAB perirrenal (TABpr) e a lipólise basal no TAB subcutâneo (TABsc), enquanto o

GLP-RA aumentou a lipólise estimulada no TABsc. A análise de transcriptomas disponíveis na literatura revelou que, ao contrário do GLP-1RA, a ovariectomia promoveu alterações significativas na transcrição genica no TAB, indicando que os efeitos sistémicos semelhantes do GLP-1 e dos estrogénios não derivam das mesmas alterações transcricionais. De forma geral, os resultados sugerem potenciais efeitos terapêuticos sinérgicos entre GLP-1 e estrogénios no tratamento de distúrbios metabólicos como obesidade e DM2.

ABSTRACT

Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) is an intestinal hormone that stimulates insulin secretion in the pancreatic islet. GLP-1 receptors (GLP1-R) are present in the central nervous system (CNS), white adipose tissue (WAT), stomach, and other organs, and regulate intermediary metabolism and food intake. Due to these effects, GLP-1 receptor agonists (GLP-1RAs) are used in the treatment of obesity and type 2 diabetes mellitus (DM2). In addition to GLP-1, estrogens are also closely linked to obesity and DM2, and their actions generate significant metabolic differences between men and women, and especially between pre- and postmenopausal women. GLP-1RAs and estrogens have similar effects in tissues such as the CNS, WAT, and β pancreatic cells, activating similar pathways, suggesting that they have synergistic effects. Despite the increasing use of GLP-1RAs, there are still gaps in the understanding of their actions, such as possible species-specific actions and interactions with other hormones. This study has two main objectives: to analyze the physiological effects of GLP-1 and pharmacological effects of GLP-1RAs in dogs and cats, and to investigate how ovariectomy influences GLP-1 actions in tissues regulating intermediary metabolism. The results were organized into two articles. The first article, "Physiological and pharmacological actions of glucagon like peptide-1 (GLP-1) in domestic animals", summarizes the actions of GLP-1 in domestic animals and its applications in veterinary medicine. In diabetic dogs, GLP-1-based drugs reduced glycemia and increased glucose uptake, while in diabetic cats they reduced glycemic variability and the need for exogenous insulin. However, current data are insufficient to recommend the widespread clinical use of these drugs in domestic animals. The second article, "Interactions between glucagon like peptide 1 (GLP-1) and estrogens regulates lipid metabolism in female Wistar rats", investigated the interactions between GLP-1 and estrogens in female rats undergoing ovariectomy (OVR). After 20 days, *ex vivo* treatment with liraglutide (10 μ M), a GLP-1RA, was performed. The results showed that OVR increased lipid catabolism in perirenal WAT and basal lipolysis in subcutaneous WAT, while GLP-RA increased stimulated lipolysis in subcutaneous WAT. Analysis of transcriptomes available in the literature

revealed that, unlike GLP-1RA, ovariectomy promoted significant changes in gene transcription in WAT, indicating that the similar systemic effects of GLP-1 and estrogens do not derive from the same transcriptional changes. Overall, the results suggest potential synergistic therapeutic effects between GLP-1 and estrogens in the treatment of metabolic disorders such as obesity and DM2.

LISTA DE ABREVIATURAS

Acaa1: *Acetyl-CoA Acyltransferase 1*

ACC: Acetil-Coa Carboxilase

ADA: *American Diabetes Association*

AMPK: Proteína Cinase Ativada por AMP

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ARC: Núcleo Arqueado Hipotalâmico

ATP: Adenosina Trifosfato

AMPc: Monofosfato Cíclico De Adenosina

CART: *Amphetamine-Regulated Transcript*

Cebp- α : *Enhancer Binding Protein α*

CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CREAL: Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório

CREB: Elemento Responsivo ao AMPc Pró-Sobrevivência

CYP19A1: aromatase

DAVID: *Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery*

DEG: Genes Diferencialmente Expressos

DM2: Diabetes Mellitus Tipo 2

DMH: Hipotálamo Dorsomedial

DPP4: Dipeptidilpeptidase 4

DPP4i: Inibidor da Dipeptidilpeptidase 4

E2: 17- β -estradiol

EASD: *European Association For The Study Of Diabetes*

EGFR: Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico

EMA: *European Medicines Agency*

Epac: Proteína de Troca Diretamente Ativada Pelo AMPc

ER: Receptores de Estrógenos

ERK: Cinase Reguladas Por Sinal Extracelular

FAS: Ácido Graxo Sintase

Fasn: *Fatty Acid Synthase (gene)*

FDA: *Food and Drug Administration*

FGF21: Fator de Crescimento de Fibroblastos 21

FSH: Hormônio Folículo Estimulante

FSHR: receptor de FSH

GEO: *Gene Expression Omnibus*

GIP: Peptídeo Inibidor Gástrico

GLP-1: *Glucagon Like Peptide 1*

GLP-1R: *Glucagon Like Peptide 1 Receptor*

GLP-1RA: *Glucagon Like Peptide 1 Receptor Agonist*

GLP-2: *Glucagon Like Peptide 2*

GLUT: Transportador de Glicose

Gpam: *Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase, Mitochondrial*

GSK-3: *Glycogen Synthase Kinase-3*

GnRH: Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

GO: *Gene Ontology*

GPER: Receptores de Estrógenos Associados a Proteína G

GRP: Peptídeo Liberador de Gastrina

GSIS: Secreção de Insulina Estimulada por Glicose

hIAPP: Polipeptídeo Amilóide da Ilhota Humana

HPA: Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

HPFv: Formação Ventral do Hipocampo

HSD: desidrogenase de hidroxisteroide

iNKT: *Adipose-Resident Invariant Natural Killer*

IL: Interleucina

IR: Resistência à Insulina

IR β : Subunidade Beta do Receptor de Insulina

IRS1: Substrato 1 do Receptor de Insulina

IRS2: Substrato 2 do Receptor de Insulina

KBS: Krebs-Ringer Bicarbonato

KEGG: Enciclopédia Kyoto de Genes e Genomas

KO: *Knockout*

LaMEC: Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia Comparada

LDL: lipoproteína de baixa densidade

LH: Hormônio Luteinizante

LHCGR: receptor de LH

LRH1: receptor homólogo do fígado 1

MAPK: Proteína Cinase Ativada por Mitógeno

mER α : Receptores de Estrógenos α de Membrana

mTOR: Alvo da Rapamicina em Mamíferos

NTS: Núcleo do Trato Solitário

OVR: Ovariectomia

Pdx-1: *Pancreatic and Duodenal Homeobox 1*

PKA: Proteína Cinase A

PKB/ AKT: Proteína Cinase B

PKC: Proteína Cinase C

POMC: *Proopiomelanocortin*

PPAR γ : Receptor Gama Ativado Pelo Proliferador de Peroxissoma

RYR: Receptores Rianodina

Scd1: *Stearoyl-Coenzyme A Desaturase 1*

SF1: fator esteroidogênico 1

SNC: Sistema Nervoso Central

SPSS: *Statistical Package for Social Sciences*

Src: *Proto-Oncogene Tyrosine-Protein*

STAR: proteína reguladora aguda esteroidogênica

STAT3: Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 3

STZ: Estreptozotocina

TAB: Tecido Adiposo Branco

TABpr: Tecido Adiposo Branco perirenal

TABsc: Tecido Adiposo Branco subcutâneo

TAM: Tecido Adiposo Marrom

TNF α : Fator de Necrose Tumoral α

UEA: Unidade de Experimentação Animal

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VDCC: Canais de Cálcio Dependentes De Voltagem

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Liberação de GLP-1 após captação de glicose em células L enteroendócrinas. Fonte: Model et al., 2022.	16
Figura 2: Efeito incretina. Fonte: Drucker; Holst, 2023.....	17
Figura 3: Cascata de sinalização intracelular pela qual o GLP-1 estimula a liberação de insulina em células β . Fonte: Model et al., 2022.	19
Figura 4: As ações metabólicas do GLP-1 em diferentes órgãos e tipos de celulares. Fonte: Drucker; Holst, 2023.	21
Figura 5: GLP-1R nas aferências vagais. Fonte: Drucker; Holst, 2023.....	24
Figura 6: Sequências de aminoácidos do GLP-1 e GLP-1RA. Fonte: Andersen et al., 2018.....	28
Figura 7: Síntese de estrogênio nas fases folicular (A) e lútea (B). Fonte: (Bulun, 2016).....	32
Figura 8: Mecanismos de ação dos receptores de estrogênio. Fonte: Lara-Castillo, 2021.	34
Figura 9: Formação de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de U- ^{14}C -palmitato em diferentes tecidos de ratas expostos a 0,1 μM , 1 μM ou 10 μM de liraglutida.....	62
Figura 10: Formação de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de U- ^{14}C -palmitato em diferentes tecidos de ratas incubados por 1 ou 2 horas.	63

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. História do GLP-1	14
1.2. Síntese e liberação do GLP-1	15
1.3. Efeitos fisiológicos do GLP-1	17
1.4. GLP-1, obesidade e DM2	27
1.5. Estrógenos, Obesidade e DM2	31
1.6. Interação entre GLP-1 e estrógenos	37
1.7. Justificativa	38
2. Hipótese e Objetivos	39
2.1. Revisão narrativa	39
2.1.1. Hipótese da revisão narrativa	39
2.1.2. Objetivo geral da revisão narrativa	39
2.1.3. Objetivos específicos da revisão narrativa.....	39
2.2. Estudo experimental	40
2.2.1. Hipótese do estudo experimental.....	40
2.2.2. Objetivo geral do estudo experimental.....	40
2.2.3. Objetivos específicos do estudo experimental	40
3. Materiais e Métodos	42
3.1. Revisão narrativa	42
3.2. Estudo experimental	42
3.2.1. Análise de transcriptomas disponíveis na literatura	42
3.2.2. Animais	43
3.2.3. Estudo piloto	46
3.2.4. Incubação	46
3.2.5. Captação de glicose	46
3.2.6. Lipólise.....	47
3.2.7. Oxidação de substratos	47
3.2.8. Síntese de lipídeos	48
3.2.9. Análise da expressão gênica por RT-qPCR	48
3.2.10. Análise estatística	49

4. Resultados	50
4.1. Revisão narrativa	50
4.2. Estudo experimental.....	62
4.2.1. Estudo piloto	62
4.2.2. Artigo produzido a partir do estudo experimental	66
5. Discussão geral	105
6. Conclusão e Perspectivas	110
7. Referências	112
ANEXO I.....	156
ANEXO II.....	157
ANEXO III.....	158

1. INTRODUÇÃO

1.1. História do GLP-1

A identificação e caracterização do peptídeo que mais tarde seria chamado de peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1 – *glucagon like peptide 1*) começou em 1967, quando Ellis Samols e Vincent Marks, utilizando um anticorpo para glucagon, demonstraram imunorreatividade em tecidos extra-pancreáticos, especialmente no intestino (Samols; Marks, 1967). Em 1968, Unger et. al. demonstraram a presença de material imunorreativo ao anticorpo glucagon em cães pancreatectomizados e que esse fator semelhante ao glucagon não induziu hiperglicemia ou glicogenólise hepática, mas, em vez disso, estimulou a liberação de insulina (Unger et al., 1968). Na década de 1970, uma série de estudos demonstrou a existência de mais peptídeos com sequências semelhantes ao glucagon em todo o corpo, e que todos derivavam do mesmo pré-pró-hormônio (Müller et al., 2019; Patzelt et al., 1979; Sundby; Jacobsen; Moody, 1976). Finalmente, na década de 1980, estudos utilizando cDNA e radioimunoensaios caracterizaram dois peptídeos produzidos no intestino a partir do mesmo gene precursor do glucagon, o gene pré-pró-glucagon, que foram chamados de peptídeos semelhantes ao glucagon 1 e 2 (GLP-2) (Lund; Goodman; Habener, 1981; Müller et al., 2019; Ørskov et al., 1986).

Desde então, inúmeros estudos têm sido realizados para descrever as funções fisiológicas destes hormônios intestinais, quando são liberados, sobre quais células e por quais mecanismos moleculares atuam e como são degradados (Müller et al., 2019; Tan et al., 2022). Em 1995 o uso terapêutico do GLP-1 para o tratamento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) foi proposto pela primeira vez, e a partir de então diversas drogas baseadas no GLP-1 foram desenvolvidas e aprovadas (Deacon et al., 1995; Nauck; Müller, 2023). Atualmente, a “*American Diabetes Association*” (ADA) e a “*European Association for the Study of Diabetes*” (EASD) recomendam os agonistas do receptor de GLP-1 (GLP-1RAs) como drogas de segunda escolha, após falha da metformina, para o tratamento do DM2 (Nauck et al., 2021).

1.2. Síntese e liberação do GLP-1

O GLP-1 é sintetizado pelas células “L” intestinais, que estão localizadas principalmente nas regiões mais distais, como íleo e cólon. Além do intestino, o GLP-1 também é produzido no sistema nervoso central (SNC), mais especificamente no núcleo do trato solitário (NTS) do tronco cerebral e nas células α pancreáticas (Chambers *et al.*, 2017; Müller *et al.*, 2019). O mecanismo pelo qual o GLP-1 é liberado é bastante semelhante ao da insulina (Figura 1). O aumento da glicose intracelular leva à maior formação de adenosina trifosfato (ATP), que por sua vez interage com os canais de K^+ sensíveis ao ATP (K_{ATP}), fechando-os. Isso leva à despolarização celular e à abertura dos canais de cálcio dependentes de voltagem (VDCC), aumentando a concentração desse cátion nas células. Finalmente, o Ca^{++} interage com vesículas contendo GLP-1 (ou insulina em células β) e promove sua exocitose (Reimann; Gribble, 2002; Rowlands *et al.*, 2018; Tolhurst; Reimann; Gribble, 2009).

Em roedores e humanos foi demonstrado que os três principais macronutrientes (carboidratos, lipídeos e proteínas) estimulam a produção e liberação de GLP-1 pelas células L (Ekberg *et al.*, 2016; Kato *et al.*, 2017; Reimann; Gribble, 2002). A concentração circulante de GLP-1 aumenta rapidamente após o quimo chegar ao intestino superior, e isso não parece ser consistente com a presença da maioria das células L nas regiões distais do intestino (Lim; Brubaker, 2006; Theodorakis *et al.*, 2006). Evidências recentes indicaram a possível presença de uma alça endócrina/neural que sinalizaria às células do íleo e do cólon a presença de conteúdo na parte superior do intestino (Chambers *et al.*, 2017; Müller *et al.*, 2019). Embora sejam necessários mais dados para confirmar a existência desta alça, já se sabe que algumas moléculas como o peptídeo inibidor gástrico (GIP), acetilcolina (sistema nervoso parassimpático), peptídeo liberador de gastrina (GRP), insulina, somatostatina e grelina influenciam a liberação de GLP-1 pelas células L e podem estar envolvidos nesse processo (Gagnon *et al.*, 2015; Lim; Brubaker, 2006; Müller *et al.*, 2019).

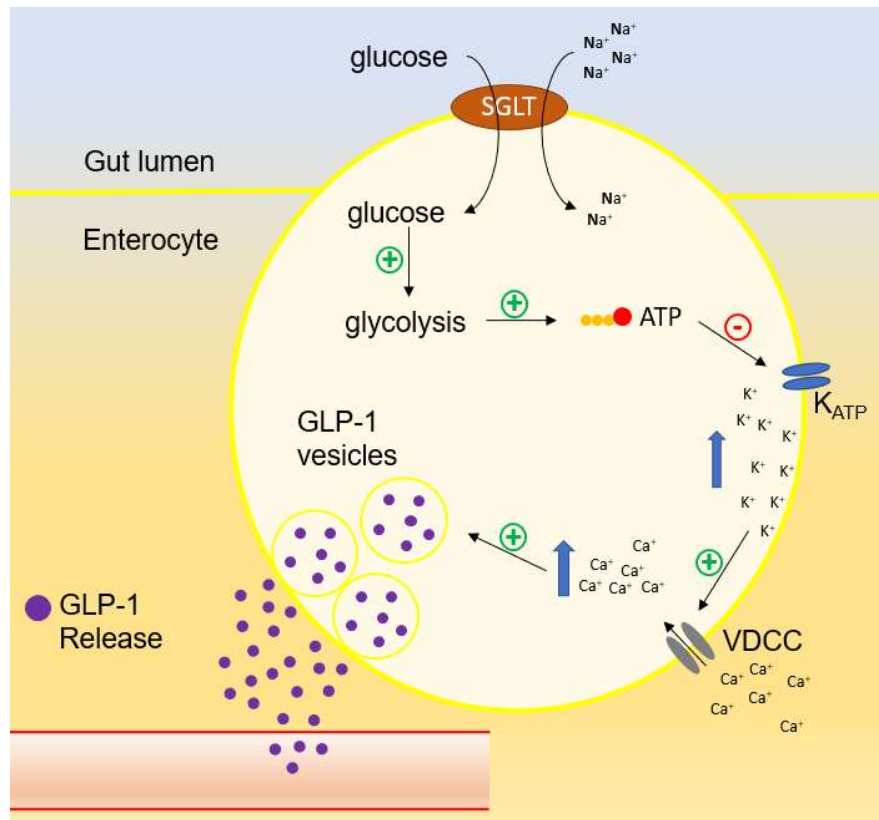


Figura 1: Liberação de GLP-1 após captação de glicose em células L enteroendócrinas. SGLT: co-transportador de sódio-glicose. K_{ATP}: canais de K⁺ sensíveis a ATP. VDCC: canais de cálcio dependentes de voltagem. Fonte: Model et al., 2022.

No mecanismo clássico de ação do GLP-1, após sua liberação pelas células L, o hormônio entra na circulação portal, passa pelo fígado e entra na circulação sistêmica, eventualmente chegando nas ilhotas pancreáticas, onde exerce seus principais efeitos (Baggio; Drucker, 2007; Nauck; Meier, 2018). Este modelo vem sendo contestado pois o GLP-1 tem uma meia-vida extremamente curta devido à rápida degradação pela dipeptidilpeptidase 4 (DPP4) (Nauck; Meier, 2005). Mais da metade do GLP-1 secretado é degradado enquanto ainda está na vasculatura intestinal, assim, apenas uma pequena parte do GLP-1 liberado pelas células L poderia atingir as ilhotas pancreáticas (Hansen *et al.*, 1999). Novos estudos estão propondo um papel central do GLP-1 originado nas células α para a estimulação da liberação de insulina pelas células β , em uma ação parácrina intra-ilhotas (Chambers *et al.*, 2017; Smith *et al.*, 2014).

1.3. Efeitos fisiológicos do GLP-1

Na década de 1960 experimentos utilizando técnicas de radioimunoensaio já demonstravam que a administração de glicose via oral levava a uma secreção de insulina maior do que administração de glicose intravenosa (Drucker; Holst, 2023). Esta ação foi denominada “efeito incretina” e os hormônios responsáveis por ela, GLP-1 e GIP, foram chamados de incretinas (Figura 2) (Drucker; Holst, 2023). No caso do GLP-1, independentemente de sua origem, células α das ilhotas ou células L enteroendócrinas, quando atinge as células β liga-se ao seu receptor (GLP-1R) e desencadeia uma série de eventos que culminam na amplificação da liberação de insulina (Müller *et al.*, 2019).

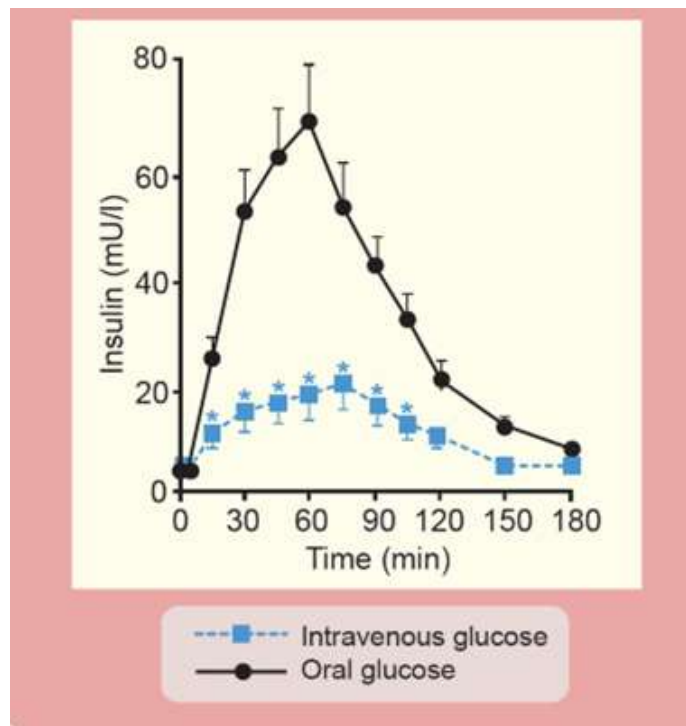


Figura 2: Efeito incretina. Aumento da secreção de insulina em resposta à hiperglicemia, quando glicose é administrada via oral em relação a uma administração isoglicêmica obtida por meio de infusão intravenosa de glicose. Fonte: Drucker; Holst, 2023.

O GLP-1R é um receptor acoplado à proteína G que, quando ativado, estimula a enzima adenilato ciclase que converte ATP em monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) (Meloni *et al.*, 2013). Este segundo mensageiro atua de duas formas principais para estimular a liberação de insulina, a ativação da proteína cinase A (PKA) e da proteína de troca diretamente ativada pelo AMPc (Epac) (Kang *et al.*, 2008; Skelin; Rupnik, 2011). A PKA fosforila os canais K_{ATP} , sensibilizando-os ao ATP e facilitando o seu fechamento, promovendo assim a despolarização celular e a abertura do VDCC, levando ao aumento do Ca^{++} intracelular (Bünemann *et al.*, 1999; MacDonald *et al.*, 2003; Rowlands *et al.*, 2018). A PKA também inibe os canais de K^+ dependentes de voltagem, atrasando a repolarização das células β (MacDonald *et al.*, 2003). Além dessa rápida estimulação da liberação de insulina, a PKA também interage com o fator de transcrição *pancreatic and duodenal homeobox 1* (Pdx-1), levando à estimulação da transcrição do gene da pró-insulina, o que aumenta a estabilidade do seu mRNA, promovendo assim a síntese de insulina (Drucker *et al.*, 1987; Müller *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 1995). O Epac também atua sensibilizando os canais K_{ATP} , mas sua principal função é facilitar a abertura dos canais de liberação de cálcio dos receptores rianodina (RYR) no retículo endoplasmático, amplificando o aumento intracelular de Ca^{++} (Holz, 2004; Kang *et al.*, 2008). É importante notar que as ações da PKA e do Epac potencializam e melhoram a resposta das células β ao aumento da glicose circulante, mas sem aumento concomitante de ATP intracelular, o sinal do GLP-1 é um fraco promotor de liberação de insulina (Figura 3) (Müller *et al.*, 2019).

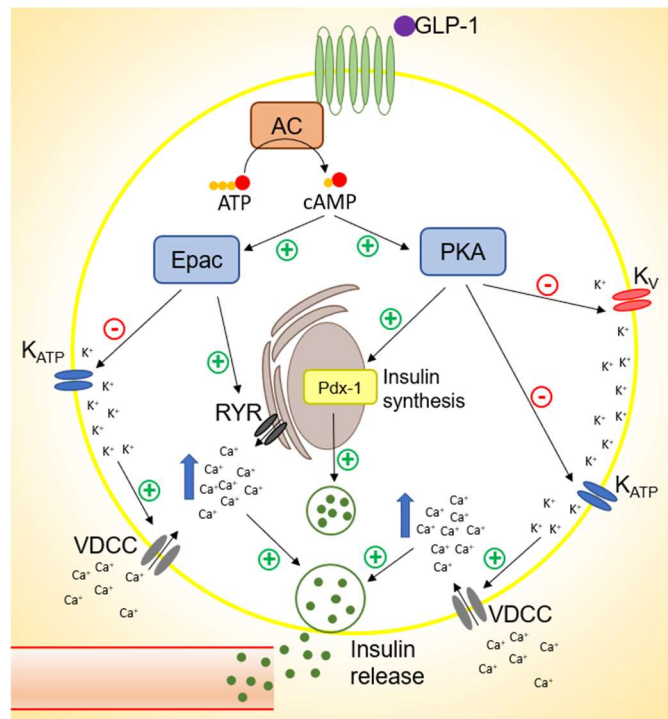


Figura 3: Cascata de sinalização intracelular pela qual o GLP-1 estimula a liberação de insulina em células β . AC: adenilato ciclase. Epac: proteína de troca diretamente ativada por AMPc. PKA: proteína cinase A. K_{ATP} : canais de K^+ sensíveis a ATP. VDCC: canais de cálcio dependentes de voltagem. K_V : canais de K^+ dependentes de voltagem. PDX-1: “pancreatic and duodenal homeobox 1”. RYR: receptor de rianodina. Fonte: Model et al., 2022.

Além dos efeitos agudos do GLP-1 nas células β , que estimulam a síntese e liberação de insulina, ele também apresenta efeitos de longo prazo, que estão principalmente relacionados à apoptose e à multiplicação celular. Diferentes estudos demonstram que a ativação crônica do GLP-1R protege as células β de diferentes estímulos prejudiciais, que poderiam levar à sua perda de função ou até mesmo à morte celular (Li *et al.*, 2003; Rowlands *et al.*, 2018). O aumento do AMPc desencadeado pela ativação do GLP-1R leva à ativação da ligação do elemento responsivo ao AMPc pró-sobrevivência (CREB) e do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), que por sua vez ativam vias antiapoptóticas e defesas contra estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático e lipotoxicidade (Buteau *et al.*, 2003, 2004; Kapodistria *et al.*, 2018; Shimoda *et al.*, 2011; Tsunekawa *et al.*, 2007).

Ao contrário da ação sobre a apoptose, os efeitos do GLP-1 na multiplicação celular são menos evidentes. Estudos em roedores demonstram que o tratamento com GLP-1RAs estimula a proliferação de células β , promovendo a expressão do substrato 2 do receptor de insulina (IRS2) através de mecanismos que incluem a ativação de CREB e Pdx-1 (Jhala, 2003; Li *et al.*, 2005). No entanto, estudos com pacientes humanos diabéticos tipo 2 não mostraram aumento na proliferação de células β (Smits *et al.*, 2017). Embora não se possa descartar que essas diferenças sejam espécie-específicas, há a possibilidade de que a ativação do GLP-1R estimularia a multiplicação de células β apenas em indivíduos jovens, e esse efeito seria perdido com o aumento da idade (Dai *et al.*, 2017).

As células α e δ das ilhotas pancreáticas também expressam GLP-1R, embora nas células α essa expressão seja muito restrita (Richards *et al.*, 2014). Em geral, o GLP-1 atua nas ilhotas inibindo o glucagon e estimulando a liberação de somatostatina (de Heer *et al.*, 2008; Ørskov; Holst; Nielsen, 1988). A ação direta do GLP-1 nas células α não é completamente compreendida, embora alguns estudos não encontrem expressão de GLP-1R em células α , outras pesquisas mostram que esse receptor é expresso, mas em níveis muito baixos e em uma pequena porção de células α (cerca de 10%) (Richards *et al.*, 2014; Segerstolpe *et al.*, 2016). Estudos que avaliam os efeitos de ativação do GLP-1R nessas células também apresentam resultados discrepantes. Em células α isoladas de ratos, o tratamento com GLP-1 aumentou a produção de glucagon (Ding *et al.*, 1997). Por outro lado, camundongos “*knockout*” (KO) para o GLP-1R específico nas células α apresentam altos níveis de glucagon em jejum, intolerância moderada à glicose e secreção elevada de glucagon durante a administração de glicose, indicativos de que a sinalização de GLP-1R reduziria a liberação de glucagon (Zhang *et al.*, 2019). Nas células δ , está bem estabelecido que o GLP-1 estimula a secreção de somatostatina (de Heer *et al.*, 2008). Assim, embora ainda sejam necessários mais dados para esclarecer o efeito exato do GLP-1 nas células α , sabe-se que o GLP-1 inibe a liberação de glucagon quando toda a ilhota é estimulada, e que isso se deve a uma ação parácrina da insulina, somatostatina e outros sinalizadores, como Zn^{++} e amilina, secretados pelas

células β e δ (de Heer *et al.*, 2008; Drucker, 2018a; Gedulin *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2007).

Além da importante ação do GLP-1 nas ilhotas pancreáticas, principalmente na liberação de insulina, vários outros tecidos expressam o GLP-1R, indicando a sua relevância fisiológica, regulando o metabolismo intermediário e sua ação em outros sistemas (Figura 4) (Müller *et al.*, 2019; Rowlands *et al.*, 2018). O GLP-1R já foi identificado no estômago, músculo esquelético, músculo liso, músculo atrial cardíaco, rins, pulmões, tecido adiposo e em diversas áreas SNC (Bullock; Heller; Habener, 1996; Challa *et al.*, 2012; Delgado *et al.*, 1995; Richards *et al.*, 2014).

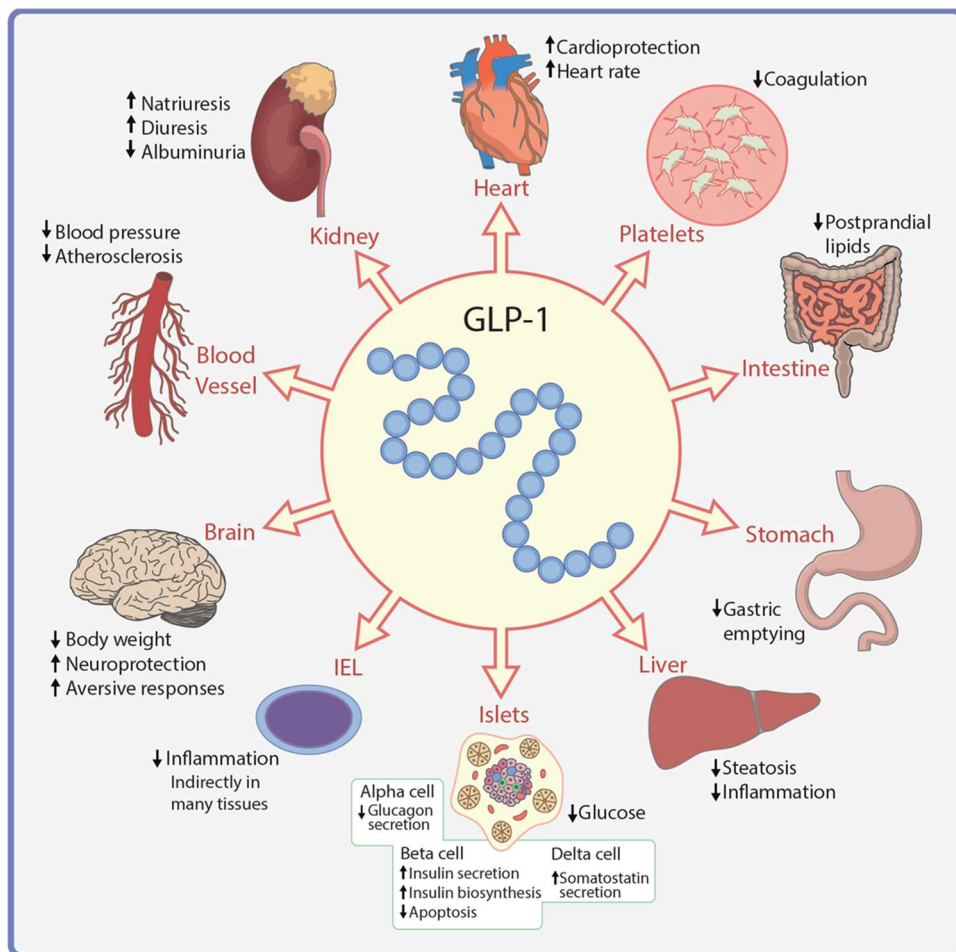


Figura 4: As ações metabólicas do GLP-1 em diferentes órgãos e tipos celulares. IEL: “intestinal intraepithelial lymphocyte”. Fonte: Drucker; Holst, 2023.

A circulação portal faz do fígado o órgão que recebe a maior concentração de GLP-1. Alguns autores já relataram a presença de GLP-1R no fígado, porém os resultados mais recentes indicam que esses achados se devem principalmente a experimentos com anticorpos inespecíficos em estudos imuno-histoquímicos (Drucker, 2018b; Knudsen; Lau, 2019). Assim, os dados atuais indicam que os hepatócitos não expressam GLP-1R (Knudsen; Lau, 2019; Pyke *et al.*, 2014). No entanto, o tratamento com GLP-1RA tem efeitos hepáticos conhecidos, como melhora da esteatose pela regulação das vias da proteína cinase ativada por AMP (AMPK) e do alvo da rapamicina em mamíferos (*mammalian target of rapamycin* – mTOR) (He *et al.*, 2016), a redução na expressão de enzimas da via gliconeogênica (Yang *et al.*, 2017), o aumento da concentração de glicogênio e da atividade da glicogênio sintase α (Redondo *et al.*, 2003) e a inibição da glicogenólise estimulada pelo glucagon (Ikezawa *et al.*, 2003).

Uma das hipóteses para a ação hepática do GLP-1 seria a ligação a receptores em células imunes, especialmente macrófagos, onde a ativação do GLP-1R estimularia a polarização M2 (anti-inflamatória) destas células (Kawakubo *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2019). Todavia, estudos *in vitro* utilizando linhagens de hepatócitos ou culturas primárias demonstraram que diferentes GLP-1RAs regulam o metabolismo lipídico dessas células alterando a expressão de genes como *Ppar γ* , *Acs11*, *Srebp-1c*, *Cpt1A*, *Acc*, *Dgat1*, *Scd1*, *Apob*, *Fabp1*, *Foxa1* e *Abca1* (Khalifa *et al.*, 2022; Omanovic Kolaric *et al.*, 2022; Petrovic *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2019). Embora apenas um receptor de GLP-1 seja conhecido, e a sua sequência de aminoácidos em diferentes tecidos seja a mesma, no músculo esquelético, adipócitos e hepatócitos foram observados efeitos independentes do AMPc, indicando a existência de uma via de sinalização alternativa (Márquez *et al.*, 1998; Wei; Mojsov, 1995; Yang *et al.*, 1998). A forma como essa via é ativada ainda não foi elucidada, porém os inositolfosfoglicanos poderiam ser utilizados como segundos mensageiros (Márquez *et al.*, 1998; Yang *et al.*, 1998).

O GLP-1 tem diversas funções extra-pancreáticas importantes, muitas das quais dependem de ações no SNC. Entre elas estão o aumento da saciedade e da termogênese, a inibição do aumento da pressão arterial, do esvaziamento gástrico e

da ingestão de água, além de participar do comportamento de recompensa e do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (Beiroa *et al.*, 2014; Hayes; Skibicka; Grill, 2008; Herman, 2018; I'meryüz *et al.*, 1997; Kooijman *et al.*, 2015; Krieger *et al.*, 2016; Pacheco *et al.*, 2011; Rüttimann *et al.*, 2009; Sirohi *et al.*, 2016; Tang-Christensen *et al.*, 1996; Wettergren *et al.*, 1997). Tanto a expressão gênica como a expressão proteica de GLP-1R foram encontradas em diversas regiões do SNC, como telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo, ponte e medula (Jensen *et al.*, 2018). Embora o GLP-1R esteja disperso por diversas regiões cerebrais, o principal local da sua expressão é o NTS, de onde os neurônios partem para regiões da própria medula oblonga e para o tálamo, o hipotálamo e o córtex (Llewellyn-Smith *et al.*, 2011). Além desta produção cerebral, o GLP-1 intestinal e seus análogos podem atravessar a barreira hematoencefálica por difusão simples em locais onde a barreira está incompleta ou por transporte mediado por GLP-1R (Athauda; Foltynie, 2016; Hunter; Hölscher, 2012; Secher *et al.*, 2014). Devido à curta meia-vida do GLP-1, há dúvidas sobre a importância fisiológica da ação direta no SNC do GLP-1 liberado pelas células L. Pelo menos parte da ação central do GLP-1 ocorre pela ativação do GLP-1R na aferência vagal, uma vez que a perda da comunicação vagal reduz a ação anorexígena do GLP-1, embora não seja totalmente perdida (Figura 5) (Krieger *et al.*, 2016; Rüttimann *et al.*, 2009). A ativação dos GLP-1R vagais dispara um reflexo parassimpático, que agindo também via nervo vago, leva a liberação de acetilcolina nas ilhotas pancreáticas (Chambers *et al.*, 2017; Drucker; Holst, 2023). Esta estimulação leva a liberação de GLP-1 pelas células α , gerando o efeito parácrino na ilhota descrito anteriormente (Chambers *et al.*, 2017; Drucker; Holst, 2023).

Uma das características do GLP-1 e dos GLP1-RAs que mais geram interesse é o seu efeito anorexígeno. A administração central e periférica de GLP-1RAs reduz o consumo alimentar por atuar principalmente em receptores no SNC, mas também por ativar GLP-1R nas porções aferentes do nervo vago (Labouesse *et al.*, 2012; Rüttimann *et al.*, 2009; Secher *et al.*, 2014). No SNC, o principal local onde o GLP-1 atua controlando a saciedade é o núcleo arqueado hipotalâmico (ARC) (Secher *et al.*, 2014). Neste núcleo, GLP-1RAs administrados periféricamente ligam-se aos neurônios *proopiomelanocortin / cocaine- and amphetamine-regulated transcript*

(POMC / CART), desencadeando o efeito anorexígeno (Secher *et al.*, 2014). Outro efeito da ativação do GLP-1R no ARC é a ativação de neurônios GABAérgicos que inibem a atividade orexígena de neurônios *neuropeptide Y / agouti-related peptide* (Secher *et al.*, 2014). Além deste importante papel do ARC, há evidências de que outros locais do SNC estão envolvidos na ação do GLP-1 na regulação do consumo alimentar, como a formação ventral do hipocampo (HPFv), estruturas mesolímbicas como a área tegmental ventral, o núcleo *accumbens* e o septo lateral (Dickson *et al.*, 2012; Hsu *et al.*, 2015; Terrill *et al.*, 2019).

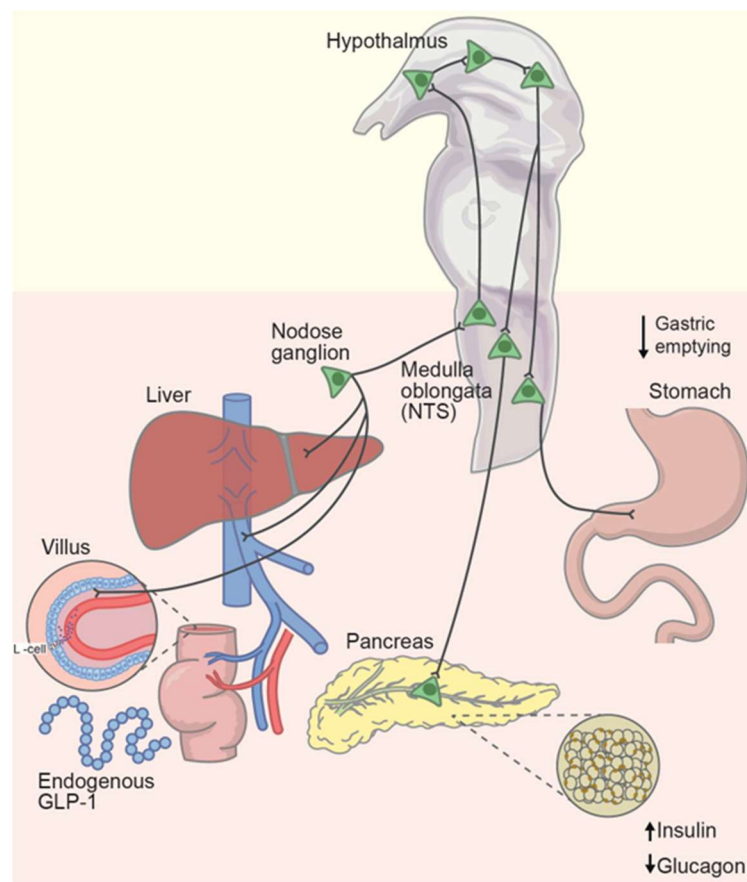


Figura 5: GLP-1R nas aferências vagais. Secreção de GLP-1 das células L intestinais pode ativar GLP-1R de neurônios aferentes do gânglio nodoso, intra-hepáticos e do sistema portal. Neurônios do trato solitário podem gerar reflexos no hipotálamo, e ativar neurônios vagais que enviam sinais estimulatórios ou inibitórios à tecidos periféricos. Fonte: Drucker; Holst, 2023.

Além dos efeitos anorexígenos, a redução no consumo alimentar observada em indivíduos tratados com GLP-1RAs pode ser causada pela redução do esvaziamento gástrico (Hayes; Skibicka; Grill, 2008; I'meryüz *et al.*, 1997; Wettergren *et al.*, 1997). A administração periférica e central (tronco cerebral caudal) de GLP-1RAs pode diminuir a motilidade e a secreção de ácido gástricas, diminuindo assim o esvaziamento do estômago, levando a uma absorção mais lenta de glicose e menor glicemia pós-prandial (Hayes; Skibicka; Grill, 2008; I'meryüz *et al.*, 1997; Wettergren *et al.*, 1997). Diferentes intervenções que bloqueiam a porção aferente vagal ou GLP-1R na aferência vagal resultam na perda da inibição gástrica do GLP-1 (Krieger *et al.*, 2016; Wettergren *et al.*, 1997). A administração de inibidores adrenérgicos também atenua a inibição do esvaziamento gástrico causada pelo GLP-1 (Giralt; Vergara, 1998). Embora sejam necessários mais dados para elucidar como o GLP-1 promove suas ações gástricas, os resultados atuais indicam que elas dependem da estimulação central, que pode ser desencadeada pela estimulação vagal periférica e central (Hayes; Skibicka; Grill, 2008; I'meryüz *et al.*, 1997; Wettergren *et al.*, 1997). Assim, a redução da motilidade induzida pelo GLP-1 seria devida à estimulação simpática e à inibição parassimpática, e não por ação direta no estômago (Giralt; Vergara, 1998; Hayes; Skibicka; Grill, 2008; I'meryüz *et al.*, 1997; Wettergren *et al.*, 1997).

Além de inibir o esvaziamento gástrico, a ativação do sistema nervoso simpático estimulada pelo GLP-1 também aumenta o gasto energético ao aumentar a atividade do tecido adiposo marrom (TAM) (Lockie *et al.*, 2012). O hipotálamo dorsomedial (DMH), um dos núcleos hipotalâmicos que controlam a função do TAM, expressa GLP-1R e recebe inervação de neurônios que expressam o gene pré-pró-glucagon. A perturbação da função deste núcleo causa aumento no ganho de peso e redução na termogênese do TAM (Lee *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2017). A administração central e periférica de GLP-1RAs estimula a atividade do TAM, embora o efeito dependa da via de administração (Beiroa *et al.*, 2014; Krieger *et al.*, 2018; Osaka *et al.*, 2005). Enquanto a infusão intravenosa resulta em aumento da termogênese, quando um GLP-1RA é administrado por via intraperitoneal o efeito é exatamente o oposto, resultado que provavelmente se deve à ativação do GLP-1R na aferência vagal

(Krieger *et al.*, 2018; Osaka *et al.*, 2005). Além dessas ações via SNC, o GLP-1 pode atuar diretamente nos adipócitos estimulando a termogênese, a depuração plasmática de glicose e triacilglicerol, a lipogênese de novo e formação de novos adipócitos. Isso ocorre através da via da adenilato ciclase, levando ao aumento do AMPc e à ativação da proteína cinase B (PKB/AKT), da proteína cinase C (PKC), das cinases reguladas por sinal extracelular (ERK) e da expressão do receptor gama ativado pelo proliferador de peroxissoma (PPAR γ) (Challa *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2017; Decara *et al.*, 2017; Kooijman *et al.*, 2015).

Vários desses efeitos não parecem estar restritos ao TAM, mas também ocorrem no tecido adiposo branco (TAB), tornando os adipócitos brancos mais semelhantes aos marrons em morfologia e função, um processo conhecido como “*browning*” (Beiroa *et al.*, 2014; Challa *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2017; Decara *et al.*, 2017). Além dos efeitos causados diretamente nos adipócitos e via SNC, o GLP-1 também atua nas células do sistema imunológico residentes no tecido adiposo, como as células T “*adipose-resident invariant natural killer*” (iNKT). Quando ativadas, as células iNKT liberam o fator de crescimento de fibroblastos 21 (FGF21), que por sua vez estimula os adipócitos, aumentando a termogênese (Lynch *et al.*, 2016). Todavia, alguns resultados da ativação do GLP-1R no TAB são conflitantes (Chen *et al.*, 2017; Lui *et al.*, 2023). Embora alguns estudos relatem um aumento na lipogênese, na expressão do transportador de glicose (GLUT) 4, do substrato-1 do receptor de insulina (IRS1) e da subunidade β do receptor de insulina (IR β), outros demonstram uma redução na lipogênese via *Ppar γ* , *enhancer binding protein α* (*Cebp- α*), e *glycogen synthase kinase-3* (GSK-3) (Gao *et al.*, 2007; Hao *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2020). Ainda, o tratamento crônico com liraglutida (GLP-1RA) estimulou a oxidação de glicose e a lipogênese do TAB em ratos machos e fêmeas (Model *et al.*, 2021a, 2021b).

A maioria dos estudos citados até agora foram realizados utilizando ratos, camundongos, estudos clínicos com voluntários humanos e linhagens celulares dessas três espécies. Porém, estudos realizados com cães e gatos como modelo demonstram que, enquanto algumas das características do GLP-1 são comuns entre as espécies, outras são específicas. Em cães, o GLP-1 também é produzido pelas células L intestinais e age nas ilhotas pancreáticas estimulando a secreção de

insulina (Damholt; Kofod; Buchan, 1999; Ohneda *et al.*, 1991). Entretanto, diferentemente de humanos e roedores, a glicose não estimula a liberação de GLP-1. Nesta espécie os principais estímulos para a secreção de GLP-1 são lipídios e o GIP (Lubbs *et al.*, 2010; Schauf *et al.*, 2018; Van Citters *et al.*, 2002). Há evidência de que em cães o GLP-1 também é degradado pela DPP4, visto que a administração de inibidores desta enzima (DPP4i) aumenta a concentração plasmática de GLP-1 (Deacon *et al.*, 2002; Edgerton *et al.*, 2009). Uma importante característica do GLP-1 que foi observada apenas em cães é o aumento na captação periférica de glicose sem aumento na liberação de insulina, indicando um provável aumento na sensibilidade à insulina (Freyse *et al.*, 1999; Sandhu *et al.*, 1999). Em gatos o GLP-1 estimula a liberação de insulina e é degradado pela DPP4 (Mori *et al.*, 2016; Nishii *et al.*, 2014; Rudinsky *et al.*, 2015). Nesta espécie o principal estímulo para a liberação de GLP-1 é o consumo de aminoácidos (Gilor *et al.*, 2011).

1.4. GLP-1, obesidade e DM2

O primeiro medicamento baseado no GLP-1 aprovado por agências regulatórias como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Administração de Alimentos e Medicamentos (*Food and Drug Administration – FDA*) e a Agência Europeia de Medicamentos (*European Medicines Agency – EMA*) foi a exenatida em 2005, 2005 e 2006 respectivamente (Al Musaimi, 2024; Eliaschewitz; Canani, 2021; Gallwitz, 2022). A exenatida é uma molécula sintética análoga a um peptídeo conhecido como exendin-4, que foi isolado a partir da saliva do lagarto *Heloderma suspectum*, conhecido como “monstro de Gila” (Yap; Misuan, 2019). Por sua semelhança ao GLP-1 de mamíferos o exendin-4 é capaz de se ligar ao GLP-1R e ativar este receptor, porém as diferenças em alguns aminoácidos, especialmente a troca do segundo aminoácido de uma alanina por glicina, fazem com que o exendin-4 seja muito mais resistente a clivagem pela DPP4 (Yap; Misuan, 2019). Assim, a meia-vida da do exendin-4/exenatida é de 3 a 4 horas enquanto a do GLP-1 é de apenas 1 a 2 minutos (Nauck *et al.*, 2021). Atualmente diversos outros GLP-1RA com

meias-vidas ainda maiores (Figura 6), como liraglutida (12 – 14 horas), dulaglutida (90 horas) e semaglutida (7 dias) foram desenvolvidos (Nauck *et al.*, 2021).

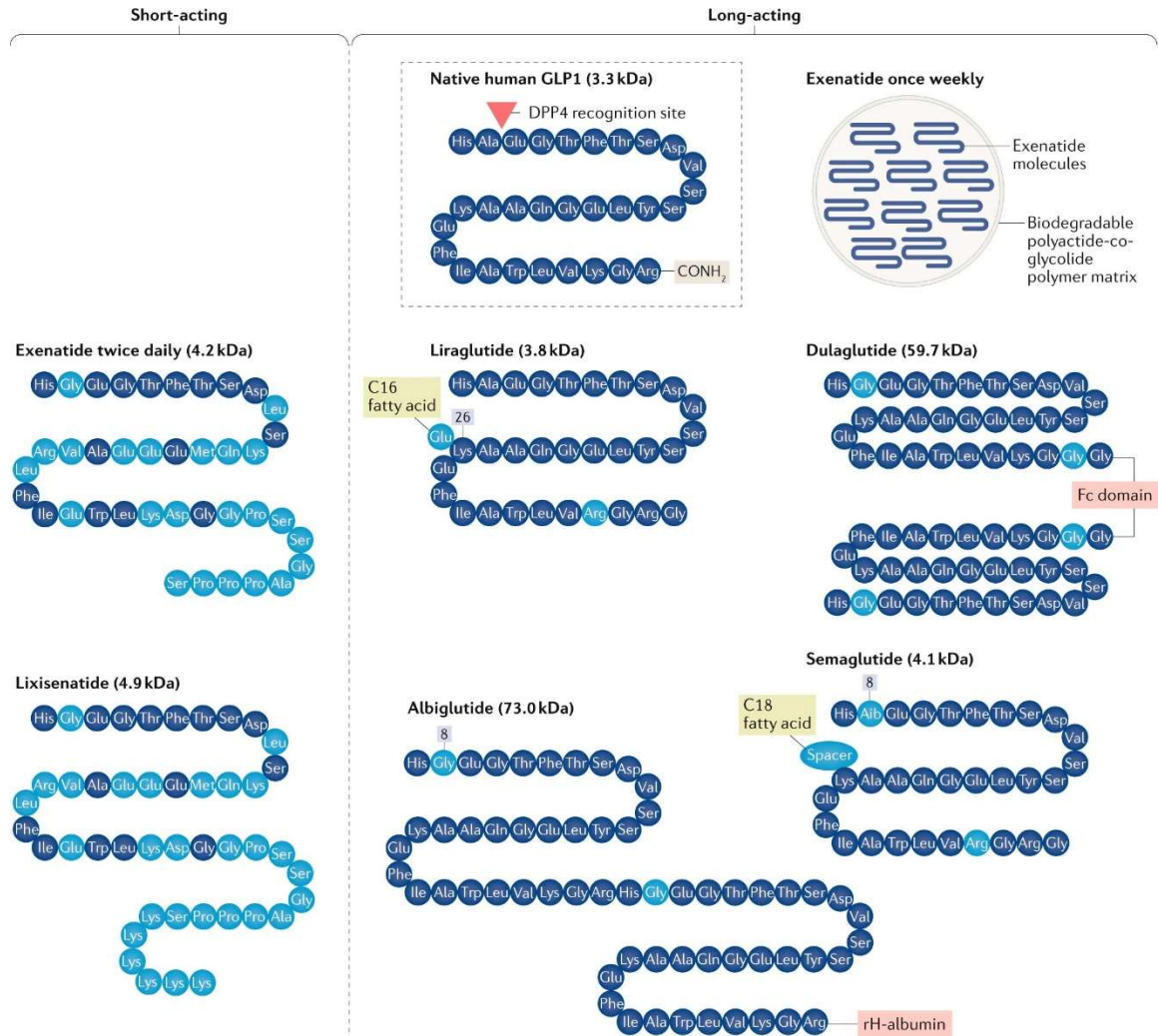


Figura 6: Sequências de aminoácidos do GLP-1 e GLP-1RA. Em azul escuro: aminoácidos nos GLP-1RA iguais ao GLP-1 humano nativo. Em azul claro: aminoácidos nos GLP-1RA diferentes do GLP-1 humano nativo. Em amarelo e rosa: demais alterações moleculares nos GLP-1RA em relação ao GLP-1 humano nativo. Fonte: Andersen *et al.*, 2018.

Existem estudos avaliando a utilização dos GLP-1RA no tratamento de diversas doenças, como as cardíacas, hepáticas, renais e neurodegenerativas (Andrikou *et al.*, 2019; Diz-Chaves *et al.*, 2022; Greco *et al.*, 2019; Nevola *et al.*, 2023). Todavia, atualmente estes medicamentos foram aprovados por agências regulatórias apenas para o tratamento de obesidade e DM2 (Al Musaimi, 2024; Eliaschewitz; Canani,

2021; Gallwitz, 2022). A obesidade é uma doença crônica, sendo atualmente considerada uma epidemia (World Obesity Federation, 2023). Estima-se que em 2025 mais de 1,2 bilhão de pessoas serão obesas, o que representa 17% da população mundial, e em 2035 o número de pessoas obesas deverá superar 1,9 bilhão – 24% da população (World Obesity Federation, 2023).

A obesidade é definida como um estado em que o acúmulo excessivo de gordura (no tecido adiposo branco – TAB ou em outros órgãos como deposição ectópica de lipídios) causa sérios problemas de saúde (Purnell, 2023). A etiologia da obesidade é heterogênea, e o desenvolvimento da doença depende de diversos elementos e das interações entre eles (Masood; Moorthy, 2023). Entre estes fatores estão aspectos genéticos e epigenéticos, inatividade física, consumo excessivo de calorias, ambiente intrauterino, sono, uso de medicamentos, condição socioeconômica, estresse, microbiota intestinal, exposição a disruptores endócrinos entre outros (Masood; Moorthy, 2023). As comorbidades associadas à obesidade incluem hipertensão, doenças cardiovasculares, distúrbios musculoesqueléticos, hiperlipidemia, apneia do sono, vários tipos de câncer e principalmente resistência à insulina (IR) e disfunção das células β pancreáticas, que podem progredir para DM2 e síndrome metabólica (De Godoy; Swanson, 2013; Huang *et al.*, 2016; Kharroubi; Darwish, 2015; López; Tena-Sempere, 2015).

Dentre as doenças associadas à obesidade destaca-se a relação com a DM2, que é uma das mais próximas e bem estabelecidas, envolvendo elementos comuns na patogênese das duas doenças (Ruze *et al.*, 2023). Os principais mecanismos relacionados à obesidade que predispõe a DM2 são a inflamação crônica de baixo grau, disfunção mitocondrial e hiperinsulinemia (Boutari; DeMarsilis; Mantzoros, 2023). A DM2 é caracterizada principalmente pelo desenvolvimento de resistência periférica à insulina e disfunção na secreção de insulina pelas células β , levando a um quadro de hiperglicemia (Kharroubi; Darwish, 2015). A DM2 pode ainda levar a outras complicações, como nefropatia, hipertensão, dislipidemia, esteatose hepática e inflamação sistêmica (Kharroubi; Darwish, 2015).

Considerando-se as ações fisiológicas do GLP-1, não é surpreendente que tenha sido despertado grande interesse no seu potencial uso farmacológico no tratamento da obesidade e da DM2. Embora em humanos e roedores estas duas doenças sejam claramente relacionadas, em animais domésticos, principalmente cães, esta relação possuindo características próprias (Boutari; DeMarsilis; Mantzoros, 2023; Ruze *et al.*, 2023; Zoran, 2010). Embora cães dificilmente desenvolvam diabetes insulino-resistente como a DM2 humana e a diabetes de gatos, cães obesos têm maior predisposição para desenvolver DM, mesmo que nesta espécie a doença tenha características insulino-dependentes (Pöpl, 2023).

A obesidade em animais de estimação é um problema crescente em muitas partes do mundo. Cerca de 60% dos cães no Reino Unido, 56% nos EUA, 44% na China e 40% no Brasil estão com sobrepeso ou obesidade, enquanto a prevalência global de sobrepeso e obesidade canina é estimada entre 29 e 57% (Bomberg *et al.*, 2017; Mao *et al.*, 2013; Porsani *et al.*, 2020; Shepherd, 2021; Wallis *et al.*, 2018). A prevalência de sobrepeso e obesidade em gatos é semelhante a ligeiramente superior à dos cães, sendo 60% nos EUA, 63% na Nova Zelândia e 50% na Holanda, 45% na Suécia e estimada entre 12 e 63% globalmente (Öhlund; Palmgren; Holst, 2018; Shepherd, 2021; Tarkosova *et al.*, 2016; Wallis; Raffan, 2020). Em uma avaliação feita no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em Porto Alegre, observou-se uma prevalência de sobrepeso ou de obesidade de 38,37% em gatos e 35,76% em cães (Machado *et al.*, 2022). Tanto cães quanto gatos são considerados com sobrepeso quando seu peso corporal está mais de 10% acima do peso ideal, e obesos quando esse valor está 20% ou mais acima do ideal (German, 2016).

Em cães a obesidade leva ao aumento de citocinas inflamatórias e resistência à insulina, porém eles não apresentam perdas significativas na função das células β , mantêm alta liberação de insulina, não apresentam hiperglicemia de jejum e raramente desenvolvem DM por resistência à insulina (Gilor *et al.*, 2016; Verkest *et al.*, 2012). Mesmo em protocolos de pesquisa para gerar um quadro semelhante à DM2 em cães, para usá-los como modelo para doenças humanas, é necessário combinar dietas ricas em energia que desencadeiam resistência à insulina com

drogas diabetogênicas, como a estreptozotocina, para danificar as células β (Kleinert *et al.*, 2018). Os gatos, por sua vez, desenvolvem DM2 típico relacionado à obesidade, com resistência à insulina e subsequente perda da função das células β (Gilor *et al.*, 2016). Porém, o quadro inflamatório característico de humanos obesos, que também é verificado em cães, ainda precisa ser confirmado em felinos. Não foram observadas relações entre obesidade e citocinas como resistina, interleucina (IL) 1, IL-6 e fator de necrose tumoral α (TNF α) em gatos (Bjornvad *et al.*, 2014; Hoenig *et al.*, 2013; Takashima *et al.*, 2019).

1.5. Estrógenos, Obesidade e DM2

Assim como o GLP-1, outros hormônios estão intimamente ligados à obesidade e à DM2, e entre eles os estrógenos são especialmente importantes. Nas fêmeas mamíferas os esteroides sexuais mais importantes são os estrogênios, e o 17- β -estradiol (E2) é o principal deles (Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013). O E2 é uma molécula derivada do colesterol, e a enzima chave para sua produção é a aromatase (CYP19A1) (Figura 7) (Kuryłowicz, 2023). O principal sítio de produção do E2 são os folículos ovarianos em desenvolvimento (Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013). Para a produção de E2 nos folículos são necessários tanto o estímulo pelo hormônio luteinizante (LH) como o hormônio folículo estimulante (FSH), ambos produzidos na adeno-hipófise, em resposta ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (Simpson, 2003). A produção de estrógenos também ocorre em outros locais, como adrenais, placenta e o TAB (Kuryłowicz, 2023).

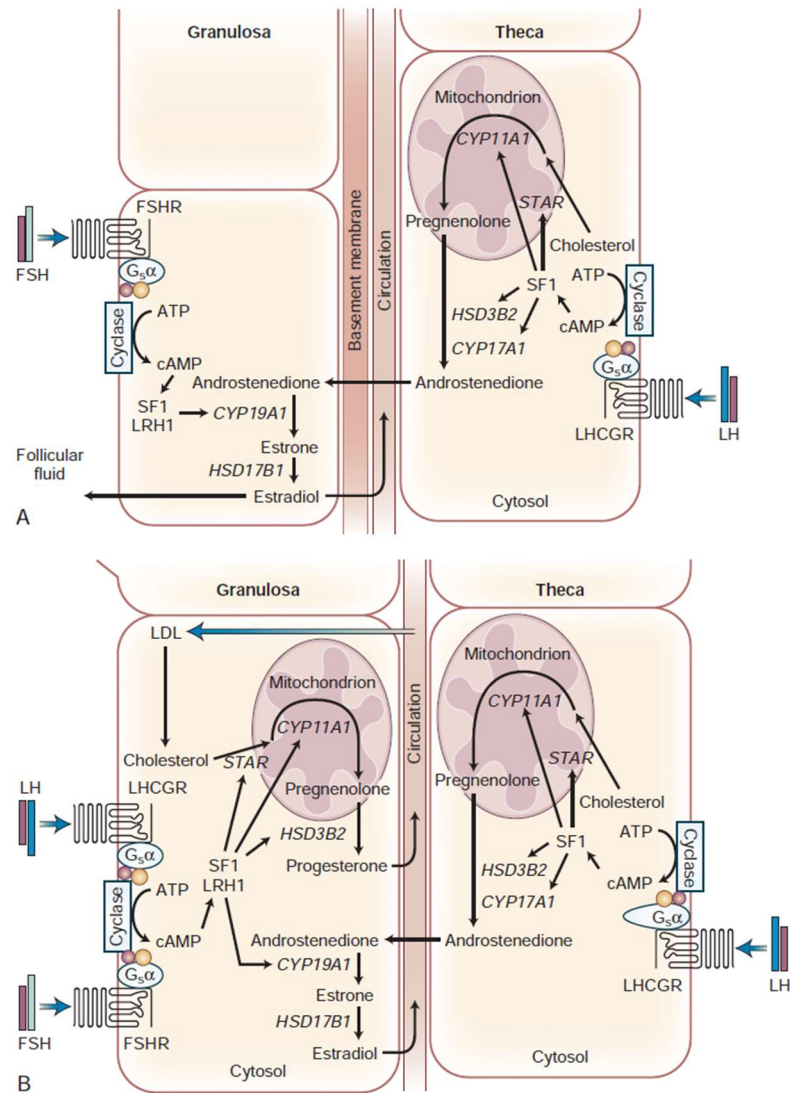


Figura 7: Síntese de estrogênio nas fases folicular (A) e lútea (B). SF1: fator esteroidogênico 1. LRH1 receptor homólogo do fígado 1. FSH: hormônio folículo-estimulante. CYP19A1: aromatase. STAR: proteína reguladora aguda esteroidogênica. LDL: lipoproteína de baixa densidade. ATP: trifosfato de adenosina. AMPc: monofosfato de adenosina cíclico. FSHR: receptor de FSH. HSD: desidrogenase de hidroxisteroide. LHCGR: receptor de LH. Fonte: (Bulun, 2016).

Esta seção tratará de aspectos relativos a ações de hormônios característicos do sexo feminino. Apesar de sexo e gênero serem conceitos com intersecções, estas classificações são distintas e influenciam a saúde humana de forma independente (Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020). O termo gênero se refere a normas construídas socialmente que designam papéis, relações e posições que são atribuídas as

peçoas (Shannon *et al.*, 2019). Gênero não é um termo binário, um mesmo indivíduo pode apresentar características classificadas como masculinas ou femininas em diferentes graus (Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020; Pelletier; Ditto; Pilote, 2015). Cerca de dois terços dos homens e mulheres relatam pelo menos uma característica relacionada ao gênero tradicionalmente atribuídas ao sexo oposto (Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020; Pelletier; Ditto; Pilote, 2015). Pessoas transgênero são aquelas que apresentam identidade de gênero diferente do sexo atribuído ao nascimento (Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020; Pelletier; Ditto; Pilote, 2015). Assim como o sexo, diferenças de gênero são variáveis importantes que definem diferentes comportamentos e susceptibilidade a doenças (Johnson; Greaves; Repta, 2009; Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020). Comportamentos como dieta, estresse percebido, tabagismo, atividade física, acesso a cuidados de saúde, comportamentos de procura de ajuda e utilização individual do sistema de saúde são mais influenciados pelo gênero do que pelo sexo biológico (Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020; Mosca; Barrett-Connor; Kass Wenger, 2011; Vera Regitz-Zagrosek *et al.*, 2016). Além disto, alguns destes comportamentos podem produzir modificações epigenéticas que modulam a expressão genica (Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020). O gênero também é um melhor preditor de risco a doenças cardiovasculares do que o sexo biológico (Pelletier *et al.*, 2016; Pelletier; Ditto; Pilote, 2015). Apesar da importância das diferenças de gênero para a saúde humana, a avaliação desta variável está além do escopo desta tese. Neste estudo utilizamos modelos animais em que podemos avaliar características reguladas por hormônios sexuais, porém o gênero não foi uma variável analisada.

A ação dos estrógenos se dá pela ligação destas moléculas a receptores nas células alvo (Alemany, 2021). Existem três tipos principais de receptores de estrógenos (ER), os receptores clássicos ou canônicos ER α e ER β e os receptores de estrógenos associados a proteína G (GPER), como GPRA1 e GPR30 (Alemany, 2021). Os receptores clássicos estão localizados no citosol ou no núcleo, e após a ligação do E2 formam dímeros que interagem em locais específicos do DNA, conhecidos como elementos responsivos a estrógenos (ERE), regulando a expressão de determinados genes (Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013). Os GPER estão localizados na membrana plasmática e intracelularmente, em porções

internalizadas da membrana (Figura 8) (Prossnitz; Barton, 2011). Após a interação com ligantes e sua ativação, estes receptores estimulam a atividade de diferentes enzimas tirosina cinases não receptoras da família *proto-oncogene tyrosine-protein* (Src) levando ativação de vias como da proteína cinase ativada por mitógeno (MAPK)/ERK e (PI3 α)/Akt (Alemany, 2021; Luo; Liu, 2020). Também ocorre o aumento da atividade da adenilato ciclase e fosforilação do AMPc levando a ativação da PKA (Alemany, 2021; Luo; Liu, 2020).

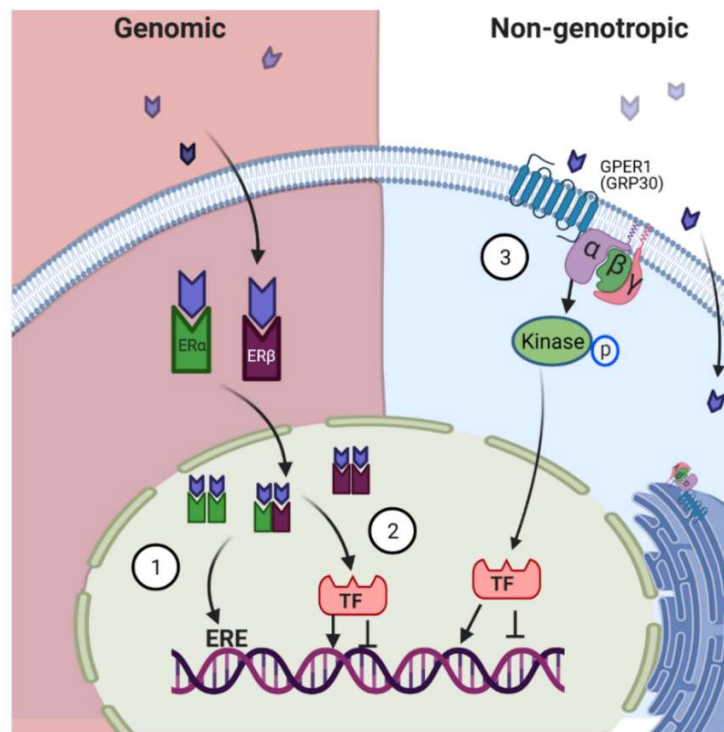


Figura 8: Mecanismos de ação dos receptores de estrogênio. ER α : receptor de estrógenos α . ER β : receptor de estrógenos β . ERE: elementos responsivos ao estrogênio. TF: fator de transcrição. GPER1/GRP30: receptores de estrógenos associados a proteína G. Fonte: Lara-Castillo, 2021.

O E2 desempenha um papel fundamental na regulação do sistema reprodutor feminino, porém suas ações vão muito além de um “hormônio sexual” (Alemany, 2021). Como reguladores do metabolismo intermediário os estrógenos agem em diversos tecidos como fígado, músculo esquelético, tecido adiposo, no sistema

nervoso central e em células β pancreáticas (Kim; Cho; Kim, 2014; Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013). Devido as ações dos estrógenos nestes tecidos, encontram-se diversas diferenças metabólicas entre homens e mulheres e entre mulheres em idade reprodutiva (pré-menopausa) e aquelas que não apresentam mais ciclos reprodutivos (pós-menopausa) (Palacios *et al.*, 2024; Tramunt *et al.*, 2020).

A deposição do tecido adiposo é diferente entre os sexos, com as mulheres pré-menopausa acumulando gordura especialmente em depósitos subcutâneos (gluteofemorais – obesidade ginóide) e homens em depósitos viscerais (abdominais – obesidade andróide) (Fried; Lee; Karastergiou, 2015; Kim; Cho; Kim, 2014). Mulheres após a menopausa apresentam um padrão de deposição mais semelhante ao masculino (Fried; Lee; Karastergiou, 2015; Kim; Cho; Kim, 2014). Mulheres em idade reprodutiva apresentam maior prevalência de obesidade, porém menor prevalência de DM2 do que homens na mesma faixa etária (Kautzky-Willer; Leutner; Harreiter, 2023; Palacios *et al.*, 2024). Entretanto, após a menopausa a prevalência de DM2 em mulheres aumenta de forma importante, sendo maior do que em homens (Kautzky-Willer; Leutner; Harreiter, 2023).

A “proteção metabólica” que as mulheres apresentam deve-se principalmente a ação dos estrógenos em tecidos como o fígado, TAB e ilhotas pancreáticas. No fígado, a ligação do E2 ao GPER, ao ER α e ao ER α de membrana (mER α), pode influenciar o metabolismo lipídico e estimular a oxidação da lipídeos (Faulds *et al.*, 2012; Maher *et al.*, 2010; Shen; Shi, 2015). Também foi demonstrado que a ovariectomia em roedores causa aumento da deposição de triglicerídeos no fígado (Kitson *et al.*, 2015; Model *et al.*, 2021a; Tomaz *et al.*, 2016). Este resultado é atribuído à expressão reduzida de pAMPK, um importante regulador metabólico da síntese/oxidação de ácidos graxos e da oxidação da glicose, e ao aumento da expressão de genes lipogênicos, como SREBP-1c e seus alvos ACC-1 e FAS (D'Eon *et al.*, 2005; Nigro *et al.*, 2014).

No TAB o E2 promove, como citado acima, a deposição de lipídeos principalmente na região subcutânea (Lustig *et al.*, 2022). Este tipo de deposição está associado há menor produção de citocinas inflamatórias e menor risco de

desenvolvimento de distúrbios metabólicos (Lustig *et al.*, 2022). A ativação dos ERs no TAB estimula a lipólise e oxidação lipídica e inibe a captação de ácidos graxos e a síntese de triglicerídeos (Lundholm *et al.*, 2008; Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013). A oxidação da glicose e a síntese lipídica também foram reduzidas em ratas após ovariectomia em depósitos de TAB (Model *et al.*, 2021a). Camundongos α ERKO exibem aumento do TAB, do tamanho de adipócitos, do número de adipócitos e da desregulação de lipoproteínas, desenvolvendo tolerância diminuída à glicose e resistência à insulina (Lustig *et al.*, 2022).

No fígado os estrógenos também agem na regulação do metabolismo intermediário, além de inibir o desenvolvimento de doenças hepáticas crônicas (Ezhilarasan, 2020). Os hepatócitos expressam os três tipos de receptores de estrógenos, sendo que o ER α é o mais expresso, seguido do ER β e do GPER, que tem a menor expressão (Mahboobifard *et al.*, 2022). A ausência da sinalização estrogênica, seja pela ovariectomia (OVR) ou em animais ERKO, leva a alterações hepáticas como aumento na síntese e deposição de lipídeos e resistência à insulina (Palmisano; Zhu; Stafford, 2017). Já a ativação dos ER, especialmente o ER α , leva a fosforilação do transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3), que por sua vez inibe genes envolvidos na lipogênese como *fatty acid synthase (Fasn)*, *stearoyl-Coenzyme A desaturase 1 (Scd1)*, *acetyl-CoA acyltransferase 1 (Acaa1)* e *glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial (Gpam)* (Gao *et al.*, 2006). O ER α agindo no citoplasma de hepatócitos também estimula a fosforilação da AMPK, que por sua vez inibe a lipogênese agindo sobre proteínas como a acetil-CoA carboxilase (ACC) e a ácido graxo sintase (FAS) (Kim *et al.*, 2014; Pedram *et al.*, 2013). Por fim, o tratamento com E2 estimula a oxidação de ácidos graxos, inibe a MAPK e a produção de espécies reativas de oxigênio e de IL-6 no fígado (Camporez *et al.*, 2013; Mahboobifard *et al.*, 2022).

Está estabelecido que a ativação dos ERs nas células β (ER α , ER β e GPER) produz efeitos benéficos nestas células, melhorando a sua sobrevivência, a biossíntese de insulina e a secreção de insulina estimulada por glicose (GSIS) (Mauvais-Jarvis, 2016). Além da diferença na prevalência de DM2 em homens e mulheres, há evidências de diferenças sexuais no desenvolvimento desta doença em

modelos animais (Kautzky-Willer; Leutner; Harreiter, 2023; Mauvais-Jarvis *et al.*, 2017). Em linhagens modelo para diabetes como camundongos diabéticos não obesos (*nonobese diabetic mouse* – NOD), ratos Zucker, camundongos Akita, camundongos transgênicos que super expressam o polipeptídeo amilóide da ilhota humana (hIAPP) em células β e roedores com destruição de ilhotas induzida por estreptozotocina (STZ) ou aloxana, fêmeas apresentam maior resistência ao desenvolvimento da doença (Geisler *et al.*, 2002; Gourdy *et al.*, 2016; Le May *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2009; Mauvais-Jarvis *et al.*, 2017; Tiano *et al.*, 2011). Em machos tratados com E2 estes processos são ao menos parcialmente inibidos (Geisler *et al.*, 2002; Gourdy *et al.*, 2016; Le May *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2009; Mauvais-Jarvis *et al.*, 2017; Tiano *et al.*, 2011).

1.6. Interação entre GLP-1 e estrógenos

Apesar da ligação inicial a diferentes receptores, os efeitos do E2 e do GLP-1 podem convergir na ativação de cinases importantes, como PKA, PKB e PKC, sugerindo que estes hormônios podem ter efeitos sinérgicos em diferentes tecidos (Burmeister *et al.*, 2012; Ding *et al.*, 2010; Rowlands *et al.*, 2018; Shen; Shi, 2015; Zhu *et al.*, 2013). No fígado, ambos os hormônios reduzem o acúmulo de lipídeos e melhoram a sensibilidade à insulina (D'Eon *et al.*, 2005; Ding *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2013), no SNC podem melhorar a sensibilidade periférica à insulina e a homeostase energética (Burmeister *et al.*, 2012; Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013). A combinação de E2 e GLP-1 na mesma molécula como sistema alvo de entrega de E2 para tratar a síndrome metabólica já foi proposta (Finan *et al.*, 2012; Tiano *et al.*, 2015).

Além das ações de E2 e GLP-1 que regulam importantes tecidos metabólicos (TAB entre outros), foi recentemente demonstrado que esses hormônios podem regular a liberação um do outro (Handgraaf *et al.*, 2018; Maske *et al.*, 2017; Outeiriño-Iglesias *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017). Em ratas, a administração de GLP-1 aumentou a liberação de LH durante o período pré-ovulatório, influenciando as concentrações subsequentes de progesterona e estradiol (Outeiriño-Iglesias *et al.*,

2015). Em um estudo de 2018, Handgraaf e colaboradores demonstraram que em camundongas ovariectomizadas, as concentrações plasmáticas de glicose e glucagon aumentaram enquanto a de insulina diminuiu. Quando estes animais são tratados com reposição de E2, essas alterações são revertidas e a liberação de GLP-1 das células L (intestinais) e α (pancreáticas) é aumentada. Além disso, em células que expressam o GLP-1 (GLUTag) isoladas, a ativação de ER α regulou positivamente a secreção deste hormônio (Wang *et al.*, 2020).

1.7. Justificativa

Os GLP-1RAs estão sendo mundialmente utilizados para o tratamento de DM2 e obesidade, além de apresentarem evidências promissoras no tratamento de doenças cardíacas, hepáticas e renais. Todavia, apesar de sua utilização estar amplamente difundida, alguns aspectos da fisiologia do GLP-1 em humanos e animais ainda não são compreendidos. O GLP-1 e seus análogos podem ter ações espécie-específicas e interações com outros hormônios (especialmente os estrógenos) que podem influenciar suas ações farmacológicas em humanos e animais.

2. HIPÓTESE E OBJETIVOS

Esta tese foi dividida em duas seções, uma revisão narrativa e um estudo experimental, cada uma com suas hipóteses e objetivos específicos.

2.1. Revisão narrativa

2.1.1. Hipótese da revisão narrativa

Assim como ocorre em humanos, a utilização de GLP-1RAs poderia ajudar no tratamento de DM e obesidade em animais domésticos, mais especificamente cães e gatos. Ao revisar a literatura pode-se compilar diferentes estudos que corroborem este uso.

2.1.2. Objetivo geral da revisão narrativa

Compilar e analisar criticamente estudos que avaliam os efeitos fisiológicos do GLP-1 e as ações farmacológicas dos GLP-1RAs em cães e gatos.

2.1.3. Objetivos específicos da revisão narrativa

- Identificar os estudos que avaliem as ações fisiológicas do GLP-1 em cães e gatos publicados em revistas científicas indexadas às plataformas PubMed/NCBI, Scopus, Web of Science e Google Scholar.
- Identificar os estudos que avaliem a utilização de GLP-1RAs no tratamento de diferentes doenças em cães e gatos publicados em revistas científicas indexadas às plataformas PubMed/NCBI, Scopus, Web of Science e Google Scholar.
- Comparar as ações do GLP-1 em espécies em que há mais informações (roedores e humanos) com cães e gatos, evidenciando características espécie-específicas.

- Sumarizar os achados em cães e gatos com diferentes doenças tratados com GLP-1RAs e DPP4i, destacando o potencial destes fármacos para o tratamento de animais com doenças metabólicas.
- Apontar possíveis restrições e efeitos adversos encontrados do uso de GLP-1RAs e DPP4i em cães e gatos.

2.2. Estudo experimental

2.2.1. Hipótese do estudo experimental

Visto que parte das vias de sinalização do GLP-1R e dos ERs levam a ativação de proteínas em comum, promovendo desfechos similares, propomos que a ativação do GLP-1R no tecido adiposo e no fígado pode compensar, ao menos em parte, as alterações oriundas da baixa concentração estrógenos.

2.2.2. Objetivo geral do estudo experimental

Estudar como os efeitos da ovariectomia influenciam na ação do GLP-1 em tecidos fundamentais para a regulação do metabolismo intermediário. Para isto foram feitas a incubação de fígado, TAB subcutâneo (sc), TAB perirenal (pr) e TAM de ratas castradas e *sham* na presença de um GLP-1RA, o liraglutida. Também foram identificados estudos que realizaram o transcriptoma de roedores fêmeas tratados com GLP-1RA e o transcriptoma de animais castrados, reanalisando seus dados com foco na interação entre estas intervenções.

2.2.3. Objetivos específicos do estudo experimental

Avaliar a ação aguda de um GLP-1RA nos tecidos das ratas castradas e *sham*:

- Captação de glicose no TABsc, TABpr, TAM e fígado.
- Oxidação de glicose no TABsc, TABpr, TAM e fígado.
- Oxidação de palmitato no TABsc, TABpr, TAM e fígado.

- Lipogênese a partir de glicose no TABsc, TABpr e TAM e fígado.
- Lipólise no TABsc, TABpr e fígado.
- Expressão gênica de *Ppar* e *Ppara* no TABsc e no fígado.

A partir de dados de transcriptoma disponíveis na literatura:

- Comparar os genes diferencialmente expressos (DEGs), *up* e *down* regulados no TAB de roedores fêmeas submetidas a ovariectomia e ao tratamento com GLP-1RA, avaliando como cada intervenção regula a expressão gênica.
- Realizar a análise de enriquecimento funcional (*Gene Ontology* – GO) dos DEGs encontrados e comparar os termos GO e vias KEGG (de Enciclopédia Kyoto de Genes e Genomas – KEGG) resultantes de cada intervenção.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Revisão narrativa

A revisão abordou os aspectos fisiológicos e farmacológicos do GLP-1 em cães e gatos. Para encontrar os estudos que avaliaram a ação de medicamentos à base de GLP-1 em cães e gatos, foram utilizadas as plataformas PubMed/NCBI, Scopus, Web of Science e Google Scholar para busca pelos termos "dog and GLP-1", "canine and GLP-1", "cat and GLP-1" "feline and GLP-1", "pet and GLP-1" além de seus plurais. Realizamos as mesmas pesquisas novamente, mas substituindo o termo "GLP-1" com "glucagon like peptide-1" e depois com o termo "incretin". Essas buscas foram realizadas entre maio e junho de 2021, não foram impostas restrições quanto à data de publicação. Apenas artigos em inglês foram encontrados e considerados. Quatro pessoas realizaram buscas de forma independente. Em seguida, todos os artigos foram reunidos (desconsiderando repetições) e dois indivíduos avaliaram de forma independente quais deveriam ser incluídos. Como o critério de inclusão foi qualquer artigo que abordasse o tema proposto, não houve discrepâncias nos resultados obtidos pelos revisores. Dos 30 artigos encontrados, todos que abordavam esses temas foram incluídos, com exceção de um (Padrutt *et al.*, 2015). Este estudo foi excluído porque os autores não realizaram análise estatística dos dados.

3.2. Estudo experimental

3.2.1. Análise de transcriptomas disponíveis na literatura

Para examinar os efeitos do GLP-1 e da deficiência de estrógenos no transcriptoma de tecidos importantes na regulação do metabolismo energético, usamos dados de *RNA-Seq* de dois estudos publicados: Gudmundsdottir *et al.*, 2018 e Kurt *et al.*, 2018. Esses dados podem ser encontrados no banco de dados *ArrayExpress* com número de acesso E-MTAB-6015 e no banco de dados NCBI

Gene Expression Omnibus (GEO) com número de acesso GSE112947. Obtivemos dados de camundongos fêmeas como segue: TAB gonadal de camundongas fêmeas tratadas com um GLP-1RA (0,6 mg/kg/d), por 14 dias e controles que não receberam tratamento (Gudmundsdottir *et al.*, 2018) e TAB gonadal de camundongos fêmeas OVR (10 semanas após a cirurgia) e seus controles *sham* (Kurt *et al.*, 2018). As sequências baixadas foram mapeadas para um genoma de referência (*Mus musculus* GRCm39 – https://ftp.ensembl.org/pub/release-110/fasta/mus_musculus/dna/Mus_musculus.GRCm39.dna.toplevel.fa.gz) usando o software HISAT2 (Kim *et al.*, 2019). Após a montagem, os níveis de expressão gênica foram quantificados usando software StringTie (Pertea *et al.*, 2015). O pacote R DESeq2 foi utilizado para identificar os DEGs; os genes foram considerados diferencialmente expressos quando $p < 0,05$ (limiar de alteração de 1) (Love; Huber; Anders, 2014). A plataforma *Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery* (DAVID) (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) foi utilizada para realizar análises de enriquecimento funcional (GO) e para determinar as vias KEGG significativamente associada aos DEGs (Huang; Sherman; Lempicki, 2009; Sherman *et al.*, 2022).

3.2.2. Animais

Para os demais experimentos foram utilizadas ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), com 60 dias de idade, provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Os animais foram separados em dois grupos experimentais: *sham* e castradas. Os animais foram mantidos na Unidade de Experimentação Animal (UEA) do hospital de Clínicas de Porto Alegre, em caixas, com assoalho recoberto por maravalha de pinus e densidade máxima de 3-4 animais por caixa. O alojamento era específico para a espécie, com temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade (40-60%) controladas, sistema de exaustão do ar e ciclo de claro:escuro de 12:12 horas. O fornecimento de ração (padrão para a espécie) e água (autoclavada) foi *ad libitum*. A frequência de troca das caixas seguiu a rotina da UEA. Todos os pesquisadores

envolvidos no manuseio dos animais possuem treinamento para este fim. Também estão treinados para identificar o desconforto/ sofrimento de animais de laboratório pelas características físicas e comportamentais e visam garantir principalmente o bem-estar animal. As instalações utilizadas estão em conformidade com a Lei Arouca nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 e apresentam credenciamento e acompanhamento do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O cálculo do tamanho amostral foi efetuado utilizando-se o software G*Power 3.1.9.2 (Schleswig-Holstein, Alemanha). No cálculo do tamanho da amostra foram considerados probabilidade de erro $\alpha = 0,05$, poder do teste estatístico = 0,80. Também foram usados como base para cálculo os resultados de protocolos experimentais de nosso laboratório. O cálculo amostral estimou um “n” total igual a 40 animais, (10 animais por grupo x 4 grupos). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (número 38478) (anexo I) e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (projeto 2022/0015) (anexo II).

Após a chegada na UEA, os animais foram colocados em quarentena por 15 dias e então foram realizados os procedimentos cirúrgicos. A ovariectomia seguiu o protocolo da UEA adaptado segundo a técnica descrita por Idris, (2012)(Idris, 2012). Os animais foram pré-medicados com morfina (2-3 mg/kg) e cetamina (10 mg/kg) por via IP. Após 15 minutos, foram induzidos (4-5%) e mantidos (1-2%) com isoflurano diluído em O₂ fornecidos por meio de máscara facial/cone nasal. Após a anestesia os animais foram mantidos em incubadora para oxigenação e aquecimento. A analgesia pós-operatória foi realizada com meloxicam (1mg/kg) SC a cada 24 h por 2 dias e tramadol (20 mg/kg) IP a cada 12 h por 3-5 dias. Os animais dos grupos *sham* também passaram pelo processo cirúrgico e acompanhamento, exceto a remoção dos ovários. Segundo a diretiva europeia 86/609/EEC, que classifica os graus de severidade dos procedimentos laboratoriais com animais, este procedimento é caracterizado como moderado, pois os animais passarão por algum grau de dor, que será amenizado pela medicação anestésica/ analgésica, mas não terão prejuízo no bem-estar.

Para evitar possíveis interferências do processo cirúrgico/pós-operatório nas análises, as ratas permaneceram mais 20 dias na UEA até sua eutanásia. As ratas

que passaram pelo procedimento *sham* foram eutanasiadas durante o diestro. Esta fase do ciclo foi escolhida pois apresenta baixas concentrações de E2 (Au *et al.*, 2016). Assim, qualquer alteração observada não deve ser devida a ação momentânea dos estrógenos, uma vez que elas estão preservadas na fase do ciclo reprodutivo em que as concentrações destes hormônios estão reduzidas. Além disto, o diestro é a fase mais longa do ciclo, o que facilita a organização da realização dos procedimentos experimentais (Ajayi; Akhigbe, 2020).

Os animais foram mortos por decapitação em guilhotina para roedores, sem anestesia, para obtenção do sangue total e dos tecidos que serão analisados. O método escolhido para eutanásia baseia-se no fato deste ser um método eficaz que produz alterações fisiológicas mínimas nos tecidos. Considerando a necessidade de obtenção de sangue periférico e realização de análises celulares e bioquímicas, nenhum anestésico ou outra substância será injetado nos animais por ocasião da decapitação. A morte dos animais sob anestesia, apesar de desejável, é incompatível com nossos protocolos, pois extensa literatura demonstra que anestésicos de diversas classes (flumazenil/fentanil, midazolam, cetamina, xilazina, isoflurano, sevoflurano, pentobarbital e propofol) (levam a alterações de parâmetros metabólicos como a glicemia e a lactatemia, do metabolismo da glicose em diferentes tecidos e da liberação do GLP-1 em roedores, mesmo que as amostras sejam colhidas muito rapidamente (minutos) após a administração do anestésico (Brown *et al.*, 2005; Du *et al.*, 2019; Kitamura *et al.*, 2009; SAHA *et al.*, 2005; Windeløv; Pedersen; Holst, 2016; Wu *et al.*, 2020). Como toda investigação deste projeto está baseada em avaliações endócrino metabólicas, este tipo de viés no estudo comprometeria completamente a confiabilidade dos dados obtidos. Este procedimento de eutanásia vem sendo recorrentemente utilizado por nosso grupo de pesquisa pois é aceito pela Comissão de Ética em Uso de Animais da UFRGS, por diferentes revistas da área (Model *et al.*, 2021a, 2021b) e está de acordo com a diretriz da prática de eutanásia do CONCEA - Resolução Normativa nº 37 de 27/01/18 (tópico 8.14.9. “decapitação”). Após a eutanásia, foram coletados e pesados o TAB (subcutâneo e perirrenal), TAM, fígado e útero. O grau de severidade para a eutanásia é sem recuperação.

3.2.3. *Estudo piloto*

Para determinar o tempo e a dose ideais de incubação foi realizado um estudo piloto. As técnicas de oxidação e captação de diferentes substratos estão estabelecidas no nosso grupo de pesquisa, e normalmente são realizadas com 1 hora de incubação (Model *et al.*, 2021a; Vogt *et al.*, 2023). Para este estudo foram testadas incubações de 1 e 2 horas. As doses testadas foram baseadas em estudos encontrados na literatura com protocolos semelhantes ao realizado neste trabalho (Ban *et al.*, 2010). Foram testadas as doses de 0,1 μM , 1 μM e 10 μM . Neste estudo piloto foram avaliados a oxidação de glicose, oxidação de palmitato e captação de glicose.

3.2.4. *Incubação*

As amostras coletadas de tecido foram colocadas em tubos contendo solução fisiológica (Krebs-Ringer Bicarbonato, pH 7,4 – KBS) e transportadas refrigeradas até o laboratório de metabolismo e endocrinologia comparada (LaMEC) – UFRGS. Lá elas foram pesadas, fatiadas em formato cubóide (aproximadamente 3mm^3) e colocadas em um tubo contendo 1000 μl de KBS contendo 1% de albumina sérica bovina, 5 mM de glicose, 10 μM de liraglutida (um GLP-1RA, apenas nos grupos tratados) (Victoza®) e dependendo do parâmetro a ser avaliado, foi adicionado algum substrato radioativo. Imediatamente antes da incubação os frascos foram aerados com carbogênio (95% O_2 :5% CO_2) (Ban *et al.*, 2010).

3.2.5. *Captação de glicose*

Para a avaliação da captação de glicose, as amostras foram incubadas em KRB com 0,1 μCi de 2-deoxi-D-[1- ^{14}C]-glicose (55mCi/mmol -Amersham International) por 1 hora à temperatura de 37°C. Os tecidos foram separados para hidrólise e contagem da quantidade de glicose captada pelo tecido (Tecido). O meio de incubação foi reservado para verificação da quantidade de glicose não captada

(Meio). A medida da radioatividade foi feita após adição de líquido de cintilação [Tolueno - Triton X100 (2:1) – PPO (0,4%) e POPOP (0,01%)] em contador LKB-Wallac e os resultados expressos pela razão Tecido/Meio (Machado; Wassermann; Marques, 1991).

3.2.6. Lipólise

Para avaliação da lipólise basal e estimulada, as amostras de tecido foram incubadas por 60 minutos a 37°C em KRB contendo solução de adrenalina e ácido ascórbico ($2,5 \times 10^{-4}M$). Após a incubação, o meio de incubação foi coletado e guardado em tubos tipo eppendorf para posterior dosagem de glicerol. O ensaio de lipólise basal foi efetuado da mesma forma, porém a incubação foi realizada na ausência de adrenalina (Cozer *et al.*, 2016). A concentração de glicerol liberada no meio de incubação foi determinada enzimaticamente utilizando kit comercial (R-Biopharm®, Darmstadt, Alemanha). Os valores foram expressos em mg de glicerol. g de tecido⁻¹.

3.2.7. Oxidação de substratos

Para a conversão de glicose em CO₂ os tecidos coletados foram colocados em frascos com tampa de borracha contendo 1 mL de KRB acrescido de 0,10 µCi de [U-¹⁴C]-glicose (55 mCi/mmol GE-Healthcare). Foram acopladas tampas de borracha a vidros em formato de “J” com um poço onde foi colocado papel 3MM para a captação do ¹⁴CO₂ resultante da oxidação da ¹⁴C-glicose. Os tecidos foram incubados durante 60 minutos, a 37°C sob agitação constante em banho metabólico. A reação de oxidação foi interrompida injetando-se TCA 50% no meio de incubação e nos poços foi injetado NaOH 2M para a captação do ¹⁴CO₂ formado. Após 24 horas, os papeis 3MM foram retirados e colocados em frascos de contagem com 2mL do líquido de cintilação e levados a um contador LKB-Wallac, para determinar a formação do ¹⁴CO₂. Para a conversão de palmitato a ¹⁴CO₂ as amostras foram incubadas nas mesmas condições, porém o substrato ¹⁴C-glicose foi substituído por ¹⁴C-palmitato (Cozer *et al.*, 2016; Torres *et al.*, 2001).

3.2.8. Síntese de lipídeos

As mesmas amostras utilizadas para síntese de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de ^{14}C -glicose foram utilizadas para avaliar a conversão de glicose em lipídios. Estas amostras foram lavadas em solução fisiológica e então homogeneizadas em solução de clorofórmio- metanol (2:1) e deixadas overnight em geladeira. No dia seguinte os lipídeos foram extraídos segundo a técnica de Folch *et al.*, (1957) e a esses lipídeos acrescenta-se líquido de cintilação para a contagem da radioatividade incorporada no contador LKB-Wallac (Bueno; Azzolin; Perry, 1994; Cozer *et al.*, 2016; Folch; Lees; Sloane Stanley, 1957).

3.2.9. Análise da expressão gênica por RT-qPCR

Para a realização de PCR real-time as amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido após a incubação e mantidas a -80°C até a extração do RNA. As amostras congeladas de scTAB e fígado foram homogeneizadas em TriReagent® (Sigma). O RNA foi extraído pelo método clorofórmio-isopropanol e 1 μg foi transcrito reversamente usando o GoScript Reverse Transcription System® (Promega) em um volume total de 20 μl . *Primers* para genes específicos foram misturados com GoTaq® qPCR e RT-qPCR Systems (Promega) até uma concentração final de 0, 2 μM . As condições de ciclagem térmica foram 2 min a 95°C , 10 s a 95°C , 1 min a 60°C , 10 s a 95°C , 1 min a 60°C , 15 s a 95°C (40 ciclos) seguidos por análise de *melting curve* em um sistema StepOne Real-Time qPCR (Applied Biosystems), de acordo com o protocolo do fabricante. O método $\Delta\Delta\text{Ct}$ ($2^{-\Delta\text{Ct}}$) foi usado para calcular mudanças relativas na abundância de mRNA (Livak; Schmittgen, 2001). Os genes de interesse analisados foram o Ppara e o Ppar γ , o gene de referência utilizado foi a β -Actina. As sequências dos *primers* foram: Ppara *forward* 5'-3' TGAACAAAGACGGGATG, *reverse* 5'-3' TCAAACCTTGGGTCCATGAT; Ppar γ PrimePCR™ Assays BIORAD; β -Actina *forward* 5' -3 ' ATTGCTGACAGGATGCAGAA, *reverse* 5' -3 ' TAGAGCCACCAATCCACACAG.

3.2.10. *Análise estatística*

A normalidade e homogeneidade dos dados foram analisadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Os dados que apresentaram distribuição normal foram analisados por meio de ANOVA two-way, para verificar diferenças no tratamento e na cirurgia, complementado pelo pós-teste de Tukey para verificar diferenças entre os grupos. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis complementado pelo pós-teste de Dunn, para verificar diferenças no tratamento e cirurgia, e testes de Mann-Whitney, para verificar diferenças entre os grupos. As diferenças entre a lipólise basal e a estimulada por adrenalina em cada grupo foram analisadas com teste t pareado ou testes de Wilcoxon. Os resultados foram considerados estatisticamente diferentes quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas com o software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) (versão 25.0) compatível com Windows 10.

4. RESULTADOS

4.1. Revisão narrativa

Título: *Physiological and pharmacological actions of glucagon like peptide-1 (GLP-1) in domestic animals*

Periódico: *Veterinary and Animal Science*

ISSN: 2451-943X

Qualis: A4

Fator de Impacto: 1,5

Status: Publicado em 2022.

Acesso:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2451943X22000163?via%3Dihub>

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Veterinary and Animal Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vas

Physiological and pharmacological actions of glucagon like peptide-1 (GLP-1) in domestic animals

Jorge F A Model^{*}, Débora S Rocha, Alessa da C Fagundes, Anapaula S Vinagre

Department of Physiology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

GLP-1
Cats
Dogs
Diabetes mellitus
Obesity
Incretin

ABSTRACT

Analogues of glucagon like peptide-1 (GLP-1) and other drugs that increase this peptide half-life are used worldwide in human medicine to treat type 2 diabetes mellitus (DM) and obesity. These molecules can increase insulin release and satiety, interesting effects that could also be useful in the treatment of domestic animals pathologies, however their use in veterinary medicine are still limited. Considering the increasing incidence of DM and obesity in cats and dogs, the aim of this review is to summarize the available information about the physiological and pharmacological actions of GLP-1 in domestic animals and discuss about its potential applications in veterinary medicine. In diabetic dogs, the use of drugs based on GLP-1 actions reduced blood glucose and increased glucose uptake, while in diabetic cats they reduced glycemic variability and exogenous insulin administration. Thus, available evidence indicates that GLP-1 based drugs could become alternatives to DM treatment in domestic animals. Nevertheless, current data do not provide enough elements to recommend these drugs widespread clinical use.

1. Introduction

Glucagon like peptide-1 (GLP-1) is a peptide hormone synthesized by intestinal "L" cells, which are located mainly in the most distal intestinal regions, such as the ileum and colon. This peptide is also produced in the central nervous system (CNS), more specifically in solitary tract nucleus, and in pancreatic α cells (Chambers et al., 2017; Müller et al., 2019). The mechanisms that trigger GLP-1 release is quite like that of insulin Fig. 1. Increase in intracellular glucose leads to higher ATP synthesis, which in turn interacts with ATP-sensitive K^+ channels (K_{ATP}), closing them. This leads to cell depolarization and the opening of voltage dependent calcium channels (VDCC), increasing this cation concentration in the cells. Finally, Ca^{++} interacts with vesicles containing GLP-1 (or insulin in β cells) and promotes its exocytosis (Reimann & Gribble, 2002; Rowlands, Heng, Newsholme & Carlessi, 2018; Tolhurst, Reimann & Gribble, 2009).

After its release by L cells, GLP-1 enters the portal circulation and reach the pancreatic islets, where it exerts the so-called incretin effect (Baggio & Drucker, 2007; Nauck & Meier, 2018). The incretin effect is described as a higher insulin release resulting from oral than intravenous

glucose administration, despite similar blood glucose levels. (Baggio & Drucker, 2007; Nauck & Meier, 2018). GLP1 has an extremely short half-life due to rapid degradation by dipeptidylpeptidase 4 (DPP4), also known as CD26, a serine peptidase produced in the vascular endothelium (Deacon, 2018; Nauck & Meier, 2005). Recent data indicates that GLP-1 originated in α cells also has a central role in the stimulation of insulin release by β cells, in an intra-islet paracrine action (Chambers et al., 2017; Smith et al., 2014).

Regardless of its origin, islet α cells or enteroendocrine L cells, when GLP1 reaches the β cells and binds to its receptor (GLP-1R), a series of events that culminate in insulin release amplification are triggered (Fig. 2) (Müller et al., 2019). When GLP-1R, a G protein-coupled receptor, is activated, adenylate cyclase is activated resulting in ATP conversion to cAMP (Meloni, DeYoung, Lowe & Parkes, 2013). To stimulate the insulin release, this second messenger activates mainly two pathways: protein kinase A (PKA) and the exchange protein directly activated by cAMP (Epac) (Kang, Leech, Chepurny, Coetzee & Holz, 2008; Skelin & Rupnik, 2011). PKA phosphorylates the K_{ATP} channels, sensitizing them to ATP and facilitating their closure, thus promoting cell depolarization and opening the VDCC, leading to an increase in

^{*} Corresponding author at: Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Departamento de Fisiologia, Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia Comparada (LaMEC), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), Rua Sarmento Leite, 500, Porto Alegre, RS, CEP 90050-170, Brazil

E-mail address: jorgefamodel@gmail.com (J.F.A. Model).

<https://doi.org/10.1016/j.vas.2022.100245>

Received 3 December 2021; Received in revised form 25 February 2022; Accepted 14 March 2022

Available online 23 March 2022

2451-943X/© 2022 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

intracellular Ca^{++} (Bünemann, Gerhardstein, Gao & Hosey, 1999; MacDonald et al., 2003; Rowlands et al., 2018). PKA also inhibits voltage-dependent K^+ channels, delaying repolarization of β cells (MacDonald et al., 2003). In addition to this rapid stimulation of insulin release, PKA also interacts with pancreatic and duodenal homeobox 1 (Pdx-1), leading to stimulation of the proinsulin gene transcription, which increases the stability of its mRNA, thus promoting insulin synthesis (D. J. Drucker, Philippe, Mojsov, Chick & Habener, 1987; Müller et al., 2019; Wang et al., 1995). Epac also acts sensitizing the K_{ATP} channels, but its main function is to facilitate the opening of ryanodine receptor calcium release channels (RyR) on the endoplasmic reticulum, amplifying the intracellular Ca^{++} increase (Holz, 2004; Kang et al., 2008). It is important to note that the actions of PKA and Epac potentiates and enhances β cells response to the increase in circulating glucose, but without concomitant increase in intracellular ATP, therefore, GLP-1 signal is a weak insulin release promoter (Müller et al., 2019).

Besides its acute effects, GLP-1 also has long-term effects on β cells, that are mainly related to apoptosis inhibition and cellular multiplication (J. Buteau et al., 2004; Jean Buteau, Foisy, Joly & Prentki, 2003; Kapodistria, Tsilibary, Kotsopoulou, Moustardas & Kitsiou, 2018; Shimoda et al., 2011; Tsunekawa et al., 2007). However, studies with

diabetic human patients have not shown an increase in β cells proliferation (Smits et al., 2017). Pancreatic islets α and δ cells also express GLP-1R, therefore GLP-1 binding can also inhibit glucagon and stimulate somatostatin release (de Heer, Rasmussen, Coy & Holst, 2008; Ørskov, Holst & Nielsen, 1988; Richards et al., 2014).

Much of the interest in GLP-1 is due to its action on pancreatic islets, however, it was described in rodents and humans that several other tissues express GLP-1R (Müller et al., 2019; Rowlands et al., 2018). GLP-1R has already been identified in the stomach, skeletal muscle, smooth muscle, atrial cardiac muscle, kidneys, lungs, adipose tissue and in several areas of the central nervous system (CNS) (Bullock, Heller & Habener, 1996; Challa et al., 2012; Delgado et al., 1995; Richards et al., 2014). Some authors have already reported the presence of GLP-1R in the liver, however the most recent results indicate that these findings are mainly due to findings with non-specific antibodies, and that hepatocytes of mice, humans and monkeys (*Macaca mulatta* and *Macaca fascicularis*) do not express GLP-1R (Drucker, 2018; Knudsen & Lau, 2019; Pyke et al., 2014). To our best knowledge, GLP-1R presence in dogs and cats' liver was not evaluated yet.

GLP-1 has several important extra pancreatic functions, and most of them depend on actions in the CNS. It increases satiety and thermogenesis, inhibits blood pressure rising, gastric emptying and water

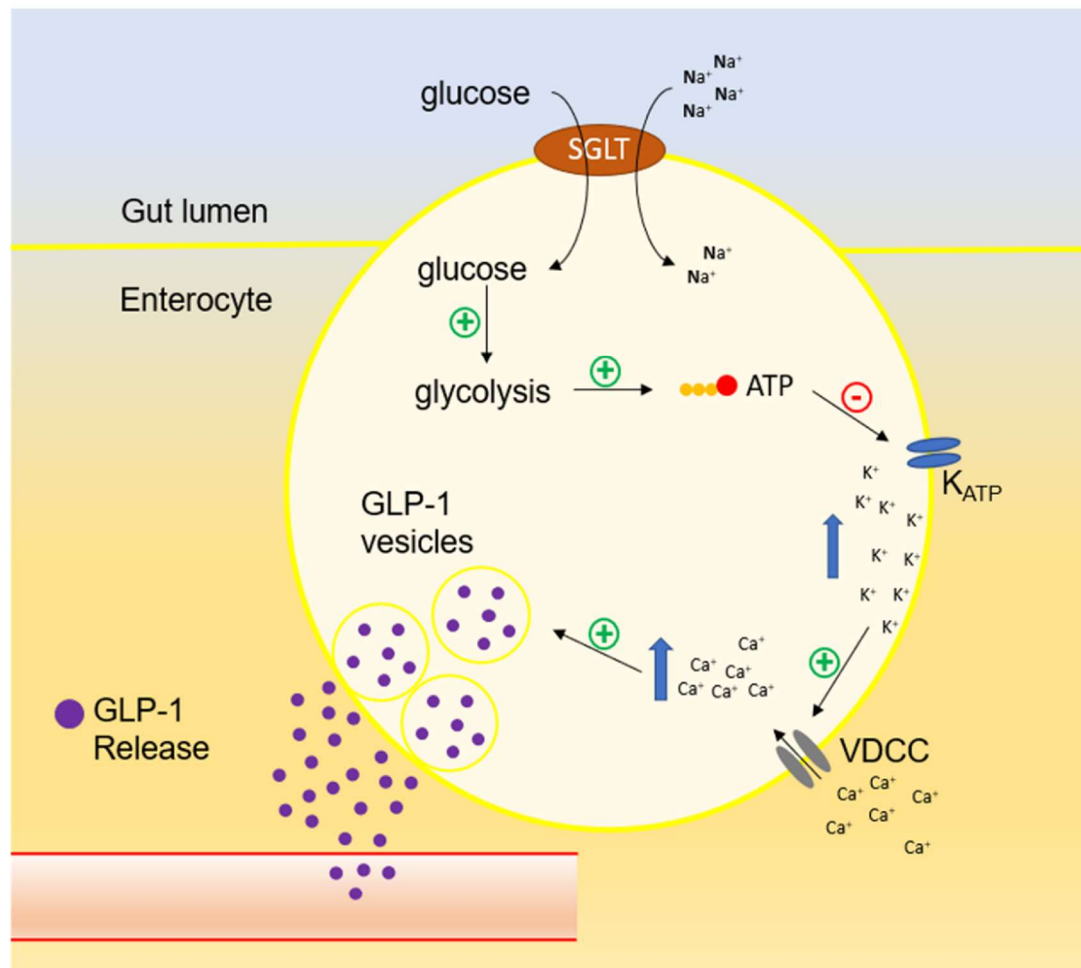


Fig. 1. Schematic illustration of GLP-1 release after glucose uptake in enteroendocrine L cells. SGLT: sodium-glucose linked transporter. K_{ATP} : ATP-sensitive K^+ channels. VDCC: voltage dependent calcium channels.

intake, is involved in the reward pathway and in the hypothalamic adrenal pituitary (HPA) axis (Beiroa et al., 2014; Hayes, Skibicka & Grill, 2008; Herman, 2018; Imeryüz et al., 1997; Kooijman et al., 2015; Krieger et al., 2016; Pacheco et al., 2011; Rüttimann, Arnold, Hill-ebbrand, Geary & Langhans, 2009; Sirohi, Schurdak, Seeley, Benoit & Davis, 2016; Tang-Christensen et al., 1996; Wettergren, Wojdemann, Meisner, Stadil & Holst, 1997). GLP-1 also acts on the cardiovascular system, either directly binding to GLP-1R in cardiomyocytes and vascular smooth muscle cells, and indirectly, by its CNS actions (Baggio et al., 2017; Ban et al., 2008). Considering the increasing incidence of diabetes mellitus (DM) and obesity in cats and dogs, the aim of this review is to summarize the available information about the physiological and pharmacological actions of GLP-1 in domestic animals and discuss about its potential applications in veterinary medicine.

2. Material and methods

To find the studies that evaluated the action of drugs based on GLP-1 in dogs and cats, we used the platforms PubMed/NCBI, Scopus, Web of Science and Google Scholar to search for the terms "dog and GLP-1", "canine and GLP-1", "cat and GLP-1" "feline and GLP-1", "pet and GLP-1" in addition to their plurals. We performed the same searches again but replacing the term "GLP-1" with "glucagon like peptide-1" and then with the term "incretin". These searches were carried out between May and June 2021, no restrictions on publication date were imposed. Only papers in English were found and considered. All authors performed searches independently. Afterwards, all papers were gathered (disregarding replicates) and two individuals independently evaluated which ones should be included. As the inclusion criterion was any article that addressed the proposed topic, there were no discrepancies in the results obtained by the reviewers. From 30 papers found, all that addressed these topics were included in the discussion below, with the

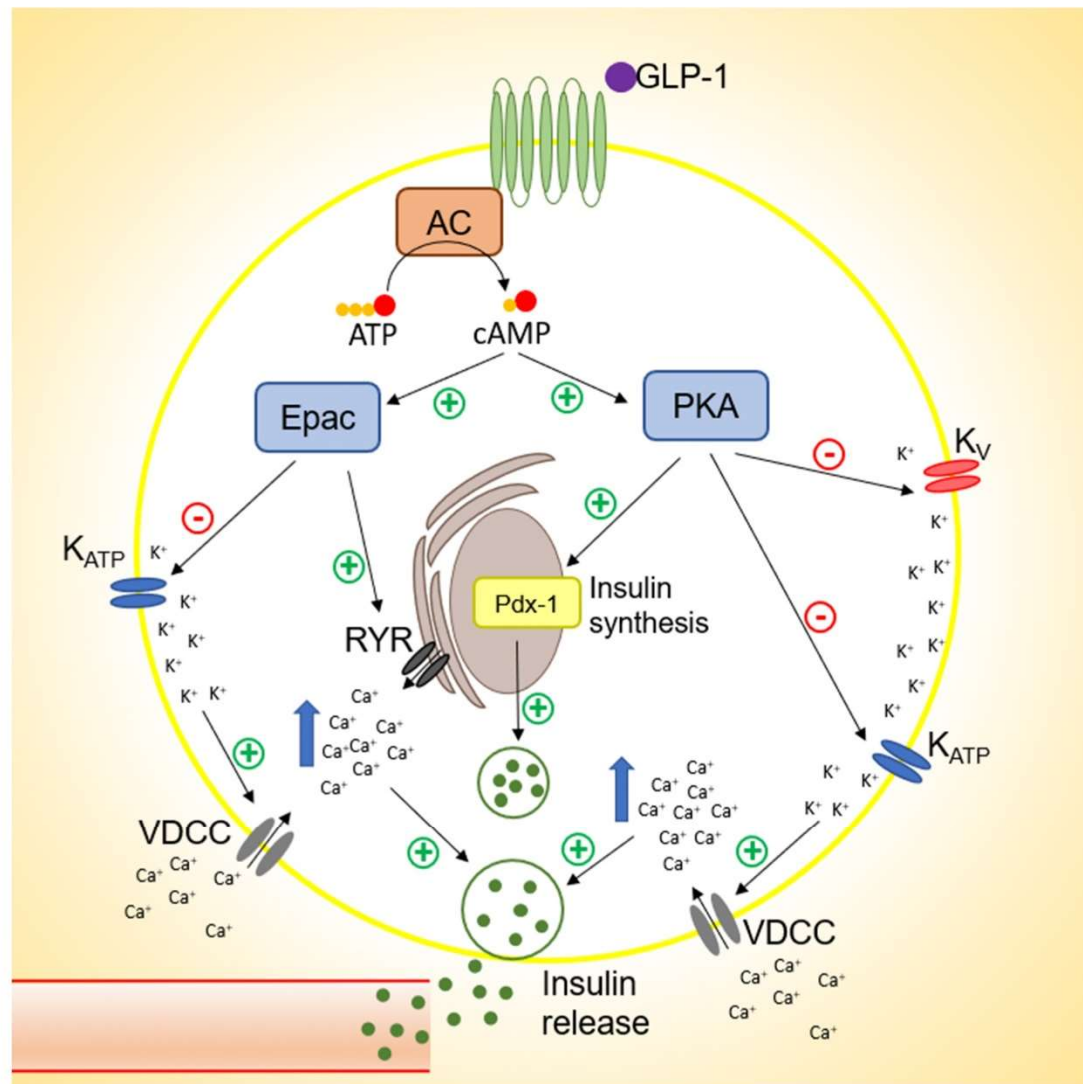


Fig. 2. Schematic illustration of the intracellular signaling cascade by which GLP-1 stimulates insulin release in β cells. AC: adenylate cyclase. Epac: exchange protein directly activated by cAMP. PKA: protein kinase A. K_{ATP} : ATP-sensitive K^+ channels. VDCC: voltage dependent calcium channels. K_V : voltage-dependent K^+ channels. PDX-1: pancreatic and duodenal homeobox 1. RYR: ryanodine receptor calcium release channels.

exception of one (Padrutt, Lutz, Reusch & Zini, 2015). This study was excluded because the authors did not perform a statistical analysis of the data.

3. Physiological actions of GLP-1 in dogs and cats

Most of the studies cited so far, which allow us to understand GLP-1 physiological importance and its pharmacological potential, have been carried out using rats, mice, human volunteers and cell lines of these three species. However, some studies with dogs and cats demonstrate GLP-1 species-specific characteristics. In dogs, GLP-1 is also synthesized and released by intestinal L cells, especially in the jejunum (Damholt, Kofod & Buchan, 1999). However, the classic form of GLP-1 release, shown in Fig. 1, does not seem to occur in dogs, with at least part of GLP-1 release being stimulated by GIPs (from K cells) paracrine action (Damholt et al., 1999; Damholt, Buchan & Kofod, 1998; Sugiyama et al., 1994). Also, while glucose is the main inducer of GLP-1 release in humans and rodents, in dogs high fat diets stimulate GLP-1 release, while carbohydrate-rich diets do not have the same effect (Fig. 3) (Lubbs et al., 2010; Schauf et al., 2018; Van Citters et al., 2002).

As well as in other species, GLP-1 stimulates insulin release in dogs (Ohneda et al., 1991). GLP-1 administration directly into the pancreatic artery stimulates insulin and inhibits glucagon release in dogs, however, when GLP-1 is administered in venous circulation, it had no effect on pancreatic hormones. (Elahi et al., 2014; Ionut et al., 2006; V. Ionut, Huckling, Liberty & Bergman, 2005; Johnson et al., 2007, 2008; Ohneda et al., 1991). The administration of DPP4 inhibitors in dogs leads to an increase in GLP-1, but it does not alter insulinemia. (Deacon, Wamberg, Bie, Hughes & Holst, 2002; Edgerton et al., 2009). Even in experiments without changes in pancreatic hormones, GLP-1 is able to stimulate glucose uptake and hepatic glycogen synthesis (Dardevet et al., 2005; Elahi et al., 2014; Johnson et al., 2007, 2008). In animals with diabetes mellitus (DM), GLP-1 does not alter blood glucose, and in pancreatectomized dogs it has no effects when administered alone, but improves glucose utilization and the antilipolytic action promoted by exogenous

insulin. (Freyse et al., 1999; Sandhu et al., 1999). These findings suggest that GLP-1 may have an indirect action on peripheral tissues, increasing insulin sensitivity.

The incretin effect is also observed in cats (Gilor et al., 2011b; Nishii et al., 2014). Different GLP-1R agonists increase plasma insulin concentration in cats as well as in rodents and humans (Gilor et al., 2011a; Hall et al., 2015; Rudinsky et al., 2015). There are evidences that GLP-1 degradation by DPP4 in cats is also similar to other species (Mori et al., 2016; Nishii et al., 2014). As in dogs, glucose also does not seem to be the main stimulus for the release of GLP-1 in cats. After amino acids rich meals, there is a higher increase in plasmatic GLP-1 than after meals rich in carbohydrates or lipids, with no difference between the last two. The diets used in these studies were caloric and volume equivalent (Gilor et al., 2011b; McCool, Rudinsky, Parker, Herbert & Gilor, 2018). The number of meals can also affect plasma GLP-1 concentration, with cats that received 1 meal per day having higher values than those that received 4 meals (Camara et al., 2020). However, dietary caloric changes over 16 weeks were not able to alter the plasmatic GLP-1 (McCool et al., 2018).

4. GLP-1 pharmacology

The known physiological actions of GLP-1 indicate a great potential for its pharmacological use in obesity and DM treatment. However, some factors turn its use unfeasible. The main issues about GLP-1 use as a treatment are its short half-life (around 1 – 2 min) and the fact that its administration in high doses causes gastrointestinal complications such as nausea, vomiting and diarrhea (Baggio & Drucker, 2002; Nauck & Meier, 2005). To overcome these limitations, two general types of drugs that use the incretin mechanism of action have been developed, the synthetic GLP1 agonists (GLP-1As) and the DPP4 inhibitors (DPP4-is) (Nauck & Meier, 2005). Although these drugs have been developed for use in humans, both types have already been tested in dogs and cats (Gilor, Rudinsky & Hall, 2016; Ionut et al., 2016; Kim et al., 2016). One of the main advantages of using DPP4-is or GLP-1As is that they have

Main events of the incretin effect in humans, rodents, dogs and cats

Events sequence	Human	Rat and mouse	Dog	Cat
1) Meal ingestion	Carbohydrate	Carbohydrate	Amino acids or lipids	Amino acids
2) GLP1 release	Intestinal L cells	Intestinal L cells and pancreatic α cells	Intestinal L cells	Intestinal L cells
3) Pancreatic islets release	↑ Insulin ↓ Glucagon	↑ Insulin ↓ Glucagon	↑ Insulin ↓ Glucagon	↑ Insulin ↓ Glucagon
4) Main effect on insulin	↑ Release	↑ Release	↑ Sensitivity	↑ Release
5) Blood Glucose	↓	↓	↓	↓

Fig. 3. Comparative summary of the origin and main outcomes of the incretin effect in humans, rodents, dogs, and cats.

few side effects, being highly safe (Aziz et al., 2020; Scheen, 2018).

4.1. GLP-1 pharmacology in cats

The similarity between human type 2 DM and feline DM pathogenesis makes natural that drugs successfully used in humans treatment be evaluated for their use in cats (Gilor, Niessen, Furrow & DiBartola, 2016). Although the same reasoning is valid for drugs used to treat obesity in humans, there are very few studies evaluating drugs based on GLP-1 in obese cats (Table 1).

Despite the similarities in the pathogenesis of obesity, the relationship between this disease and incretins in felines seems to be different from that observed in humans and rodents. In these species obesity leads to an increase in GIP and decrease in GLP-1 (Chia & Egan, 2020). Diabetic cats were shown to have lower insulin levels than healthy and obese animals, but both GIP and GLP-1 were increased (McMillan, Zapata, Chelikani, Snead & Cosford, 2016). Unlike in humans, there was no difference in GIP and GLP-1 between healthy and obese felines. Even insulin was not altered between obese and healthy cats, something that has already been reported in other studies. (Appleton, Rand & Sunvold, 2001; Hoenig et al., 2013; McMillan et al., 2016). We found no studies evaluating treatment of obese cats with DPP4-is and just one in which GLP-1A was used for treatment in obese cats. In this study, the animals received the GLP-1A exenatide (0.5 – 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ BID) for 12 weeks, but the treatment did not result in differences in total weight, percentage of body fat, glycemia, leptin, adiponectin, glucagon and in glucose and

insulin tolerance tests (GTT and ITT) (Hoelmkjaer et al., 2016).

In addition to the lack of studies about DPP4-is in obese cats, we did not find any reports in diabetic felines, only healthy animals. A single application of the DPP4i NVP-DPP728 (0.5 – 2.5 mg.kg^{-1}) increased insulin and reduced glucagon release in a GTT. The authors attribute these results to the increase in GLP-1, although it was not directly measured (Furrer, Kaufmann, Tschuor, Reusch & Lutz, 2010). In another study with a DPP4i, sitagliptin (25 – 50 mg.kg^{-1}) was administered along with oral glucose or with standard food. GLP-1 increased in cats that received sitagliptin regardless of diet. On the other hand, blood glucose only increased in cats who received oral glucose. Insulinemia increased in animals that received standard food regardless of whether or not sitagliptin was administered, but those that received glucose only showed an increase in insulin concentrations when the DPP4i was also administered (Nishii et al., 2014).

Mori et al. (2016) evaluated sitagliptin administration (4.2 mg) alone, acarbose (disaccharide digestion inhibitor) alone, or both together in healthy cats. After two weeks of treatment, the cats were fed a maltose-rich meal. Blood glucose was not altered in any of the groups, insulin decreased in all treatments, GLP-1 increased in groups with sitagliptin (alone or with acarbose) while GIP decreased in these same groups. Regardless of the type of food or another drug concomitant administration, the DPP4i evaluated was able to increase GLP-1 in the studied animals. However, both glycemia and insulinemia did not show such a clear response to sitagliptin treatment, leading the authors themselves to raise doubts about this drug value in DM cats treatment

Table 1
GLP-1-based drug studies in cats.

Breed	Age (years)	sex	Castration	"n" per group	Condition	Drug	Brant / Manufacturer	Dosage	Treatment Duration	Complications	Ref
NI	8.0 ± 1.1	F/M	All	2 - 3	healthy	sitagliptin	Januvia/ Banyu Pharmaceutical	25 – 50 mg.kg^{-1}	acute	NO	(Nishii et al., 2014)
NI	1 to 4	F/M	All	5	healthy	sitagliptin	Januvia/ Merck & Co. Inc	4.2 mg^*	1 week	diarrhea	(Mori et al., 2016)
DSH	1.3 to 2	M	All	6	healthy	NVP-DPP728	NI/ Novartis Pharma	0.5 - 1 mg.kg^{-1}	acute	NO	(Furrer et al., 2010)
DSH, BSH, Burmilla and mixed breeds	above 3	F/M	All	6	obese	exenatide	Byetta/Eli Lilly	0.5 – 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	12 weeks	vomiting, diarrhea and hypoglycemia	(Hoelmkjaer et al., 2016)
NI	2 to 8	F/M	All	6	healthy	exenatide	Byetta/Eli Lilly	0.1 – 0.24 – 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	acute	NO	(Seyfert et al., 2012)
purpose-bred	4.5 (3.1 – 4.8)	F/M	All	9	healthy	exenatide	Byetta/Amylin Pharmaceuticals	1.04 ± 0.18 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	acute	NO	(Gilor et al., 2011a)
purpose-bred	3	M	All	6	healthy	exenatide ER	Bydureon/Amylin Pharmaceuticals	0.13 mg.kg^{-1}	21 days	NO	(Rudinsky et al., 2015)
purpose-bred	3	F/M	All	8	healthy	liraglutide	Victoza/ Novo Nordisk	0.112 ± 0.019 mg.kg^{-1}	8 days	vomiting, diarrhea and anorexia	(Hall et al., 2015)
DSH	1 to 4	M	NI	6	healthy	exenatide monthly	synthesized by the research group	1.2 – 4.6 μmol	10 weeks	vomiting and diarrhea	(Schneider et al., 2020)
DSH, DLH**	9.4 ± 3.7	F/M	14	15	DM	exenatide ER	Bydureon/ Amylin Pharmaceuticals	200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	16 weeks	vomiting and diarrhea	(Riederer et al., 2016)
DSH, DMH and Siamese cross	12 (6 – 15)	F/M	All	8	DM	exenatide	Byetta/Eli Lilly	1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	6 weeks	anorexia and hypoglycemia	(Scuderi et al., 2018)
DSH, DLH, Maine Coons, NFC, Exotic	9.3 (4.3 – 14)	F/M	14	15	DM	exenatide ER	Bydureon/ Amylin Pharmaceuticals	200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	16 weeks	NI	(Krämer et al., 2020)

NO: not observed. NI not informed. DM: diabetes mellitus. DSH: Domestic shorthair. BSH: British shorthair. DLH: Domestic longhair. DMH: Domestic mediumhair. NFC: Norwegian forest cat. ER: extended release.

* the authors reported only the total administered.

** 4 cats were identified as "purebred" by the authors.

(Nishii et al., 2014).

GLP-1As have already been studied in both healthy and DM felines. In healthy individuals, GLP-1A has been evaluated for its short and long-term effects. In DM cats it was tested only together with insulin therapy. Exenatide acute actions were evaluated in two different studies with similar doses ($1.04 \pm 0.18 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $0.1 / 0.24 / 1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), using isoglycemic and hyperglycemic clamps, respectively. In both, the treatment increased insulin secretion, but the glucose infusion required to maintain the blood glucose was not altered (Gilor et al., 2011a; Seyfert, Brunner, Maxwell, Payton & McFarlane, 2012).

Longer-term treatments were performed with GLP-1As, daily liraglutide applications or with a single administration of extended release exenatide. In an 8-day treatment with daily applications of liraglutide (0.6 mg ($0.112 \pm 0.019 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)) two hyperglycemic clamps were evaluated, one performed before and the other after treatment. As occurred in the acute studies, the GLP-1A did not lead to differences in the infused glucose concentration needed to maintain glycemia, however insulin release increased while glucagon release decreased after the treatment. Another interesting result, but which should be evaluated with caution, was that the animals lost weight after 8 days receiving liraglutide. Although this is a promising result, it is necessary to emphasize that 8 of the 9 cats used in the study had at least one episode of vomiting or diarrhea, which may have influenced weight loss (Hall et al., 2015).

Different types of long acting exenatide have been tested for their efficacy and pharmacological characteristics in cats. Two hyperglycemic clamps, performed 7 days before and 21 days after the application of a single extended-release exenatide dose ($0.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), were compared. Initial blood glucose was lower after treatment, while initial insulin and glucagon concentrations did not change. Glucose administered to maintain hyperglycemia was higher after exenatide, while insulin release increased and glucagon release decreased (Rudinsky et al., 2015). A recently developed exenatide formulation that allows for monthly applications had similar pharmacological and pharmacodynamic characteristics to traditional exenatide ($1.2 - 4.6 \mu\text{mol}$) and was able to stimulate insulin release in an ivGTT, although it did not change glucose concentrations (Schneider et al., 2020).

In diabetic cats, no GLP-1A has been studied as a single treatment, but it has been tested with insulin therapy, presenting inconsistent results. Diabetic cats were treated with insulin glargine plus exenatide ($1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ BID) or saline for 6 weeks. There was no difference in blood glucose, hematological and biochemical parameters between treatments, however animals that received exenatide lost more weight than those who received saline and needed lower insulin doses to maintain blood glucose (Scuder et al., 2018). DM cats newly diagnosed were treated with insulin glargine alone or together with long-acting exenatide (weekly application of $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). After 16 weeks no significant difference was observed in plasma biochemistry (including glucose and glycated fructosamine) and in the insulin dose required to maintain blood glucose. The only difference observed was an increased weight of animals that received just insulin, while it did not occur in those treated with insulin and exenatide (Riederer et al., 2016). In a similar experiment Krämer et al. (2020) also compared newly diagnosed diabetic cats that received insulin glargine alone or with long-acting exenatide (weekly application of $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ for 16 weeks). Again, there were no differences in glycemia, however animals that received exenatide had less variability in this parameter and reached normoglycemia earlier, after 6 weeks, while the placebo group reached normoglycemia after 16 weeks. Because in all three studies glycemia was controlled by insulin treatment, it is not surprising that this parameter was not different between insulin and insulin plus exenatide groups. However, unlike what was observed with DPP4-is, the use of GLP-1As showed improvements in animal treatment by reducing the required insulin dose and glycemic variability. Even though a larger body of evidence is needed to reach conclusions about the effectiveness of GLP-1A treatments in cats, the results obtained so far demonstrate that these drugs may be used, at least

as adjuvants, in the DM treatment.

4.2. GLP-1 pharmacology in dogs

Regarding the modulation of endogenous GLP-1 and DM, no articles were found related to DPP4i use in diabetic dogs (Table 2). This absence is expected considering the expressive loss of pancreatic β cells in canine DM (Deacon et al., 2002; Edgerton et al., 2009; Ionut et al., 2006). However, considering that GLP-1 effects are not necessarily restricted to the pancreas, it could be evaluated in DM dogs (Edgerton et al., 2009; Ionut et al., 2006; Johnson et al., 2007). In healthy dogs, DPP4i administration showed contradictory results (Table 2). The DPP4i vildagliptin increased hepatic glucose uptake regardless of changes in circulating insulin or glucagon levels (Edgerton et al., 2009). Consistently, gemigliptin improved the oral GTT (oGTT) profile compared to control, increased GLP-1, and decreased glucagon after glucose load (Kim et al., 2016). However, sitagliptin did not improve the oGTT curve (Hitomi Oda et al., 2014). Although the three studies used equal drug doses ($1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and similar sample sizes (4 - 6), variations in results may be due to differences in dogs' breeds, sexes, and treatment duration.

Early studies with GLP-1 or its analogues in diabetic dogs also showed conflicting results. In depancreatized dogs, glucose utilization increased, while circulating free fatty acids and glycerol reduced when GLP-1 (7-36) amide ($1.5 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) was administered along with insulin Sandhu et al., (1999). In the same year, Freyre et al. (1999) performed a normoglycemic clamp in DM dogs with combined therapy of insulin and GLP-1(7-36) amide ($10 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$). The administration of GLP-1 did not change insulin, glucose, and glucagon infusions rate. There were also no differences in metabolic glucose clearance, alanine turnover, urea synthesis and glucose formation by gluconeogenesis using alanine as precursor. This investigation line was resumed only in 2013. In healthy and DM dogs, liraglutide treatment ($15 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) reduced the area under the curve in an oGTT. Also, in diabetic dogs the circulating glucose decreased by 66.5% with liraglutide compared to dogs treated with insulin alone, revealing its potential use in DM. The authors correlate the suppression of glucagon secretion with the observed effect (Oda et al., 2013).

Few studies with GLP-1, GLP-1A or DPP4i treatment have been conducted in DM dogs, but the outcomes in healthy animals point to a potential utilization of these drugs. Lixisenatide ($1.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), a GLP-1A, decreased glucose and insulin areas under the curves (Moore, Werner, Smith, Farmer & Cherrington, 2013). GLP-1 (7-36) amide intraportal infusion ($0.9, 5.1, 10, 20 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) increased glucose uptake (hepatic and peripheral) and the glucose infusion rate necessary to maintain blood glucose levels (Nishizawa et al., 2003). In hyperglycemic clamp, dogs treated with GLP-1 (32-36) amide cleavage-derived pentapeptide ($30 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) increased glucose uptake regardless of insulin and glucagon changes (Elahi et al., 2014). Taken together, these studies reinforce the hypothesis that unlike rodents and humans, in dogs, the main action of GLP-1 is to stimulate glucose uptake instead of insulin release, although this action still needs to be better understood, especially the molecular mechanisms involved. Initially, this may be a promising finding, after all, GLP-1 action would be less dependent on β cells, which are highly damaged in canine DM (Gilor et al., 2016). However, unlike what occurs in feline DM, insulin resistance in dogs is not a primary factor in DM development (Gilor et al., 2016). Thus, it is possible to speculate what is the real benefit of this treatment for diabetic dogs. Besides, there are still many aspects to be explored until its applicability could be encouraged or dropped.

Although numerous molecules related to GLP-1 actions are available, clinical studies focused on obesity or overweight treatment with these drugs in dogs are limited to pharmacokinetic (Jain et al., 2015, 2017; Yeh et al., 2021). Exenatide effects were evaluated in a pre-diabetes canine model (high-fat diet plus streptozotocin injection). The animals without treatment developed increased body weight, reduced glucose tolerance and higher fasting blood glucose, but insulin sensitivity was

Table 2
GLP-1-based drug studies in dogs.

Breed	Age (years)	Sex	Castration	"n" per group	Condition	Drug	Brant / Manufacturer	Dosage	Treatment Duration	Complications	Ref
NI	NI	NI	NI	6	healthy	vildagliptin	NI	1 mg.kg ⁻¹	acute	NI	(Edgerton et al., 2009)
Beagle	NI	M	NI	4 – 5	healthy	gemigliptin	NI/ LG Life Sciences	1 mg.kg ⁻¹	acute	NI	(Kim et al., 2016)
Beagle	3 to 5	F/M	All	5	healthy	sitagliptin	Januvia/ MSD K. K.	1 mg.kg ⁻¹	7 days	NI	(Oda et al., 2014)
Mongrel	NI	F/M	NI	6	depancreatized	GLP-1 (7–36) amide	NI/ Bachem	1.5 pmol.kg ⁻¹ .min ⁻¹	acute	NI	(Sandhu et al., 1999)
ASDI-strain	2,8 ± 0,4	F/M	NI	9	DM	GLP-1 (7–36) amide	NI/ Saxon Biochemicals	10 pmol.kg ⁻¹ .min ⁻¹	acute	NI	(Freyse et al., 1999)
Beagle – MDH	3 to 11	F/M	6 (of 9)	4 – 5	DM – healthy	liraglutide	Victoza/ Novo Nordisk	15 µg.kg ⁻¹	acute	NI	(Oda et al., 2013)
Mongrel	NI	F/M	NI	4 – 5	healthy	lixisenatide	NI/ Sanofi	1.5 µg.kg ⁻¹	acute	vomiting	(Moore et al., 2013)
Mongrel	NI	F/M	NI	7 – 8	healthy	GLP-1 (7–36) amide	NI/ Sigma-Aldrich	0.9 – 5.1 – 10 – 20 pmol.kg ⁻¹ .min ⁻¹	acute	NO	(Nishizawa et al., 2003)
Mongrel	3.2 ± 0.7	F/M	NI	5	healthy	GLP1 (32–36) amide	NI/ Massachusetts General Hospital	30 pmol.kg ⁻¹ .min ⁻¹	acute	NI	(Elahi et al., 2014)
Beagle	3 to 4	M	NI	2 – 3	healthy	ZY15557	NI/ Zydus Research center	0.5 – 3 mg.kg ⁻¹	acute	NI	(Jain et al., 2017)
Beagle	adults	M	NI	2 – 6	healthy	ZYDPLA1	NI/ Zydus Research center	0.5 – 2 mg.kg ⁻¹	acute	NI	(Jain et al., 2015)
Beagle	NI	M	NI	4	healthy	DBPR108	NI/ Ryss Laboratory	0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 1 and 3 mg.kg ⁻¹	acute	NI	(Yeh et al., 2021)
Mongrel	1 to 2	M	NI	7	pre-DM model	exenatide	NI/ Amylin Pharmaceuticals	10 µg*	12 weeks	NI	(Ionut et al., 2016)
Beagle	adults	F	NI	6	ischemia-reperfusion model	alogliptin	NI/ Takeda Pharmaceuticals	3 mg.kg ⁻¹	4 days	NI	(Ihara et al., 2015)
Beagle	3 – 10 to 12**	NI	NI	7 – 9	cardiomyopathy	GLP – 1 (7–36) amide	NI/ Massachusetts General Hospital	2.5 pmol.kg ⁻¹ .min ⁻¹	7 weeks	NI	(Chen et al., 2014)
Mongrel	NI	F/M	NI	7 – 9	cardiomyopathy	GLP – 1 (7–36) and (9–36) amide	NI/ Massachusetts General Hospital	1.5 pmol.kg ⁻¹ .min ⁻¹ for both	48 h	NI	(Nikolaidis et al., 2005)
Beagle	adults	F	NI	3 – 4	cardiomyopathy	liraglutide	Victoza/ Novo Nordisk	150 µg.kg ⁻¹ .day ⁻¹	24 days	NI	(Nakamura et al., 2019)

NO: not observed. NI not informed. DM: diabetes mellitus. MDH: miniature Dachshund.

* the authors reported only the total administered.

** the animals were divided into groups according to age into young (3 years) and old (10 to 12 years).

not altered. Exenatide treatment (10 µg per dog BID for 12 weeks) led to weight loss, but did not affect food consumption, fasting glucose, insulin, glycated hemoglobin or OGTT. In the same study, exenatide increased insulin secretion in vitro (Ionut et al., 2016). Although this model, prediabetes, reproduces a human condition of low occurrence in dogs, the results indicates that GLP-1As may become one alternative to canine obesity treatment (Gilor et al., 2016; Ionut et al., 2016).

Another focus of investigations are the effects of GLP-1 on canine cardiovascular diseases. In an ischemia-reperfusion model, the DPP4i alogliptin (3 mg.kg⁻¹), suppressed apoptosis pathways in heart extracts (Ihara et al., 2015). In a model of rapid atrial pacing, liraglutide treatment (150 µg.kg⁻¹) was able to decrease the refractory period and lead to increased conduction velocity after 2 or 3 weeks (Nakamura et al., 2019). Pretreatment with GLP-1 (7–36) amide (2.5 pmol.kg⁻¹.min⁻¹) in a model of dilated cardiomyopathy decreased FFA levels and improved cardiac insulin resistance. In addition, GLP-1 treatment in elderly dogs increased latency for heart disease development and reduced mortality

(Chen, Angeli, Shen & Shannon, 2014). In dogs with induced cardiomyopathy, the metabolite GLP-1 (9–36) amide improved left ventricular function. GLP-1 (9–36) amide also improved glucose uptake and cardiac output, without modifying insulin levels, presenting an insulinomimetic effect without insulinotropic action (Nikolaidis, Elahi, Shen & Shannon, 2005). Although there are still few studies and the knowledge on the subject is not sufficiently depth, the available data shows a potential beneficial effect of using GLP-1 mimetics in different models of cardiac insult.

5. Concerns and perspectives

The studies so far do not report serious side effects related to GLP-1As use, however, in high doses they can lead to gastrointestinal problems, such as nausea, vomiting and diarrhea (Hall et al., 2015; Moore et al., 2013). In humans, GLP-1As have already been related to an increase in neoplasms development, such as pancreatic adenocarcinoma and

thyroid C-cell tumor, but recent meta-analyses of randomized controlled trials failed to show any significant increase in cancer risk (Cao, Yang & Zhou, 2019; Monami et al., 2017; Vangoitsenhoven, Mathieu & Van der Schueren, 2012). Studies evaluating GLP-1A administration and the risk of tumor development in domestic animals are still lacking.

A possible risk of DPP4i treatments stems from the fact that DPP4 (also known as CD26) is a T cell stimulator, so theoretically its inhibition could disrupt immune system regulation (Anz et al., 2014; Ohnuma, Dang & Morimoto, 2008). However, there is essentially no evidence that DPP4i cause deficiencies in the immune response. (Anz et al., 2014). The possibility that DPP4i may be harmful to animals with immune deficiency still needs to be clarified.

Human studies also show that DPP4i could slightly increase pancreatitis risk (from 0.067 to 0.117), which may be of particular concern for dogs (Aziz et al., 2020; DeVries & Rosenstock, 2017). Although the primary cause of DM in dogs often remains unknown, it is possible that a large percentage is due to complications from pancreatitis that lead to β -cell damage (Gilor et al., 2016). Yet, some studies demonstrate that GLP-1R activation in β cells inhibits apoptosis enhancing these cells survival (Aziz et al., 2020; DeVries & Rosenstock, 2017; Li et al., 2003). Thus, understanding how drugs based on GLP-1 act in the pancreas of dogs, protecting β cells or facilitating the development of pancreatitis, is a fundamental step towards their inclusion in the treatment of canine DM.

Castration is another factor that needs to be better evaluated. Recent studies have shown that sex steroids, especially testosterone and estradiol, modulates GLP-1 response in different tissues (El Bekay et al., 2016; Handgraaf, Dusaulcy, Visentin, Philippe & Gosmain, 2018; Maske, Jackson, Terrill, Eckel & Williams, 2017; Navarro et al., 2016). Although these are still initial data, there are indications that GLP-1 response of castrated males is lower than that of intact animals (El Bekay et al., 2016; Model et al., 2021b). On the other hand, castrated females would not only respond similarly to intact ones, but treatment with GLP-1As could reverse part of the metabolic problems associated with estrogens reduction (Handgraaf et al., 2018; Model et al., 2021a). Even though these data do not come from domestic animals, they indicate an important factor to be evaluated in future studies.

Currently, the body of evidence available in the literature indicates GLP-1As and DPP4-i as possible alternatives to DM treatment in domestic animals, but at present there is not enough information to recommend these drugs widespread clinical use. Many of the experiments described in this review have limitations that must be overcome. The experimental amostral number (N), usually between 2 and 5, must be increased to avoid erroneous inferences (Callegari-Jacques, 2003). Still, the sample selection must be more careful, reducing the inherent variability of breed, sex, age, castration, among others. However, experimental replication is crucial, even in well-designed controlled studies, which reinforces the need for further studies evaluating the role of GLP-1 in physiological and pathophysiological conditions, and its therapeutic potential. Finally, after checking the effects in controlled studies, it would be reasonable to expand to studies in patients, with more heterogeneous samples, but with experimental N significantly higher than that of the laboratory experiments, as well as those used in epidemiological studies, to again avoid incorrect inferences (Porsani et al., 2020).

6. Conclusions

The data collected so far demonstrate that GLP-1 may have a species-specific action in dogs, being more insulinomimetic than insulinotropic, although the latter has already been observed. In cats, the physiological actions of GLP-1 seem like those considered classic in humans and rodents. In diabetic dogs, the use of drugs based on GLP-1 actions led to reduction in blood glucose and higher glucose uptake, while in diabetic cats there was a reduction in glycemic variability and in the need of exogenous insulin administration. Thus, available evidence indicates

that GLP-1 based drugs could become alternatives to DM treatment in domestic animals. However, there are still many open points, and current data are surprisingly limited, not providing enough elements to recommend these drugs widespread clinical use.

Funding

This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Pró-reitoria de Pesquisa (PRO-PESQ) of Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil.

Authors contributions

JFAM: Writing - original draft, Visualization, Writing - review & editing. **DSR:** Writing - original draft. **ACF:** Data Curation. **ASV:** Visualization, Writing - Review & Editing.

Declaration of Competing Interest

None

References

- Abd El Aziz, M., Cahyadi, O., Meier, J. J., Schmidt, W. E., & Nauck, M. A. (2020). Incretin-based glucose-lowering medications and the risk of acute pancreatitis and malignancies: A meta-analysis based on cardiovascular outcomes trials. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 22(4), 699–704, 10.1111/dom.13924.
- Anz, D., Kruger, S., Haubner, S., Rapp, M., Bourquin, C., & Endres, S. (2014). The dipeptidylpeptidase-IV inhibitors sitagliptin, vildagliptin and saxagliptin do not impair innate and adaptive immune responses. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16(6), 569–572, 10.1111/dom.12246.
- Appleton, D., Rand, J., & Sunvold, G. (2001). Insulin Sensitivity decreases with obesity, and lean cats with low insulin sensitivity are at greatest risk of glucose intolerance with weight gain. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 3(4), 211–228, 10.1053/jfms.2001.0138.
- Baggio, L. L., & Drucker, D. J. (2002). Harnessing the therapeutic potential of glucagon-like peptide-1. *Treatments in Endocrinology*, 1(2), 117–125, 10.2165/00024677-200201020-00005.
- Baggio, L. L., & Drucker, D. J. (2007). Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, 132(6), 2131–2157. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.054>
- Baggio, L. L., Ussher, J. R., McLean, B. A., Cao, X., Kabir, M. G., Mulvihill, E. E., et al. (2017). The autonomic nervous system and cardiac GLP-1 receptors control heart rate in mice. *Molecular Metabolism*, 6(11), 1339–1349, 10.1016/j.molmet.2017.08.010.
- Ban, K., Noyan-Ashraf, M. H., Hoefler, J., Bolz, S. S., Drucker, D. J., & Husain, M. (2008). Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways. *Circulation*, 117(18), 2340–2350, 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.739938.
- Beiroa, D., Imbernon, M., Gallego, R., Senra, A., Herranz, D., Villarroya, F., et al. (2014). GLP-1 agonism stimulates brown adipose tissue thermogenesis and browning through hypothalamic AMPK. *Diabetes*, 63(10), 3346–3358, 10.2337/db14-0302.
- Bullock, B. P., Heller, R. S., & Habener, J. F. (1996). Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide-1 receptor. *Endocrinology*, 137(7), 2968–2978, 10.1210/endo.137.7.8770921.
- Bünemann, M., Gerhardstein, B. L., Gao, T., & Hosey, M. M. (1999). Functional regulation of L-type calcium channels via protein kinase A-mediated phosphorylation of the β 2 subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 274(48), 33851–33854, 10.1074/jbc.274.48.33851.
- Buteau, J., El-Asaad, W., Rhodes, C. J., Rosenberg, L., Joly, E., & Prentki, M. (2004). Glucagon-like peptide-1 prevents beta cell glucolipotoxicity. *Diabetologia*, 47(5), 806–815, 10.1007/s00125-004-1379-6.
- Buteau, J., Foisy, S., Joly, E., & Prentki, M. (2003). Glucagon-like peptide 1 induces pancreatic β -cell proliferation via transactivation of the epidermal growth factor receptor. *Diabetes*, 52(1), 124–132, 10.2337/diabetes.52.1.124.
- Callegari-Jacques, S. M. (2003). *Bioestatística: Princípios e aplicações*. Porto Alegre: ARTMED.
- Camara, A., Verbrugge, A., Cargo-Froom, C., Hogan, K., DeVries, T. J., Sanchez, A., et al. (2020). The daytime feeding frequency affects appetite-regulating hormones, amino acids, physical activity, and respiratory quotient, but not energy expenditure, in adult cats fed regimens for 21 days. *PLoS one*, 15(9), Article e0238522, 10.1371/journal.pone.0238522.
- Cao, C., Yang, S., & Zhou, Z. (2019). GLP-1 receptor agonists and risk of cancer in type 2 diabetes: An updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Endocrine*, 66(2), 157–165, 10.1007/s12020-019-02055-z.
- Challa, T. D., Beaton, N., Arnold, M., Rudolfsky, G., Langhans, W., & Wolfrum, C. (2012). Regulation of adipocyte formation by GLP-1/GLP-1R signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 287(9), 6421–6430, 10.1074/jbc.M111.310342.

- Chambers, A. P., Sorrell, J. E., Haller, A., Roelofs, K., Hutch, C. R., Kim, K.-S., et al. (2017). The role of pancreatic preproglucagon in glucose homeostasis in mice. *Cell Metabolism*, 25(4), 927–934. e3. [10.1016/j.cmet.2017.02.008](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.02.008).
- Chen, M., Angeli, F. S., Shen, Y., Tang, S., & Shannon, R. P. (2014). GLP-1 (7-36) amide restores myocardial insulin sensitivity and prevents the progression of heart failure in senescent beagles. *Cardiovascular Diabetology*, (1), 13. <https://doi.org/10.1186/s12933-014-0115-x>
- Chia, C. W., & Egan, J. M. (2020). Incretins in obesity and diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1461(1), 104–126. [10.1111/nyas.14211](https://doi.org/10.1111/nyas.14211).
- Damholt, A. B., Buchan, A. M. J., & Kofod, H. (1998). Glucagon-like-peptide-1 secretion from canine L-cells is increased by glucose-dependent-insulinotropic peptide but unaffected by glucose. *Endocrinology*, 139(4), 2085–2091. <https://doi.org/10.1210/endo.139.4.5921>
- Damholt, A. B., Kofod, H., & Buchan, A. M. J. (1999). Immunocytochemical evidence for a paracrine interaction between GIP and GLP-1-producing cells in canine small intestine. *Cell and Tissue Research*, 298(2), 287–293. [10.1007/s004419900093](https://doi.org/10.1007/s004419900093).
- Dardelet, D., Moore, M. C., DiCostanzo, C. A., Farmer, B., Neal, D. W., Snead, W., et al. (2005). Insulin secretion-independent effects of GLP-1 on canine liver glucose metabolism do not involve portal vein GLP-1 receptors. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 289(5), G806–G814. [10.1152/ajpgi.00121.2005](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00121.2005).
- de Heer, J., Rasmussen, C., Coy, D. H., & Holst, J. J. (2008). Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, inhibits glucagon secretion via somatostatin (receptor subtype 2) in the perfused rat pancreas. *Diabetologia*, 51(12), 2263–2270. [10.1007/s00125-008-1149-y](https://doi.org/10.1007/s00125-008-1149-y).
- Deacon, C. F. (2018). Peptide degradation and the role of DPP-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Peptides*, 100, 150–157. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.10.011>
- Deacon, C., Wamberg, S., Bie, P., Hughes, T., & Holst, J. (2002). Preservation of active incretin hormones by inhibition of dipeptidyl peptidase IV suppresses meal-induced incretin secretion in dogs. *Journal of Endocrinology*, 172(2), 355–362. [10.1677/joe.0.1720355](https://doi.org/10.1677/joe.0.1720355).
- Delgado, E., Luque, M. A., Alcántara, A., Trapote, M. A., Clemente, F., Galera, C., et al. (1995). Glucagon-like peptide-1 binding to rat skeletal muscle. *Peptides*, 16(2), 225–229. [10.1016/0196-9781\(94\)00175-8](https://doi.org/10.1016/0196-9781(94)00175-8).
- DeVries, J. H., & Rosenstock, J. (2017). DPP-4 inhibitor-related pancreatitis: rare but real! *Diabetes care*, 40(2), 161–163. <https://doi.org/10.2337/dci16-0035>
- Drucker, D. J., Philippe, J., Mojsov, S., Chick, W. L., & Habener, J. F. (1987). Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(10), 3434–3438. [10.1073/pnas.84.10.3434](https://doi.org/10.1073/pnas.84.10.3434).
- Drucker, Daniel J. (2018). The ascending GLP-1 road from clinical safety to reduction of cardiovascular complications. *Diabetes*, 67(9), 1710–1719. <https://doi.org/10.2337/db18-0008>
- Edgerton, D. S., Johnson, K. M. S., Neal, D. W., Scott, M., Hobbs, C. H., Zhang, X., et al. (2009). Inhibition of dipeptidyl peptidase-4 by vildagliptin during glucagon-like peptide 1 infusion increases liver glucose uptake in the conscious dog. *Diabetes*, 58(1), 243–249. <https://doi.org/10.2337/db08-0515>
- El Bekay, R., Coín-Aragüez, L., Fernández-García, D., Oliva-Olivera, W., Bernal-López, R., Clemente-Postigo, M., et al. (2016). Effects of glucagon-like peptide-1 on the differentiation and metabolism of human adipocytes. *British Journal of Pharmacology*, 173(11), 1820–1834. [10.1111/bph.13481](https://doi.org/10.1111/bph.13481).
- Elahi, D., Angeli, F. S., Vakilipour, A., Carlson, O. D., Tomas, E., Egan, J. M., et al. (2014). GLP-1(32–36)amide, a novel nontapeptide cleavage product of GLP-1, modulates whole body glucose metabolism in dogs. *Peptides*, 59, 20–24. [10.1016/j.peptides.2014.06.004](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.06.004).
- Freyre, E.-J., Knosp, S., Becher, T., El Hag, O., Göke, B., & Fischer, U. (1999). Glucagon-like peptide-1 has no insulin-like effects in insulin-dependent diabetic dogs maintained normoglycemic and normoinsulinemic. *Metabolism*, 48(1), 134–137. [10.1016/S0026-0495\(99\)90023-9](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(99)90023-9).
- Furrer, D., Kaufmann, K., Tschur, F., Reusch, C. E., & Lutz, T. A. (2010). The dipeptidyl peptidase IV inhibitor NVP-DPP728 reduces plasma glucagon concentration in cats. *The Veterinary Journal*, 183(3), 355–357. [10.1016/j.tvjl.2008.11.017](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.11.017).
- Gilor, C., Graves, T. K., Gilor, S., Ridgway, T. K., & Rick, M. (2011a). The GLP-1 mimetic exenatide potentiates insulin secretion in healthy cats. *Domestic Animal Endocrinology*, 41(1), 42–49. [10.1016/j.domaniend.2011.03.001](https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.03.001).
- Gilor, C., Graves, T. K., Gilor, S., Ridgway, T. K., Weng, H.-Y., & Dossin, O. (2011b). The incretin effect in cats: Comparison between oral glucose, lipids, and amino acids. *Domestic Animal Endocrinology*, 40(4), 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.01.002>.
- Gilor, C., Niessen, S. J. M., Furrow, E., & DiBartola, S. P. (2016a). What's in a name? Classification of diabetes mellitus in veterinary medicine and why it matters. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(4), 927–940. [10.1111/jvim.14357](https://doi.org/10.1111/jvim.14357).
- Gilor, C., Rudinsky, A. J., & Hall, M. J. (2016b). New approaches to feline diabetes mellitus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(9), 733–743. [10.1177/1098612X16660441](https://doi.org/10.1177/1098612X16660441).
- Hall, M. J., Adin, C. A., Borin-Crivellenti, S., Rudinsky, A. J., Rajala-Schultz, P., Lakritz, J., et al. (2015). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the glucagon-like peptide-1 analog liraglutide in healthy cats. *Domestic Animal Endocrinology*, 51, 114–121. [10.1016/j.domaniend.2014.12.001](https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2014.12.001).
- Handgraaf, S., Dusauly, R., Visentin, F., Philippe, J., & Gosman, Y. (2018). 17-β Estradiol regulates proglucagon-derived peptide secretion in mouse and human α-and L cells. *JCI Insight*, (7), 3. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.98569>
- Hayes, M. R., Skibicka, K. P., & Grill, H. J. (2008). Caudal brainstem processing is sufficient for behavioral, sympathetic, and parasympathetic responses driven by peripheral and hindbrain glucagon-like-peptide-1 receptor stimulation. *Endocrinology*, 149(8), 4059–4068. [10.1210/en.2007-1743](https://doi.org/10.1210/en.2007-1743).
- Herman, J. P. (2018). Regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical responses to stressors by the nucleus of the solitary tract/dorsal vagal complex. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 38(1), 25–35. [10.1007/s10571-017-0543-8](https://doi.org/10.1007/s10571-017-0543-8).
- Hoelmlkjær, K. M., Wewer Albrechtsen, N. J., Holst, J. J., Cronin, A. M., Nielsen, D. H., Mandrup-Poulsen, T., et al. (2016). A Placebo-controlled study on the effects of the glucagon-like peptide-1 mimetic, exenatide, on insulin secretion, body composition and adipokines in obese, client-owned cats. *PLoS one*, 11(5), Article e0154727. [10.1371/journal.pone.0154727](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154727).
- Hoenig, M., Pach, N., Thomaseth, K., Le, A., Schaeffer, D., & Ferguson, D. C. (2013). Cats differ from other species in their cytokine and antioxidant enzyme response when developing obesity. *Obesity*. <https://doi.org/10.1002/oby.20306>. n/a-n/a.
- Holz, G. G. (2004). Epac : A new cAMP-binding protein in support of glucagon-like peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic β-cell. *Diabetes*, 53(1), 5–13. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.1.5>
- Imeryüz, N., Yeğen, B.Ç., Bozkurt, A., Coşkun, T., Villanueva-Peñacarrillo, M. L., & Ulusoy, N. B. (1997). Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 273(4), G920–G927. [10.1152/ajpgi.1997.273.4.G920](https://doi.org/10.1152/ajpgi.1997.273.4.G920).
- Ihara, M., Asanuma, H., Yamazaki, S., Kato, H., Asano, Y., Shinozaki, Y., et al. (2015). An interaction between glucagon-like peptide-1 and adenosine contributes to cardioprotection of a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor from myocardial ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 308(10), H1287–H1297. [10.1152/ajpheart.00835.2014](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00835.2014).
- Ionut, V., Huckling, K., Liberty, I. F., & Bergman, R. N. (2005). Synergistic effect of portal glucose and glucagon-like peptide-1 to lower systemic glucose and stimulate counter-regulatory hormones. *Diabetologia*, 48(5), 967–975. [10.1007/s00125-005-1709-3](https://doi.org/10.1007/s00125-005-1709-3).
- Ionut, V., Liberty, I. F., Huckling, K., Lottati, M., Stefanovski, D., Zheng, D., et al. (2006). Exogenously imposed postprandial-like rises in systemic glucagon and GLP-1 do not produce an incretin effect, suggesting an indirect mechanism of GLP-1 action. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 291(4), E779–E785. [10.1152/ajpendo.00106.2005](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00106.2005).
- Ionut, V., Woolcott, O. O., Mkrtchyan, H. J., Stefanovski, D., Kabir, M., Iyer, M. S., et al. (2016). Exenatide treatment alone improves β-cell function in a canine model of pre-diabetes. *PLoS one*, 11(7), Article e0158703. [10.1371/journal.pone.0158703](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158703).
- Jain, M. R., Joharapurkar, A. A., Bahekar, R. H., Patel, H., Jadav, P., Kshirsagar, S. G., et al. (2015). Pharmacological characterization of ZYDPLA1, a novel long-acting dipeptidyl peptidase-4 inhibitor. *Journal of Diabetes*, 7(5), 708–717. [10.1111/1753-0407.12233](https://doi.org/10.1111/1753-0407.12233).
- Jain, M. R., Joharapurkar, A. A., Kshirsagar, S. G., Patel, V. J., Bahekar, R. H., Patel, H. V., et al. (2017). ZY15557, a novel, long acting inhibitor of dipeptidyl peptidase-4, for the treatment of Type 2 diabetes mellitus. *British Journal of Pharmacology*, 174(14), 2346–2357. <https://doi.org/10.1111/bph.13842>
- Johnson, K. M. S., Edgerton, D. S., Rodewald, T., Scott, M., Farmer, B., Neal, D., et al. (2007). Intraportal GLP-1 infusion increases nonhepatic glucose utilization without changing pancreatic hormone levels. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(4), E1085–E1091. [10.1152/ajpendo.00275.2007](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00275.2007).
- Johnson, K. M. S., Edgerton, D. S., Rodewald, T., Scott, M., Farmer, B., Neal, D., et al. (2008). Intraportally delivered GLP-1, in the presence of hyperglycemia induced via peripheral glucose infusion, does not change whole body glucose utilization. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(2), E380–E384. [10.1152/ajpendo.00642.2007](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00642.2007).
- Kang, G., Leech, C. A., Chepurny, O. G., Coetzee, W. A., & Holz, G. G. (2008). Role of the cAMP sensor Epac as a determinant of K ATP channel ATP sensitivity in human pancreatic β-cells and rat INS-1 cells. *The Journal of Physiology*, 586(5), 1307–1319. [10.1113/jphysiol.2007.143818](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.143818).
- Kapodistria, K., Tsilibary, E., Kotsopoulou, E., Moustardas, P., & Kitsiou, P. (2018). Liraglutide, a human glucagon-like peptide-1 analogue, stimulates AKT-dependent survival signalling and inhibits pancreatic β-cell apoptosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(6), 2970–2980. [10.1111/jcmm.13259](https://doi.org/10.1111/jcmm.13259).
- Kim, S.-H., Jung, E., Yoon, M. K., Kwon, O. H., Hwang, D.-M., Kim, D.-W., et al. (2016). Pharmacological profiles of gemigliptin (LC15-0444), a novel dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmacology*, 788, 54–64. [10.1016/j.ejphar.2016.06.016](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.06.016).
- Knudsen, L. B., & Lau, J. (2019). The discovery and development of liraglutide and semaglutide. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 10.3389/fendo.2019.00155. [10.3389/fendo.2019.00155](https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00155).
- Koojiman, S., Wang, Y., Parlevliet, E. T., Boon, M. R., Edelschaap, D., Snaatse, G., et al. (2015). Central GLP-1 receptor signalling accelerates plasma clearance of triacylglycerol and glucose by activating brown adipose tissue in mice. *Diabetologia*, 58(11), 2637–2646. [10.1007/s00125-015-3727-0](https://doi.org/10.1007/s00125-015-3727-0).
- Krämer, A. L., Riederer, A., Fracassi, F., Boretta, F. S., Sieber-Ruckstuhl, N. S., Lutz, T. A., et al. (2020). Glycemic variability in newly diagnosed diabetic cats treated with the glucagon-like peptide-1 analogue exenatide extended release. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(6), 2287–2295. [10.1111/jvim.15915](https://doi.org/10.1111/jvim.15915).
- Krieger, J.-P., Arnold, M., Pettersen, K. G., Lossel, P., Langhans, W., & Lee, S. J. (2016). Knockdown of GLP-1 receptors in vagal afferents affects normal food intake and glycemia. *Diabetes*, 65(1), 34–43. [10.2337/db15-0973](https://doi.org/10.2337/db15-0973).
- Lí, Y., Hansotta, T., Yusta, B., Ris, F., Halban, P. A., & Drucker, D. J. (2003). Glucagon-like peptide-1 receptor signaling modulates β cell apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 278(1), 471–478. [10.1074/jbc.M209423200](https://doi.org/10.1074/jbc.M209423200).
- Lubbs, D. C., Vester Boler, B. M., Ridge, T. K., Spears, J. K., Graves, T. K., & Swanson, K. S. (2010). Dietary macronutrients and feeding frequency affect fasting

- and postprandial concentrations of hormones involved in appetite regulation in adult dogs. *Journal of Animal Science*, 88(12), 3945–3953, 10.2527/jas.2010-2938.
- MacDonald, P. E., Wang, X., Xia, F., El-kholy, W., Targonsky, E. D., Tsushima, R. G., et al. (2003). Antagonism of rat β -cell voltage-dependent K⁺ currents by exendin 4 requires dual activation of the cAMP/protein kinase A and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 278(52), 52446–52453, 10.1074/jbc.M307612200.
- Maske, C. B., Jackson, C. M., Terrill, S. J., Eckel, L. A., & Williams, D. L. (2017). Estradiol modulates the anorexic response to central glucagon-like peptide 1. *Hormones and Behavior*, 93, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.05.012>
- McCool, K. E., Rudinsky, A. J., Parker, V. J., Herbert, C. O., & Gilor, C. (2018). The effect of diet, adiposity, and weight loss on the secretion of incretin hormones in cats. *Domestic Animal Endocrinology*, 62, 67–75, 10.1016/j.domaniend.2017.10.004.
- McMillan, C. J., Zapata, R. C., Chelikani, P. K., Snead, E. C. R., & Cosford, K. (2016). Circulating concentrations of glucagon-like peptide 1, glucose-dependent insulinotropic peptide, peptide YY, and insulin in client-owned lean, overweight, and diabetic cats. *Domestic Animal Endocrinology*, 54, 85–94, 10.1016/j.domaniend.2015.10.001.
- Meloni, A. R., DeYoung, M. B., Lowe, C., & Parkes, D. G. (2013). GLP-1 receptor activated insulin secretion from pancreatic β -cells: Mechanism and glucose dependence. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 15(1), 15–27, 10.1111/j.1463-1326.2012.01663.x.
- Model, J. F. A., Lima, M. V., Ohlweiler, R., Lopes Vogt, É., Rocha, D. S., Souza, S. K. de, ... Vinagre, A. S. (2021a). Liraglutide improves lipid and carbohydrate metabolism of ovariectomized rats. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 524, Article 111158. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111158>
- Model, J. F. A., Lima, M. V., Ohlweiler, R., Sarapio, E., Vogt, É. L., Rocha, D. S., et al. (2021b). Liraglutide treatment counteracts alterations in adipose tissue metabolism induced by orchidectomy in rats. *Life Sciences*, 278, Article 119586. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119586>
- Monami, M., Nreu, B., Scatena, A., Cresci, B., Andreozzi, F., Sesti, G., et al. (2017). Safety issues with glucagon-like peptide-1 receptor agonists (pancreatitis, pancreatic cancer and cholelithiasis): Data from randomized controlled trials. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19(9), 1233–1241, 10.1111/dom.12926.
- Moore, M. C., Werner, U., Smith, M. S., Farmer, T. D., & Cherrington, A. D. (2013). Effect of the glucagon-like peptide-1 receptor agonist lixisenatide on postprandial hepatic glucose metabolism in the conscious dog. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 305(12), E1473–E1482, 10.1152/ajpendo.00354.2013.
- Mori, A., Ueda, K., Lee, P., Oda, H., Ishioka, K., Arai, T., et al. (2016). Effect of acarbose, sitagliptin and combination therapy on blood glucose, insulin, and incretin hormone concentrations in experimentally induced postprandial hyperglycemia of healthy cats. *Research in Veterinary Science*, 106, 131–134, 10.1016/j.rvsc.2016.04.001.
- Müller, T. D., Finan, B., Bloom, S. R., D'Alessio, D., Drucker, D. J., Flatt, P. R., et al. (2019). Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). *Molecular Metabolism*, 30, 72–130, 10.1016/j.molmet.2019.09.010.
- Nakamura, H., Niwano, S., Niwano, H., Fukaya, H., Murakami, M., Kishihara, J., et al. (2019). Liraglutide suppresses atrial electrophysiological changes. *Heart and Vessels*, 34(8), 1389–1393, 10.1007/s00380-018-01327-4.
- Nauck, M. A., & Meier, J. J. (2005). Glucagon-like peptide 1 and its derivatives in the treatment of diabetes. *Regulatory Peptides*, 128(2), 135–148. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2004.07.014>
- Nauck, M. A., & Meier, J. J. (2018). Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20, 5–21. October 2017.10.1111/dom.13129.
- Navarro, G., Xu, W., Jacobson, D. A., Wicksteed, B., Allard, C., Zhang, G., et al. (2016). Extracellular actions of the androgen receptor enhance glucose-stimulated insulin secretion in the male. *Cell Metabolism*, 23(5), 837–851, 10.1016/j.cmet.2016.03.015.
- Nikolaïdis, L. A., Elahi, D., Shen, Y.-T., & Shannon, R. P. (2005). Active metabolite of GLP-1 mediates myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with dilated cardiomyopathy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 289(6), H2401–H2408. 10.1152/ajpheart.00347.2005.
- Nishii, N., Takashima, S., Iguchi, A., Murahata, Y., Matsuu, A., Hikasa, Y., et al. (2014). Effects of sitagliptin on plasma incretin concentrations after glucose administration through an esophagostomy tube or feeding in healthy cats. *Domestic Animal Endocrinology*, 49, 14–19, 10.1016/j.domaniend.2014.04.006.
- Nishizawa, M., Moore, M. C., Shiota, M., Gustavson, S. M., Snead, W. L., Neal, D. W., et al. (2003). Effect of intraportal glucagon-like peptide-1 on glucose metabolism in conscious dogs. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 284(5), E1027–E1036, 10.1152/ajpendo.00503.2002.
- Oda, H., Mori, A., Lee, P., Saeki, K., Arai, T., & Sako, T. (2014). Preliminary study characterizing the use of sitagliptin for glycemic control in healthy beagle dogs with normal gluco-homeostasis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 76(10), 1383–1387, 10.1292/jvms.13-0590.
- Oda, H., Mori, A., Lee, P., Saeki, K., Ishioka, K., Arai, T., et al. (2013). Characterization of the use of liraglutide for glycemic control in healthy and Type 1 diabetes mellitus suffering dogs. *Research in Veterinary Science*, 95(2), 381–388, 10.1016/j.rvsc.2013.04.003.
- Ohneda, A., Ohneda, K., Ohneda, M., Koizumi, F., Ohashi, S., Kawai, K., et al. (1991). The structure-function relationship of GLP-1 related peptides in the endocrine function of the canine pancreas. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 165(3), 209–221, 10.1620/tjem.165.209.
- Ohnuma, K., Dang, N. H., & Morimoto, C. (2008). Revisiting an old acquaintance: CD26 and its molecular mechanisms in T cell function. *Trends in Immunology*, 29(6), 295–301, 10.1016/j.it.2008.02.010.
- Orskov, C., Holst, J. J., & Nielsen, O. V. (1988). Effect of truncated glucagon-like peptide-1 [Proglucagon-(78–107) amide] on endocrine secretion from pig pancreas, antrum, and nonantral stomach. *Endocrinology*, 123(4), 2009–2013, 10.1210/endo-123-4-2009.
- Pacheco, B. P. M., Crajoins, R. O., Couto, G. K., Davel, A. P. C., Lessa, L. M., Rossoni, L. V., et al. (2011). Dipeptidyl peptidase IV inhibition attenuates blood pressure rising in young spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 29(3), 520–528, 10.1097/HJH.0b013e328341939d.
- Padrutt, I., Lutz, T. A., Reusch, C. E., & Zini, E. (2015). Effects of the glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogues exenatide, exenatide extended-release, and of the dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4) inhibitor sitagliptin on glucose metabolism in healthy cats. *Research in Veterinary Science*, 99, 23–29, 10.1016/j.rvsc.2014.12.001.
- Porsani, M. Y. H., Teixeira, F. A., Oliveira, V. V., Pedrinelli, V., Dias, R. A., German, A. J., et al. (2020). Prevalence of canine obesity in the city of São Paulo, Brazil. *Scientific Reports*, 10(1), 14082, 10.1038/s41598-020-70937-8.
- Pyke, C., Heller, R. S., Kirk, R. K., Ørskov, C., Reedtz-Runge, S., Kastrup, P., et al. (2014). GLP-1 receptor localization in monkey and human tissue: Novel distribution revealed with extensively validated monoclonal antibody. *Endocrinology*, 155(4), 1280–1290, 10.1210/en.2013-1934.
- Reimann, F., & Gribble, F. M. (2002). Glucose-sensing in glucagon-like peptide-1-secreting cells. *Diabetes*, 51(9), 2757–2763. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.9.2757>
- Richards, P., Parker, H. E., Adriaenssens, A. E., Hodgson, J. M., Cork, S. C., Trapp, S., et al. (2014). Identification and characterization of GLP-1 receptor-expressing cells using a new transgenic mouse model. *Diabetes*, 63(4), 1224–1233, 10.2337/db13-1440.
- Riederer, A., Zini, E., Salesov, E., Fracassi, F., Padrutt, I., Macha, K., et al. (2016). Effect of the glucagon-like peptide-1 analogue exenatide extended release in cats with newly diagnosed diabetes mellitus. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(1), 92–100, 10.1111/jvim.13817.
- Rowlands, J., Heng, J., Newsholme, P., & Carlessi, R. (2018). Pleiotropic effects of GLP-1 and analogs on cell signaling, metabolism, and function. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 1–23 (November)10.3389/fendo.2018.00672.
- Rudinsky, A. J., Adin, C. A., Borin-Crivellenti, S., Rajala-Schultz, P., Hall, M. J., & Gilor, C. (2015). Pharmacology of the glucagon-like peptide-1 analog exenatide extended-release in healthy cats. *Domestic Animal Endocrinology*, 51, 78–85, 10.1016/j.domaniend.2014.12.003.
- Rüttimann, E. B., Arnold, M., Hillebrand, J. J., Geary, N., & Langhans, W. (2009). Intrameal hepatic portal and intraperitoneal infusions of glucagon-like peptide-1 reduce spontaneous meal size in the rat via different mechanisms. *Endocrinology*, 150(3), 1174–1181, 10.1210/en.2008-1221.
- Sandhu, H., Wiesenhal, S. R., MacDonald, P. E., McCall, R. H., Tchipashvili, V., Rashid, S., et al. (1999). Glucagon-like peptide 1 increases insulin sensitivity in depancreatized dogs. *Diabetes*, 48(5), 1045–1053, 10.2337/diabetes.48.5.1045.
- Schauf, S., Salas-Mani, A., Torre, C., Jimenez, E., Latorre, M. A., & Castrillo, C. (2018). Effect of feeding a high-carbohydrate or a high-fat diet on subsequent food intake and blood concentration of satiety-related hormones in dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(1), e21–e29, 10.1111/jpn.12696.
- Scheen, A. J. (2018). The safety of gliptins : Updated data in 2018. *Expert Opinion on Drug Safety*, 17(4), 387–405, 10.1080/14740338.2018.1444027.
- Schneider, E. L., Reid, R., Parkes, D. G., Lutz, T. A., Ashley, G. W., & Santi, D. V. (2020). A once-monthly GLP-1 receptor agonist for treatment of diabetic cats. *Domestic Animal Endocrinology*, 70, Article 106373, 10.1016/j.domaniend.2019.07.001.
- Scuderi, M. A., Ribeiro Petito, M., Unniappan, S., Waldner, C., Mehain, S., McMillan, C. J., et al. (2018). Safety and efficacy assessment of a GLP-1 mimetic: Insulin glargine combination for treatment of feline diabetes mellitus. *Domestic Animal Endocrinology*, 65, 80–89, 10.1016/j.domaniend.2018.04.003.
- Seyfert, T. M., Brunker, J. D., Maxwell, L. K., Payton, M. E., & McFarlane, D. (2012). Effects of a glucagon-like peptide-1 mimetic (exenatide) in healthy cats. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 10(2), 147–156.
- Shimoda, M., Kanda, Y., Hamamoto, S., Tawaramoto, K., Hashiramoto, M., Matsuki, M., et al. (2011). The human glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide preserves pancreatic beta cells via regulation of cell kinetics and suppression of oxidative and endoplasmic reticulum stress in a mouse model of diabetes. *Diabetologia*, 54(5), 1098–1108, 10.1007/s00125-011-2069-9.
- Sirohi, S., Schurdak, J. D., Seeley, R. J., Benoit, S. C., & Davis, J. F. (2016). Central & peripheral glucagon-like peptide-1 receptor signaling differentially regulate addictive behaviors. *Physiology & Behavior*, 161, 140–144, 10.1016/j.physbeh.2016.04.013.
- Skelin, M., & Rupnik, M. (2011). cAMP increases the sensitivity of exocytosis to Ca²⁺ primarily through protein kinase A in mouse pancreatic beta cells. *Cell Calcium*, 49(2), 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.12.005>
- Smith, E. P., An, Z., Wagner, C., Lewis, A. G., Cohen, E. B., Li, B., et al. (2014). The role of β cell glucagon-like peptide-1 signaling in glucose regulation and response to diabetes drugs. *Cell Metabolism*, 19(6), 1050–1057, 10.1016/j.cmet.2014.04.005.
- Smits, M. M., Tonneijck, L., Muskiet, M. H. A., Kramer, M. H. H., Pieters-van den Bos, I. C., Vendrik, K. E. W., et al. (2017). Pancreatic effects of liraglutide or sitagliptin in overweight patients with type 2 diabetes: A 12-week randomized, placebo-controlled trial. *Diabetes care*, 40(3), 301–308, 10.2337/dcl6-0836.
- Sugiyama, K., Manaka, H., Kato, T., Yamatani, K., Tominaga, M., & Sasaki, H. (1994). Stimulation of truncated glucagon-like peptide-1 release from the isolated perfused canine ileum by glucose absorption. *Digestion*, 55(1), 24–28. <https://doi.org/10.1159/000201118>
- Tang-Christensen, M., Larsen, P. J., Goke, R., Fink-Jensen, A., Jessop, D. S., Møller, M., et al. (1996). Central administration of GLP-1-(7–36) amide inhibits food and water intake in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 271(4), R848–R856. 10.1152/ajpregu.1996.271.4.R848.

J.F.A. Model et al.

Veterinary and Animal Science 16 (2022) 100245

- Tolhurst, G., Reimann, F., & Gribble, F. M. (2009). Nutritional regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *The Journal of Physiology*, *587*(1), 27–32, 10.1113/jphysiol.2008.164012.
- Tsunekawa, S., Yamamoto, N., Tsukamoto, K., Itoh, Y., Kaneko, Y., Kimura, T., et al. (2007). Protection of pancreatic β -cells by exendin-4 may involve the reduction of endoplasmic reticulum stress; in vivo and in vitro studies. *Journal of Endocrinology*, *193*(1), 65–74, 10.1677/JOE-06-0148.
- Van Citters, G. W., Kabir, M., Kim, S. P., Mittelman, S. D., Dea, M. K., Brubaker, P. L., et al. (2002). Elevated glucagon-like peptide-1-(7–36)-amide, but not glucose, associated with hyperinsulinemic compensation for fat feeding. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *87*(11), 5191–5198, 10.1210/jc.2002-020002.
- Vangoitsenhoven, R., Mathieu, C., & Van der Schueren, B. (2012). GLP1 and cancer: Friend or foe? *Endocrine-Related Cancer*, *19*(5), F77–F88. 10.1530/ERC-12-0111.
- Wang, Y., Egan, J. M., Raygada, M., Nadiv, O., Roth, J., & Montrose-Rafizadeh, C. (1995). Glucagon-like peptide-1 affects gene transcription and messenger ribonucleic acid stability of components of the insulin secretory system in RIN 1046-38 cells. *Endocrinology*, *136*(11), 4910–4917, 10.1210/endo.136.11.7588224.
- Wettergren, A., Wojdemann, M., Meisner, S., Stadil, F., & Holst, J. J. (1997). The inhibitory effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 7-36 amide on gastric acid secretion in humans depends on an intact vagal innervation. *Gut*, *40*(5), 597–601, 10.1136/gut.40.5.597.
- Yeh, K.-C., Yeh, T.-K., Huang, C.-Y., Hu, C.-B., Wang, M.-H., Huang, Y.-W., et al. (2021). DBPR108, a novel dipeptidyl peptidase-4 inhibitor with antihyperglycemic activity. *Life Sciences*, *278*, Article 119574. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119574>

4.2. Estudo experimental

4.2.1. Estudo piloto

Tanto em relação aos tempos de incubação quanto em relação às diferentes doses de GLP-1RA, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) em nenhum dos parâmetros avaliados (Figura 9, Tabela 1 e Tabela 2). Devido a estes resultados foram escolhidos o tempo de 1 hora, previamente usado em nosso grupo de pesquisa, e a dose de 10 μM , encontrada na literatura (Ban *et al.*, 2010; Model *et al.*, 2021a; Vogt *et al.*, 2023).

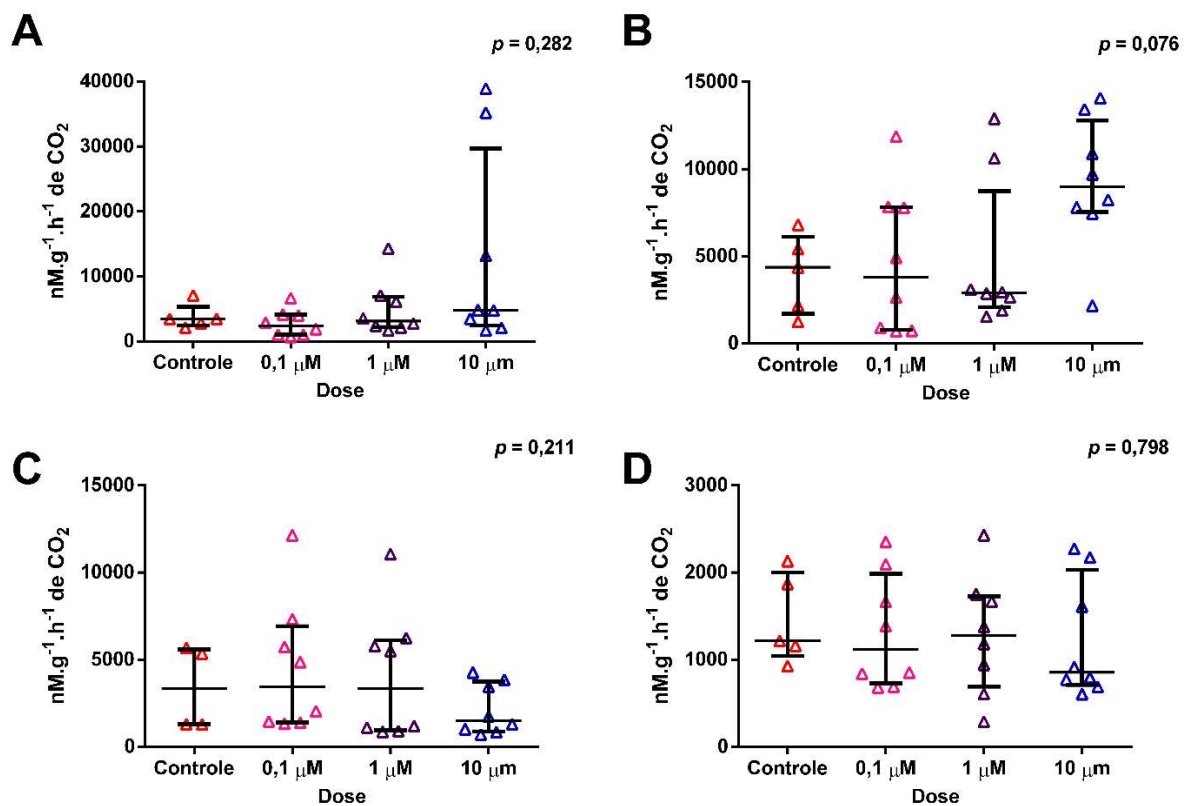


Figura 9: formação de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de $\text{U-}^{14}\text{C}$ -palmitato em diferentes tecidos de ratos expostos a 0,1 μM , 1 μM ou 10 μM de liraglutida. A: tecido adiposo branco perirrenal (n = 5 – 8). B: tecido adiposo branco subcutâneo (n = 5 – 8). C: tecido adiposo marrom (n = 5 – 8). D: fígado (n= 5 – 8). Os dados estão representados como mediana \pm intervalo interquartilico. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

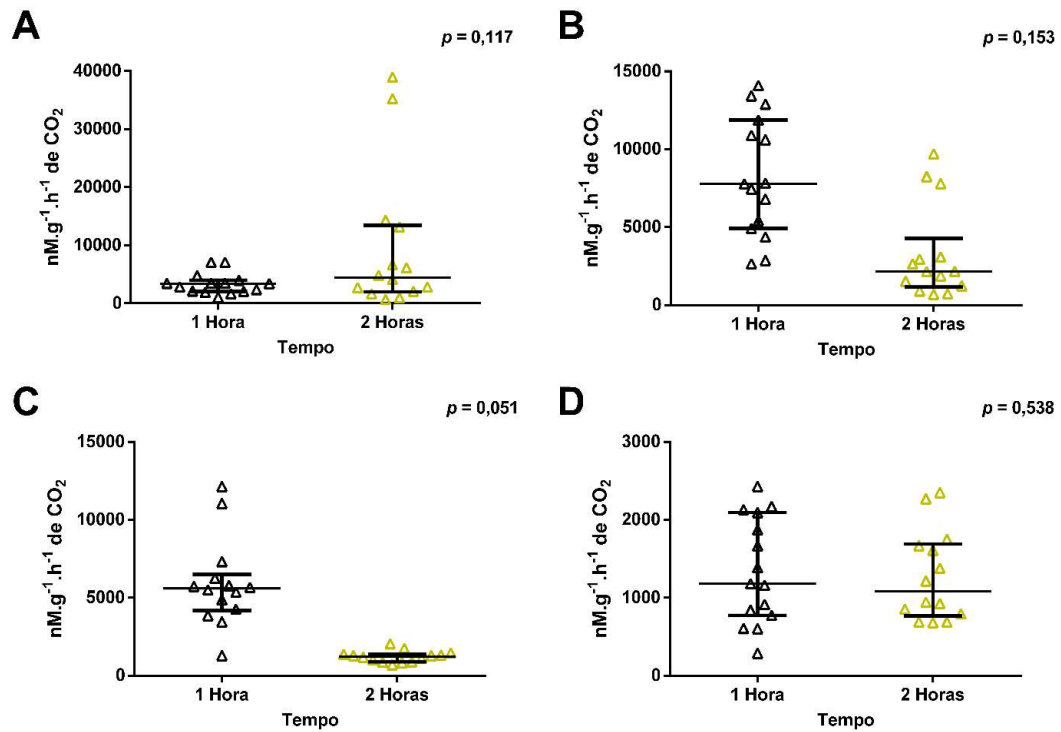


Figura 10: formação de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de $\text{U-}^{14}\text{C}$ -palmitato em diferentes tecidos de ratas incubados por 1 ou 2 horas. A: tecido adiposo branco perirrenal ($n = 14 - 15$). B: tecido adiposo branco subcutâneo ($n = 14 - 15$). C: tecido adiposo marrom ($n = 14 - 15$). D: fígado ($n = 14 - 15$). Os dados estão representados como mediana \pm intervalo interquartilico. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

Tabela 1: formação de $^{14}\text{CO}_2$ a partir $\text{U-}^{14}\text{C}$ -glicose e captação de glicose em diferentes tecidos de ratas expostos a 1 ou 2 horas de incubação.

	1 Hora (n = 15)	2 Horas (n = 14)	p
Oxidação de Glicose ($\text{nM}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ de CO_2)			
TABpr	135,7 (63,8 – 231,5)	268,9 (99,1 – 376,1)	0,151
TABsc	352,2 (287,9 – 428,27)	115,8 (108,6 – 183,1)	0,055
TAM	439,1 (269,9 – 522,3)	445,1 (391 – 605,9)	0,108
Fígado	156,9 (115,6 – 192,7)	98,7 (74 – 125,6)	0,126
Captação de Glicose (razão T/M)			
TABpr	0,8 (0,57 – 1,1)	0,62 (0,55 – 0,89)	0,130
TABsc	1,06 (0,88 – 1,32)	0,79 (0,75 – 0,92)	0,231
TAM	1,54 (1,29 – 1,70)	0,73 (0,58 – 0,82)	0,069
Fígado	0,75 (0,71 – 0,93)	0,55 (0,45 – 0,61)	0,158

Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil. Os resultados o teste de Kruskal-Wallis complementado pelo pós-teste de Dunn. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

Tabela 2: formação de $^{14}\text{CO}_2$ a partir U- ^{14}C -glicose em diferentes tecidos de ratas expostas a 0,1 μM , 1 μM ou 10 μM de liraglutida.

	Controle (n = 5)	0,1 μM (n = 8)	1 μM (n = 8)	10 μM (n = 8)	p
Oxidação de Glicose					
(nM.g⁻¹.h⁻¹ de CO₂)					
TABpr	376,14 (225,61 – 392,34)	88,50 (63,82 – 309,35)	170,74 (89,51 – 228,21)	239,31 (84,46 – 352,68)	0,780
TABsc	250,79 (222,98 – 310,27)	252,39 (149,60 – 326, 26)	241,52 (112,74 – 428,27)	229,25 (136,57 – 471,65)	0,146
TAM	397,29 (358,20 – 637,99)	453,35 (221,92 – 657,94)	412,67 (309,78 – 566,36)	467,37 (424,14 – 499,62)	0,532
Fígado	112,18 (108,74 – 122,55)	89,31 (55,02 – 144,84)	123,85 (84,03 – 170,44)	186,22 (117,66 – 196,48)	0,451
Captação de Glicose					
(razão T/M)					
TABpr	0,68 (0,58 – 0,80)	0,57 (0,42 – 1,07)	0,66 (0,57 – 1,12)	0,80 (0,65 – 0,96)	0,785
TABsc	0,82 (0,75 – 1,37)	0,78 (0,76 – 1,09)	1,06 (1,00 – 1,25)	0,78 (0,68 – 0,97)	0,998
TAM	1,19 (1,03 – 1,23)	1,30 (0,86 – 1,62)	1,16 (0,65 – 1,63)	0,86 (0,57 – 1,24)	0,981
Fígado	0,64 (0,56 – 0,72)	0,63 (0,45 – 0,86)	0,84 (0,58 – 1,02)	0,66 (0,47 – 0,74)	0,218

Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil. Os resultados o teste de Kruskal–Wallis complementado pelo pós–teste de Dunn. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

4.2.2. Artigo produzido a partir do estudo experimental

Título: *Interactions between glucagon like peptide 1 (GLP-1) and estrogens regulates lipid metabolism*

Periódico: *Biochemical Pharmacology*

ISSN: 0006-2952

Qualis: A1

Fator de Impacto: 5.3

Status: Em revisão – Submetido para publicação em 14 de agosto de 2024.

O e-mail confirmando a submissão do artigo está disponível no anexo III deste documento.

Interactions between glucagon like peptide 1 (GLP-1) and estrogens regulates lipid metabolism

Authors: Jorge F. A. Model¹; Rafaella S. Normann¹; Éverton L. Vogt¹; Maiza Von Dentz¹; Marjoriane de Amaral¹; Rui Xu²; Tsvetan Bachvaroff²; Poli Mara Spritzer^{1, 3}; J. Sook Chung²; Anapaula S. Vinagre^{1*}

1 – Department of Physiology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

2 – Institute of Marine and Environmental Technology (IMET), University of Maryland Center for Environmental Science, Baltimore, MD, 21202, USA.

3 – Gynecological Endocrinology Unit, Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.

*Corresponding author: Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Departamento de Fisiologia, Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia Comparada (LaMEC), Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, RS, CEP 90035-003, Brazil. Phone: +55 51 33082064

Abbreviations: BAT, brown adipose tissue; CNS, central nervous system; CPT1, carnitine palmitoyltransferase I; DAVID, Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery; DEGs, differentially expressed genes; DM2, type 2 diabetes mellitus; Er α , estrogen receptor α ; ERK, extracellular signal-regulated kinase; FA, fatty acids; Fasn, fatty acid synthase; GEO, Gene Expression Omnibus; GLP-1, glucagon-like peptide 1; GLP-1R, glucagon-like peptide 1 receptor; GLP-1RA, glucagon-like peptide 1 receptor agonists; GLUT5, glucose transporter 5; GO, Gene Ontology; IR, insulin resistance; KBS, Krebs-Ringer Bicarbonate; KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; LPL, lipoprotein lipase; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; OVR, ovariectomy; PK, protein kinases; WAT, white adipose tissue; prWAT, perirenal white adipose tissue scWAT, subcutaneous white adipose tissue.

Abstract

Obesity, characterized by excessive fat accumulation in white adipose tissue (WAT), is linked to numerous health issues, including insulin resistance (IR), and type 2 diabetes mellitus (DM2). The distribution of adipose tissue differs by sex, with men typically exhibiting android adiposity and pre-menopausal women displaying gynecoid adiposity. After menopause, women have an increased risk of developing android-type obesity, IR, and DM2. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonists (GLP-1RAs) are important in treating obesity and DM2 by regulating insulin secretion, impacting glucose and lipid metabolism. GLP-1Rs are found in various tissues including the pancreas, brain, and adipose tissue. Studies suggest GLP-1RAs and estrogen replacement therapies have similar effects on tissues like the liver, central nervous system, and WAT, probably by converging pathways involving protein kinases.

To investigate these interactions, female rats underwent ovariectomy (OVR) to promote a state of estrogen deficiency. After 20 days, the rats were euthanized and the tissues were incubated with 10 μ M of liraglutide, a GLP-1RA. Results showed significant changes in metabolic parameters: OVR increased lipid catabolism in perirenal WAT and basal lipolysis in subcutaneous WAT, while liraglutide treatment enhanced stimulated lipolysis in subcutaneous WAT. Liver responses included increased stimulated lipolysis with liraglutide. Transcriptome analysis revealed distinct gene expression patterns in WAT of OVR rats and those treated with GLP-1RA, highlighting pathways related to lipid and glucose metabolism. Functional enrichment analysis showed estrogen's pivotal role in these pathways, influencing genes involved in lipid metabolism regulation.

Overall, the study underscores GLP-1RA acting directly on adipose tissues and highlights the complex interactions between GLP-1 and estrogen in regulating metabolism, suggesting potential synergistic therapeutic effects in treating metabolic disorders like obesity and DM2.

Key words: GLP-1; estrogens; ovariectomy; menopause, incretins

5. DISCUSSÃO GERAL

O GLP-1 foi inicialmente identificado como um peptídeo intestinal que ligava ao anticorpo anti-glucagon, tendo seu nome (*glucagon like peptide 1*) derivado destes primeiros estudos (Müller *et al.*, 2019; Samols; Marks, 1967; Unger *et al.*, 1968). Nos anos subseqüentes diversos grupos de pesquisa independentes demonstraram a importância fisiológica deste peptídeo e seu potencial como fármaco (Lund; Goodman; Habener, 1981; Müller *et al.*, 2019; Ørskov *et al.*, 1986). A principal característica do GLP-1, que gerou mais interesse em seu estudo, é a capacidade de amplificar a liberação de insulina estimulada por glicose (Nauck; Müller, 2023). Posteriormente também foi observado que a ativação do GLP-1R no SNC reduz o consumo alimentar (Labouesse *et al.*, 2012; Rüttimeann *et al.*, 2009; Secher *et al.*, 2014). Estes efeitos levaram a formulação de drogas que vem sendo mundialmente usadas com sucesso no tratamento de pessoas com DM2 e obesidade (Tan *et al.*, 2022). Ademais, os GLP-1RAs demonstraram potencial e vem sendo estudados como alternativas para o tratamento de doenças hepáticas, cardíacas e renais (Ferhatbegović; Mršić; Macić-Džanković, 2023; Nevola *et al.*, 2023; Trevella; Ekinci; Maclsaac, 2024). Apesar da importância que as drogas baseadas no GLP-1 adquiriram, parte de sua fisiologia ainda não é bem compreendida, em especial suas ações em animais não humanos/roedores e interações com outros hormônios, como os estrógenos.

No primeiro estudo apresentado nesta tese as informações, tanto sobre a fisiologia quanto farmacologia, disponíveis na literatura em relação ao GLP-1 em cães e gatos foram compiladas e analisadas. Algumas das características mais marcantes do GLP-1 observadas em humanos e roedores também estão presentes em cães e gatos, como a liberação do hormônio pelas células L intestinais, a degradação pela DPP4 e a ação pancreática estimulando a liberação de insulina e inibindo a de glucagon, resultando na redução da glicemia (Damholt; Kofod; Buchan, 1999; Edgerton *et al.*, 2009; Elahi *et al.*, 2014; Nishii *et al.*, 2014; Ohneda *et al.*, 1991; Rudinsky *et al.*, 2015). Entre as características espécie específicas mais destacadas

pode-se citar o aumento na sensibilidade à insulina em cães e o estímulo para a liberação de GLP-1 em cães e gatos (Damholt; Kofod; Buchan, 1999; Elahi *et al.*, 2014; Johnson *et al.*, 2007; McCool *et al.*, 2018). Enquanto humanos e roedores o principal estímulo para a liberação de GLP-1 é o consumo de glicose em gatos é o consumo de aminoácidos (Gilor *et al.*, 2011; McCool *et al.*, 2018). Embora não ainda não haja evidências diretas, é possível que esta diferença esteja relacionada a dieta carnívora restrita dos felinos. Já em cães o principal estímulo é o GIP liberado em porções mais proximais do intestino, algo que também ocorre em humanos e roedores, porém este mecanismo parece ser mais importante em cães (Damholt; Kofod; Buchan, 1999; Müller *et al.*, 2019).

Em função da semelhança da DM em gatos à DM2 humana, o uso dos GLP-1RA em felinos também gera muito interesse (Gilor *et al.*, 2016). Todavia a literatura em que este uso é explorando é bastante escassa. Apenas três estudos foram encontrados na revisão realizada, e em nenhum o GLP-1RA foi utilizado como tratamento único, ele sempre foi associado à administração de insulina (Krämer *et al.*, 2020; Riederer *et al.*, 2016; Scuderi *et al.*, 2018). Os principais achados foram a diminuição da dose de insulina necessária para manutenção da normoglicemia e da variabilidade glicêmica (Krämer *et al.*, 2020; Riederer *et al.*, 2016; Scuderi *et al.*, 2018). Em cães também foram encontrados poucos estudos (quatro) com animais DM tratados com GLP-1RA (Freyse *et al.*, 1999; Ionut *et al.*, 2016; Oda *et al.*, 2013; Sandhu *et al.*, 1999). Os principais achados destes trabalhos foram a redução da glicemia e o aumento da captação periférica de glicose (Freyse *et al.*, 1999; Ionut *et al.*, 2016; Oda *et al.*, 2013; Sandhu *et al.*, 1999). Nas duas espécies, os resultados encontrados foram positivos, dando embasamento ao uso de GLP-1RA no tratamento de DM. Todavia, a pequena quantidade de evidências disponíveis (quantidade de trabalhos publicados e *n* amostral destes estudos) é uma questão que deve ser considerada.

Outros pontos envolvendo o uso de GLP-1RA em cães e gatos também podem ser preocupantes, como a possibilidade do desenvolvimento de tumores e pancreatite (Cao; Yang; Zhou, 2019; DeVries; Rosenstock, 2017; Monami *et al.*, 2017). Em humanos sabe-se que o uso de DPP4i aumenta levemente o risco de

pancreatite (de 0,067 para 0,117), algo que poderia ser especialmente preocupante para cães, visto que ao menos parte dos casos de DM nesta espécie podem ser originados por pancreatites (Abd El Aziz *et al.*, 2020; DeVries; Rosenstock, 2017; Gilor *et al.*, 2016). Também em humanos os GLP-1RA foram relacionados ao desenvolvimento de diferentes tipos de tumores, todavia os estudos mais recentes não encontraram evidências desta relação (Cao; Yang; Zhou, 2019; Monami *et al.*, 2017). Por fim, a castração também é um fator a ser considerado. Trabalhos recentes vêm demonstrando que a ação de estrógenos e andrógenos pode modular os efeitos do GLP-1 em células β pancreáticas, TAB entre outros tecidos (Handgraaf *et al.*, 2018; Maske *et al.*, 2017; Model *et al.*, 2021a; Rowlands *et al.*, 2018). Apesar desta interação ainda não ter sido explorada em animais domésticos ela pode interferir na utilização dos GLP-1RA.

A interação entre o GLP-1 e esteroides sexuais, especialmente os estrógenos, vem sendo demonstrada em trabalhos de diferentes autores e foi explorada nesta tese (Handgraaf *et al.*, 2018; Maske *et al.*, 2017; Model *et al.*, 2021a). Diferentes depósitos de TAB, além de TAM e fígado obtidos de ratas SHAM e OVR foram incubados na presença de um GLP-1RA (ação aguda) ou apenas com solução fisiológica. Também foram reanalisados dados de transcriptoma de roedores fêmeas OVR ou tratadas com GLP-1RA. Não foi observada nenhuma alteração significativa no BAT. A ovariectomia também não causou nenhuma alteração no fígado, enquanto o tratamento com liraglutida aumentou a lipólise hepática apenas quando estimulado com adrenalina.

Nos dois depósitos de tecido adiposo estudados os principais resultados encontrados envolvem o metabolismo de lipídeos, com as intervenções apresentando efeitos específicos em cada depósito (um subcutâneo e um visceral), algo esperado dadas as diferenças entre o TAB de diferentes origens (Cinti, 2018). No TABpr o principal achado foi um aumento no catabolismo lipídico em ratas OVR, com elevação na oxidação do palmitato e na lipólise, tanto basal quanto estimulada pela adrenalina. Estes resultados podem ser atribuídos à diminuição da ação antilipolítica dos estrogênios e consequente aumento da lipólise que, por sua vez, aumenta a formação de ácidos graxos que ativam da carnitina palmitoiltransferase 1

estimulando a β -oxidação mitocondrial (Cho; Patel; Rajbhandari, 2023; Katzer *et al.*, 2021; Luglio, 2014; Schlaepfer; Joshi, 2020). A liraglutida aumentou a lipólise estimulada pela adrenalina e inibiu a síntese de lipídios a partir da glicose, o que pode ser atribuído a sua ação clássica, agindo via formação de AMPc e ativação da PKA (Rowlands *et al.*, 2018). Em adipócitos, a PKA fosforila enzimas lipolíticas como a perilipina 1 e a lipase sensível a hormônios (Cho; Patel; Rajbhandari, 2023).

No TABsc o tratamento com liraglutida aumentou a lipólise estimulada pela adrenalina e inibiu a síntese de lipídios a partir da glicose. O aumento na lipólise pode ser explicado pela ação clássica do GLP-1R via PKA (Cho; Patel; Rajbhandari, 2023). Já foi demonstrado que o tratamento com liraglutida em adipócitos diferenciados reduziu a expressão de enzimas envolvidas na lipogênese, como a sintase de ácidos graxos, em um mecanismo que envolve ativação de cinases como PKA e ERK (Chen *et al.*, 2017). Considerando as alterações encontradas no metabolismo lipídico do TABsc, decidimos avaliar a expressão de *Ppar γ* , um regulador central da adipogênese que pode levar ao aumento do armazenamento lipídico (Ma *et al.*, 2018). A ovariectomia levou a um aumento na expressão do mRNA de *Ppar γ* e o tratamento com GLP-1RA reduziu-a em ratas OVR para o nível dos controles. O E2 é conhecido por inibir a lipogênese induzida pelo *Ppar γ* , indicando que os GLP-1RAs podem ajudar a reverter o acúmulo de lipídios causado pela ovariectomia (Jeong; Yoon, 2011; Model *et al.*, 2021a).

O principal mecanismo de ação dos estrógenos é a ligação a receptores que alteram a transcrição de determinados genes (Alemany, 2021). Embora o mecanismo clássico de ação do GLP-1 envolva a fosforilação de proteínas levando a sensibilização de canais iônicos, sabe-se que a ativação do GLP-1R também pode induzir alterações transcricionais (Drucker *et al.*, 1987; Müller *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 1995). Como ao menos parte dos efeitos da baixa concentração de estrógenos induzida pela ovariectomia no TAB foi revertida pelo uso de GLP-1RA, investigamos se esse efeito poderia ser causado pela regulação da transcrição gênica. Para isto este trabalho explorou dados publicados comparando os efeitos do tratamento de GLP-1RAs e castração nos transcriptomas TAB de camundongos fêmeas.

O tratamento com GLP-1RA levou a menos alterações na expressão gênica do que a ovariectomia, possivelmente devido à baixa expressão de GLP-1R em adipócitos maduros. Por outro lado, os ERs são altamente expressos no TAB, e o E2 desempenha papéis cruciais neste tecido, como proliferação de adipócitos, sensibilidade à insulina, secreção de adipocina e inflamação (Kuryłowicz, 2023; Steiner; Berry, 2022). A redução ou ausência de estrogênio resultou em alterações significativas na expressão gênica no TAB. A análise de enriquecimento demonstrou DEGs negativos estavam principalmente relacionados ao metabolismo de lipídios ou glicose, confirmando o papel fundamental dos estrógenos na regulação do metabolismo do TAB (Kuryłowicz, 2023; Steiner; Berry, 2022). Conforme discutido anteriormente, o E2 inibe a lipogênese ao atuar no *Ppar γ* e seus genes alvo implicados nas vias lipogênicas (Jeong; Yoon, 2011). Este mecanismo envolve a repressão da transcrição do gene e atividade da lipoproteína lipase, reduzindo assim a captação de ácidos graxos e a regulação positiva de receptores adrenérgicos $\alpha 2$ antilipolíticos (Jeong; Yoon, 2011; Kuryłowicz, 2023; Pedersen *et al.*, 2004).

Embora os efeitos fisiológicos do GLP-1 e do E2 sejam comparáveis no TAB, apenas dois genes mostraram expressão diferencial em ambas as condições. O gene *Slc2a5*, regulado negativamente por ambos os tratamentos, codifica o GLUT5, um transportador de membrana que medeia a difusão facilitada pela frutose (Song; Mao; Wei, 2023). O metabolismo da frutose está potencialmente associado a doenças metabólicas devido a não estimular a secreção de insulina, leptina ou outros hormônios da saciedade, e por ser continuamente captada e metabolizada no fígado, levando ao aumento da lipogênese e, eventualmente, à doença hepática gordurosa não alcoólica (Zwarts *et al.*, 2019). No TAB, o GLUT5 está envolvido na diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos e está associado à obesidade visceral (Du; Heaney, 2012). O outro DEG foi o *Tcf20*, regulado positivamente pela ovariectomia e regulado negativamente pelo tratamento com GLP-1RA. O *Tcf20* codifica o fator de transcrição 20, uma proteína altamente expressa no cérebro que atua como um coativador de fatores de transcrição e regula a diferenciação precoce dos pré-adipócitos 3T3-L1 (Gburcik *et al.*, 2005; Hakim-Weber *et al.*, 2011; Rekdal; Sjøttem; Johansen, 2000).

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Apesar do uso disseminado de GLP-1RAs, questões importantes sobre a fisiologia desta incretina, tanto em humanos quanto em cães e gatos, seguem em aberto. A revisão bibliográfica realizada demonstrou que as ações conhecidas do GLP-1 em gatos são bastante similares aquelas em humanos e roedores, enquanto cães apresentam ao menos uma característica espécie específica (aumento na sensibilidade à insulina). Embora os resultados nas duas espécies sejam promissores, o número de estudos disponíveis na literatura e as limitações deles são aspectos importantes. Para que se possa garantir a eficácia e a segurança dos GLP-1RAs para o tratamento de DM em cães e gatos é necessário que sejam realizados novos trabalhos com número amostral adequado e que considerem fatores como idade, raça, sexo e castração.

A castração é uma das questões importantes que precisa ser avaliada em cães e gatos, mas mesmo em relação a humanos ainda não se compreende completamente a relação entre o GLP-1 e os esteroides sexuais. A seção experimental desta tese investigou os efeitos da ovariectomia na interação entre GLP-1 e metabolismo de lipídios e glicose em diferentes tecidos. Os resultados demonstram que os GLP-1RAs podem atuar diretamente em tecidos como fígado e tecido adiposo. Também foi observado que a ausência de estrogênios e o GLP-1RA afetaram mais os diferentes depósitos do TAB do que o TAM ou o fígado. Tanto no TABsc quanto no TABpr, as intervenções resultaram em mudanças significativas especialmente no metabolismo lipídico. Destaca-se o aumento na expressão de *Ppar γ* , estimulador da lipogênese, causado pela ovariectomia, e a redução da expressão deste gene causada pela liraglutida no TABsc. A análise do transcriptoma revelou que, ao contrário do GLP-1RA, a ovariectomia promoveu alterações significativas na transcrição genica no TAB, indicando que os efeitos sistêmicos semelhantes do GLP-1 e dos estrogênios não derivam das mesmas alterações transcricionais. Os resultados obtidos fornecem informações importantes sobre os mecanismos pelos quais os estrogênios e o GLP-1 interagem para modular o metabolismo energético,

destacando potenciais estratégias terapêuticas para condições como obesidade e DM2 no contexto de deficiência de estrogênio.

7. REFERÊNCIAS

ABD EL AZIZ, M. *et al.* Incretin-based glucose-lowering medications and the risk of acute pancreatitis and malignancies: a meta-analysis based on cardiovascular outcomes trials. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 699–704, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dom.13924>.

AJAYI, A. F.; AKHIGBE, R. E. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. **Fertility Research and Practice**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 5, 2020.

AL MUSAIMI, O. Exploring FDA-Approved Frontiers: Insights into Natural and Engineered Peptide Analogues in the GLP-1, GIP, GHRH, CCK, ACTH, and α -MSH Realms. **Biomolecules**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 264, 2024.

ALEMANY, M. Estrogens and the regulation of glucose metabolism. **World Journal of Diabetes**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 1622–1654, 2021.

ANDERSEN, A. *et al.* Glucagon-like peptide 1 in health and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 14, n. 7, p. 390–403, 2018.

ANDRIKOU, E. *et al.* GLP-1 receptor agonists and cardiovascular outcome trials: An update. **Hellenic Journal of Cardiology**, [s. l.], v. 60, n. 6, p. 347–351, 2019.

ATHAUDA, D.; FOLTYNIE, T. The glucagon-like peptide 1 (GLP) receptor as a therapeutic target in Parkinson's disease: mechanisms of action. **Drug Discovery**

Today, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 802–818, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359644616300010>.

AU, A. *et al.* Estrogens, inflammation and cognition. **Frontiers in Neuroendocrinology**, [s. l.], v. 40, p. 87–100, 2016.

BAGGIO, L. L.; DRUCKER, D. J. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 132, n. 6, p. 2131–2157, 2007.

BAN, K. *et al.* Glucagon-Like Peptide (GLP)-1(9-36)Amide-Mediated Cytoprotection Is Blocked by Exendin(9-39) Yet Does Not Require the Known GLP-1 Receptor. **Endocrinology**, [s. l.], v. 151, n. 4, p. 1520–1531, 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2009-1197>.

BEIROA, D. *et al.* GLP-1 Agonism Stimulates Brown Adipose Tissue Thermogenesis and Browning Through Hypothalamic AMPK. **Diabetes**, [s. l.], v. 63, n. 10, p. 3346–3358, 2014. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db14-0302>.

BJORNVAD, C. R. *et al.* Obesity and sex influence insulin resistance and total and multimer adiponectin levels in adult neutered domestic shorthair client-owned cats. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 47, p. 55–64, 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0739724013001525>.

BOMBERG, E. *et al.* The Financial Costs, Behaviour and Psychology of Obesity: A One Health Analysis. **Journal of Comparative Pathology**, [s. l.], v. 156, n. 4, p. 310–325, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997517301238>.

BOUTARI, C.; DEMARSILIS, A.; MANTZOROS, C. S. Obesity and diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, [s. l.], v. 202, p. 110773, 2023.

BROWN, E. T. *et al.* Anesthesia can cause sustained hyperglycemia in C57/BL6J mice. **Visual neuroscience**, [s. l.], v. 22, n. 5, p. 615–618, 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16332272>.

BUENO, D.; AZZOLIN, I. R.; PERRY, L. S. Ontogenetic study of glucose and lactate utilization by rat cerebellum slices. **Med Sci Res**, [s. l.], v. 22, p. 631–633, 1994.

BULLOCK, B. P.; HELLER, R. S.; HABENER, J. F. Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide-1 receptor. **Endocrinology**, [s. l.], v. 137, n. 7, p. 2968–2978, 1996. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo.137.7.8770921>.

BULUN, S. E. Physiology and Pathology of the Female Reproductive Axis. *In*: SHLOMO MELMED *et al.* (org.). **WILLIAMS TEXTBOOK OF ENDOCRINOLOGY**. 13. ed. Philadelphia: Elsevier, 2016. p. 590–663.

BÜNEMANN, M. *et al.* Functional Regulation of L-type Calcium Channels via Protein Kinase A-mediated Phosphorylation of the $\beta 2$ Subunit. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 274, n. 48, p. 33851–33854, 1999. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002192581953469X>. Acesso em: 25 abr. 2021.

BURMEISTER, M. A. *et al.* Acute activation of central GLP-1 receptors enhances hepatic insulin action and insulin secretion in high-fat-fed, insulin resistant mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 302, n. 3, p. E334–E343, 2012. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00409.2011>.

BUTEAU, J. *et al.* Glucagon-Like Peptide 1 Induces Pancreatic β -Cell Proliferation Via Transactivation of the Epidermal Growth Factor Receptor. **Diabetes**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 124–132, 2003. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.52.1.124>.

BUTEAU, J. *et al.* Glucagon-like peptide-1 prevents beta cell glucolipototoxicity. **Diabetologia**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 806–815, 2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-004-1379-6>. Acesso em: 26 abr. 2021.

CAMPOREZ, J. P. G. *et al.* Cellular Mechanism by Which Estradiol Protects Female Ovariectomized Mice From High-Fat Diet-Induced Hepatic and Muscle Insulin Resistance. **Endocrinology**, [s. l.], v. 154, n. 3, p. 1021–1028, 2013.

CAO, C.; YANG, S.; ZHOU, Z. GLP-1 receptor agonists and risk of cancer in type 2 diabetes: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. **Endocrine**, [s. l.], v. 66, n. 2, p. 157–165, 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12020-019-02055-z>.

CHALLA, T. D. *et al.* Regulation of Adipocyte Formation by GLP-1/GLP-1R Signaling. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 287, n. 9, p. 6421–6430, 2012. Disponível em: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M111.310342>.

CHAMBERS, A. P. *et al.* The Role of Pancreatic Preproglucagon in Glucose Homeostasis in Mice. **Cell Metabolism**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 927-934.e3, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413117300980>.

CHEN, J. *et al.* GLP-1/GLP-1R Signaling in Regulation of Adipocyte Differentiation and Lipogenesis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. 1165–1176, 2017.

CHO, C. H.; PATEL, S.; RAJBHANDARI, P. Adipose tissue lipid metabolism: lipolysis. **Current Opinion in Genetics & Development**, [s. l.], v. 83, p. 102114, 2023.

CINTI, S. Adipose Organ Development and Remodeling. *In*: COMPREHENSIVE PHYSIOLOGY. [S. l.]: Wiley, 2018. p. 1357–1431. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.c170042>.

COZER, A. G. *et al.* Stanniocalcin 1 Enhances Carbon Flux from Glucose to Lipids in White Retroperitoneal Adipose Tissue in the Fed Rat. **Lipids**, [s. l.], v. 51, n. 11, p. 1303–1307, 2016. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1007/s11745-016-4202-5>.

DAI, C. *et al.* Age-dependent human β cell proliferation induced by glucagon-like peptide 1 and calcineurin signaling. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 127, n. 10, p. 3835–3844, 2017. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/91761>.

DAMHOLT, A. B.; KOFOD, H.; BUCHAN, A. M. J. Immunocytochemical evidence for a paracrine interaction between GIP and GLP-1-producing cells in canine small intestine. **Cell and Tissue Research**, [s. l.], v. 298, n. 2, p. 287–293, 1999. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s004419900093>.

DE GODOY, M. R. C.; SWANSON, K. S. COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Nutrigenomics: Using gene expression and molecular biology data to understand pet obesity. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 91, n. 6, p. 2949–2964, 2013.

DE HEER, J. *et al.* Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, inhibits glucagon secretion via somatostatin (receptor subtype 2) in the perfused rat pancreas. **Diabetologia**, [s. l.], v. 51, n. 12, p. 2263–2270, 2008. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-008-1149-y>.

DEACON, C. F. *et al.* Both Subcutaneously and Intravenously Administered Glucagon-Like Peptide I Are Rapidly Degraded From the NH₂-Terminus in Type II Diabetic Patients and in Healthy Subjects. **Diabetes**, [s. l.], v. 44, n. 9, p. 1126–1131, 1995. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diab.44.9.1126>.

DEACON, C. *et al.* Preservation of active incretin hormones by inhibition of dipeptidyl peptidase IV suppresses meal-induced incretin secretion in dogs. **Journal of Endocrinology**, [s. l.], v. 172, n. 2, p. 355–362, 2002. Disponível em: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/172/2/355.xml>.

DECARA, J. *et al.* Cooperative role of the glucagon-like peptide-1 receptor and β 3-adrenergic-mediated signalling on fat mass reduction through the downregulation of PKA/AKT/AMPK signalling in the adipose tissue and muscle of rats. **Acta**

Physiologica, [s. l.], v. 222, n. 4, p. e13008, 2017. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/apha.13008>.

DELGADO, E. *et al.* Glucagon-like peptide-1 binding to rat skeletal muscle. **Peptides**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 225–229, 1995. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0196978194001758>.

D'EON, T. M. *et al.* Estrogen regulation of adiposity and fuel partitioning: Evidence of genomic and non-genomic regulation of lipogenic and oxidative pathways. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 280, n. 43, p. 35983–35991, 2005.

DEVRIES, J. H.; ROSENSTOCK, J. DPP-4 Inhibitor–Related Pancreatitis: Rare but Real!. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 161–163, 2017. Disponível em: <http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dci16-0035>.

DICKSON, S. L. *et al.* The Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1) Analogue, Exendin-4, Decreases the Rewarding Value of Food: A New Role for Mesolimbic GLP-1 Receptors. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 32, n. 14, p. 4812–4820, 2012. Disponível em: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.6326-11.2012>.

DING, X. *et al.* Exendin-4, a Glucagon-Like Protein-1 (GLP-1) Receptor Agonist, Reverses Hepatic Steatosis in ob/ob Mice. **Hepatology**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 173–181, 2010.

DING, W.-G. *et al.* Glucagon-Like Peptide I and Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Stimulate Ca²⁺-Induced Secretion in Rat β -Cells by a

Protein Kinase A-Mediated Mechanism. **Diabetes**, [s. l.], v. 46, n. 5, p. 792–800, 1997. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diab.46.5.792>.

DIZ-CHAVES, Y. *et al.* Anti-Inflammatory Effects of GLP-1 Receptor Activation in the Brain in Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 17, p. 9583, 2022.

DRUCKER, D. J. *et al.* Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 84, n. 10, p. 3434–3438, 1987. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/84/10/3434>. Acesso em: 25 abr. 2021.

DRUCKER, D. J. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. **Cell Metabolism**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 740–756, 2018a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.001>.

DRUCKER, D. J. The Ascending GLP-1 Road From Clinical Safety to Reduction of Cardiovascular Complications. **Diabetes**, [s. l.], v. 67, n. 9, p. 1710–1719, 2018b. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dbi18-0008>.

DRUCKER, D. J.; HOLST, J. J. The expanding incretin universe: from basic biology to clinical translation. **Diabetologia**, [s. l.], v. 66, n. 10, p. 1765–1779, 2023.

DU, H. *et al.* NMR Based Metabolomics Comparison of Different Blood Sampling Techniques in Awake and Anesthetized Rats. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 14, p. 2542, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/14/2542>.

DU, L.; HEANEY, A. P. Regulation of Adipose Differentiation by Fructose and GluT5. **Molecular Endocrinology**, [s. l.], v. 26, n. 10, p. 1773–1782, 2012.

EDGERTON, D. S. *et al.* Inhibition of Dipeptidyl Peptidase-4 by Vildagliptin During Glucagon-Like Peptide 1 Infusion Increases Liver Glucose Uptake in the Conscious Dog. **Diabetes**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 243–249, 2009. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db08-0515>.

EKBERG, J. H. *et al.* GPR119, a Major Enteroendocrine Sensor of Dietary Triglyceride Metabolites Coacting in Synergy With FFA1 (GPR40). **Endocrinology**, [s. l.], v. 157, n. 12, p. 4561–4569, 2016. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2016-1334>. Acesso em: 7 abr. 2021.

ELAHI, D. *et al.* GLP-1(32–36)amide, a novel pentapeptide cleavage product of GLP-1, modulates whole body glucose metabolism in dogs. **Peptides**, [s. l.], v. 59, p. 20–24, 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196978114001776>.

ELIASCHEWITZ, F. G.; CANANI, L. H. Advances in GLP-1 treatment: focus on oral semaglutide. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 99, 2021.

EZHILARASAN, D. Critical role of estrogen in the progression of chronic liver diseases. **Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 429–434, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.hbpd.2020.03.011>.

FAULDS, M. H. *et al.* The diversity of sex steroid action: regulation of metabolism by estrogen signaling. **Journal of Endocrinology**, [s. l.], v. 212, n. 1, p. 3–12, 2012. Disponível em: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/212/1/3.xml>.

FERHATBEGOVIĆ, L.; MRŠIĆ, D.; MACIĆ-DŽANKOVIĆ, A. The benefits of GLP1 receptors in cardiovascular diseases. **Frontiers in Clinical Diabetes and Healthcare**, [s. l.], v. 4, 2023.

FINAN, B. *et al.* Targeted estrogen delivery reverses the metabolic syndrome. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 1847–1856, 2012. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nm.3009>.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

FREYSE, E.-J. *et al.* Glucagon-like peptide-1 has no insulin-like effects in insulin-dependent diabetic dogs maintained normoglycemic and normoinsulinemic. **Metabolism**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 134–137, 1999. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049599900239>.

FRIED, S. K.; LEE, M.-J.; KARASTERGIOU, K. Shaping fat distribution: New insights into the molecular determinants of depot- and sex-dependent adipose biology. **Obesity**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 1345–1352, 2015. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/oby.21133>.

GAGNON, J. *et al.* Ghrelin is a novel regulator of GLP-1 secretion. **Diabetes**, [s. l.], v. 64, n. 5, p. 1513–1521, 2015. Disponível em: <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/64/5/1513>. Acesso em: 7 abr. 2021.

GALLWITZ, B. Clinical perspectives on the use of the GIP/GLP-1 receptor agonist tirzepatide for the treatment of type-2 diabetes and obesity. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 13, 2022.

GAO, H. *et al.* GLP-1 amplifies insulin signaling by up-regulation of IR β , IRS-1 and Glut4 in 3T3-L1 adipocytes. **Endocrine**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 90–95, 2007.

GAO, H. *et al.* Long-Term Administration of Estradiol Decreases Expression of Hepatic Lipogenic Genes and Improves Insulin Sensitivity in ob/ob Mice: A Possible Mechanism Is through Direct Regulation of Signal Transducer and Activator of Transcription 3. **Molecular Endocrinology**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 1287–1299, 2006.

GBURCIK, V. *et al.* SPBP Is a Phosphoserine-Specific Repressor of Estrogen Receptor α . **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 25, n. 9, p. 3421–3430, 2005.

GEDULIN, B. R. *et al.* Role of endogenous amylin in glucagon secretion and gastric emptying in rats demonstrated with the selective antagonist, AC187. **Regulatory Peptides**, [s. l.], v. 137, n. 3, p. 121–127, 2006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167011506000954>.

GEISLER, J. G. *et al.* Estrogen Can Prevent or Reverse Obesity and Diabetes in Mice Expressing Human Islet Amyloid Polypeptide. **Diabetes**, [s. l.], v. 51, n. 7, p. 2158–2169, 2002.

GERMAN, A. J. Obesity Prevention and Weight Maintenance After Loss. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [s. l.], v. 46, n. 5, p. 913–929, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561616300274>.

GILOR, C. *et al.* The incretin effect in cats: comparison between oral glucose, lipids, and amino acids. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 40, n. 4, p. 205–212, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0739724011000038>.

GILOR, C. *et al.* What's in a Name? Classification of Diabetes Mellitus in Veterinary Medicine and Why It Matters. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 927–940, 2016. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/jvim.14357>.

GIRALT, M.; VERGARA, P. Sympathetic pathways mediate GLP-1 actions in the gastrointestinal tract of the rat. **Regulatory Peptides**, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 19–25, 1998. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016701159800010X>.

GOURDY, P. *et al.* Estrogen Therapy Delays Autoimmune Diabetes and Promotes the Protective Efficiency of Natural Killer T-Cell Activation in Female Nonobese Diabetic Mice. **Endocrinology**, [s. l.], v. 157, n. 1, p. 258–267, 2016.

GRECO, E. *et al.* GLP-1 Receptor Agonists and Kidney Protection. **Medicina**, [s. l.], v. 55, n. 6, p. 233, 2019.

GUDMUNDSDOTTIR, V. *et al.* Integrative network analysis highlights biological processes underlying GLP-1 stimulated insulin secretion: A DIRECT study. **PloS one**, United States, v. 13, n. 1, p. e0189886, 2018.

HAKIM-WEBER, R. *et al.* Transcriptional regulatory program in wild-type and retinoblastoma gene-deficient mouse embryonic fibroblasts during adipocyte differentiation. **BMC Research Notes**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 157, 2011.

HANDGRAAF, S. *et al.* 17- β Estradiol regulates proglucagon-derived peptide secretion in mouse and human α - and L cells. **JCI Insight**, [s. l.], v. 3, n. 7, 2018. Disponível em: <https://insight.jci.org/articles/view/98569>.

HANSEN, L. *et al.* Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. **Endocrinology**, [s. l.], v. 140, n. 11, p. 5356–5363, 1999. Disponível em: Acesso em: 7 abr. 2021.

HAO, T. *et al.* Glucagon-like peptide 1 receptor agonist ameliorates the insulin resistance function of islet β cells via the activation of PDX-1/JAK signaling transduction in C57/BL6 mice with high-fat diet-induced diabetes. **International Journal of Molecular Medicine**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 1029–1036, 2017.

HAYES, M. R.; SKIBICKA, K. P.; GRILL, H. J. Caudal Brainstem Processing Is Sufficient for Behavioral, Sympathetic, and Parasympathetic Responses Driven by Peripheral and Hindbrain Glucagon-Like-Peptide-1 Receptor Stimulation. **Endocrinology**, [s. l.], v. 149, n. 8, p. 4059–4068, 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/149/8/4059/2455641>.

HE, Q. *et al.* GLP-1 analogue improves hepatic lipid accumulation by inducing autophagy via AMPK/mTOR pathway. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 476, n. 4, p. 196–203, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.05.086>.

HERMAN, J. P. Regulation of Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Responses to Stressors by the Nucleus of the Solitary Tract/Dorsal Vagal Complex. **Cellular and Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 25–35, 2018. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10571-017-0543-8>.

HOENIG, M. *et al.* Cats differ from other species in their cytokine and antioxidant enzyme response when developing obesity. **Obesity**, [s. l.], p. n/a-n/a, 2013. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/oby.20306>.

HOLZ, G. G. Epac: A New cAMP-Binding Protein in Support of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor-Mediated Signal Transduction in the Pancreatic β -Cell. **Diabetes**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 5–13, 2004. Disponível em: <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/53/1/5>. Acesso em: 25 abr. 2021.

HSU, T. M. *et al.* Hippocampal GLP-1 Receptors Influence Food Intake, Meal Size, and Effort-Based Responding for Food through Volume Transmission. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 327–337, 2015. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/npp2014175>.

HUANG, C.-K. *et al.* Androgen receptor (AR) in cardiovascular diseases. **Journal of Endocrinology**, [s. l.], v. 229, n. 1, p. R1–R16, 2016. Disponível em: <http://joe.endocrinology-journals.org/lookup/doi/10.1530/JOE-15-0518>.

HUANG, D. W.; SHERMAN, B. T.; LEMPICKI, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. **Nature Protocols**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 44–57, 2009.

HUNTER, K.; HÖLSCHER, C. Drugs developed to treat diabetes, liraglutide and lixisenatide, cross the blood brain barrier and enhance neurogenesis. **BMC Neuroscience**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 33, 2012. Disponível em: <https://bmcneurosci.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2202-13-33>.

I'MERYÜZ, N. *et al.* Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s. l.], v. 273, n. 4, p. G920–G927, 1997. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.1997.273.4.G920>.

IDRIS, A. I. Ovariectomy/Orchidectomy in Rodents. *In*: METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY. [S. l.: s. n.], 2012. v. 531, p. 545–551. Disponível em: <http://books.google.com/books?id=Ku2wPAAACAAJ>.

IKEZAWA, Y. *et al.* Glucagon-like peptide-1 inhibits glucagon-induced glycogenolysis in perivenous hepatocytes specifically. **Regulatory Peptides**, [s. l.], v. 111, n. 1–3, p. 207–210, 2003.

IONUT, V. *et al.* Exenatide Treatment Alone Improves β -Cell Function in a Canine Model of Pre-Diabetes. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 7, p. e0158703, 2016. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0158703>.

JENSEN, C. B. *et al.* Characterization of the Glucagonlike Peptide-1 Receptor in Male Mouse Brain Using a Novel Antibody and In Situ Hybridization. **Endocrinology**,

[s. l.], v. 159, n. 2, p. 665–675, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/159/2/665/4582238>.

JEONG, S.; YOON, M. 17 β -Estradiol inhibition of PPAR γ -induced adipogenesis and adipocyte-specific gene expression. **Acta Pharmacologica Sinica**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 230–238, 2011.

JHALA, U. S. cAMP promotes pancreatic β -cell survival via CREB-mediated induction of IRS2. **Genes & Development**, [s. l.], v. 17, n. 13, p. 1575–1580, 2003. Disponível em: <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.1097103>.

JOHNSON, K. M. S. *et al.* Intraportal GLP-1 infusion increases nonhepatic glucose utilization without changing pancreatic hormone levels. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 293, n. 4, p. E1085–E1091, 2007. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00275.2007>.

JOHNSON, J. L.; GREAVES, L.; REPTA, R. Better science with sex and gender: Facilitating the use of a sex and gender-based analysis in health research. **International Journal for Equity in Health**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 14, 2009.

KANG, G. *et al.* Role of the cAMP sensor Epac as a determinant of K ATP channel ATP sensitivity in human pancreatic β -cells and rat INS-1 cells. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 586, n. 5, p. 1307–1319, 2008. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.2007.143818>. Acesso em: 25 abr. 2021.

KAPODISTRIA, K. *et al.* Liraglutide, a human glucagon-like peptide-1 analogue, stimulates AKT-dependent survival signalling and inhibits pancreatic β -cell apoptosis.

Journal of Cellular and Molecular Medicine, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 2970–2980, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jcmm.13259>.

KATO, M. *et al.* Low-molecular fraction of wheat protein hydrolysate stimulates glucagon-like peptide-1 secretion in an enteroendocrine L cell line and improves glucose tolerance in rats. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 37, p. 37–45, 2017. Disponível em: Acesso em: 7 abr. 2021.

KATZER, K. *et al.* Lipedema and the Potential Role of Estrogen in Excessive Adipose Tissue Accumulation. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 21, p. 11720, 2021.

KAUTZKY-WILLER, A.; LEUTNER, M.; HARREITER, J. Sex differences in type 2 diabetes. **Diabetologia**, [s. l.], v. 66, n. 6, p. 986–1002, 2023.

KAWAKUBO, M. *et al.* Dipeptidyl peptidase-4 inhibition prevents nonalcoholic steatohepatitis–associated liver fibrosis and tumor development in mice independently of its anti-diabetic effects. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 983, 2020.

KHALIFA, O. *et al.* Exendin-4 alleviates steatosis in an in vitro cell model by lowering FABP1 and FOXA1 expression via the Wnt/-catenin signaling pathway. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 2226, 2022.

KHARROUBI, A. T.; DARWISH, H. M. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. **World Journal of Diabetes**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. 850, 2015. Disponível em: <http://www.wjgnet.com/1948-9358/full/v6/i6/850.htm>.

KIM, D. *et al.* Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. **Nature Biotechnology**, [s. l.], v. 37, n. 8, p. 907–915, 2019.

KIM, J. H. *et al.* Tissue-selective estrogen complexes with bazedoxifene prevent metabolic dysfunction in female mice. **Molecular Metabolism**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 177–190, 2014.

KIM, J. H.; CHO, H. T.; KIM, Y. J. The role of estrogen in adipose tissue metabolism: insights into glucose homeostasis regulation. **Endocrine journal**, [s. l.], v. 61, n. 11, p. 1055–1067, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25109846>.

KITAMURA, T. *et al.* The Effects of Sevoflurane and Propofol on Glucose Metabolism Under Aerobic Conditions in Fed Rats. **Anesthesia & Analgesia**, [s. l.], v. 109, n. 5, p. 1479–1485, 2009. Disponível em: <https://journals.lww.com/00000539-200911000-00023>.

KITSON, A. P. *et al.* Prevention of hyperphagia prevents ovariectomy-induced triacylglycerol accumulation in liver, but not plasma. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 35, n. 12, p. 1085–1094, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2015.09.013>.

KLEINERT, M. *et al.* Animal models of obesity and diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 140–162, 2018. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrendo.2017.161>.

KNUDSEN, L. B.; LAU, J. The Discovery and Development of Liraglutide and Semaglutide. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 10, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2019.00155/full>.

KOOIJMAN, S. *et al.* Central GLP-1 receptor signalling accelerates plasma clearance of triacylglycerol and glucose by activating brown adipose tissue in mice. **Diabetologia**, [s. l.], v. 58, n. 11, p. 2637–2646, 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-015-3727-0>.

KRÄMER, A. L. *et al.* Glycemic variability in newly diagnosed diabetic cats treated with the glucagon-like peptide-1 analogue exenatide extended release. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 2287–2295, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.15915>. Acesso em: 7 mar. 2021.

KRIEGER, J.-P. *et al.* Glucagon-like peptide-1 regulates brown adipose tissue thermogenesis via the gut-brain axis in rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, [s. l.], v. 315, n. 4, p. R708–R720, 2018. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpregu.00068.2018>.

KRIEGER, J.-P. *et al.* Knockdown of GLP-1 Receptors in Vagal Afferents Affects Normal Food Intake and Glycemia. **Diabetes**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 34–43, 2016. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/db15-0973>.

KURT, Z. *et al.* Tissue-specific pathways and networks underlying sexual dimorphism in non-alcoholic fatty liver disease. **Biology of Sex Differences**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 46, 2018.

KURYŁOWICZ, A. Estrogens in Adipose Tissue Physiology and Obesity-Related Dysfunction. **Biomedicines**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 690, 2023.

LABOUESSE, M. A. *et al.* Vagal Afferents Mediate Early Satiating and Prevent Flavour Avoidance Learning in Response to Intraperitoneally Infused Exendin-4. **Journal of Neuroendocrinology**, [s. l.], v. 24, n. 12, p. 1505–1516, 2012. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2826.2012.02364.x>.

LARA-CASTILLO, N. Estrogen Signaling in Bone. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 11, n. 10, p. 4439, 2021.

LE MAY, C. *et al.* Estrogens protect pancreatic β -cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 103, n. 24, p. 9232–9237, 2006.

LEE, S. J. *et al.* Loss of dorsomedial hypothalamic GLP-1 signaling reduces BAT thermogenesis and increases adiposity. **Molecular Metabolism**, [s. l.], v. 11, n. March, p. 33–46, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.03.008>.

LI, Y. *et al.* α -Cell Pdx1 Expression Is Essential for the Glucoregulatory, Proliferative, and Cytoprotective Actions of Glucagon-Like Peptide-1. **Diabetes**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 482–491, 2005. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.54.2.482>.

LI, Y. *et al.* Glucagon-like Peptide-1 Receptor Signaling Modulates β Cell Apoptosis. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 278, n. 1, p. 471–478, 2003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819312943>.

LI, Z. *et al.* Liraglutide protects against inflammatory stress in non-alcoholic fatty liver by modulating Kupffer cells M2 polarization via cAMP-PKA-STAT3 signaling pathway. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 510, n. 1, p. 20–26, 2019.

LIM, G. E.; BRUBAKER, P. L. **Glucagon-like peptide 1 secretion by the L-cell: The view from within.** [S. l.: s. n.], 2006. Disponível em: Acesso em: 7 abr. 2021.

LIU, S. *et al.* Importance of Extranuclear Estrogen Receptor- α and Membrane G Protein-Coupled Estrogen Receptor in Pancreatic Islet Survival. **Diabetes**, [s. l.], v. 58, n. 10, p. 2292–2302, 2009.

LIU, H. *et al.* Liraglutide and Insulin Have Contrary Effects on Adipogenesis of Human Adipose-Derived Stem Cells via Wnt Pathway. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, [s. l.], v. Volume 13, p. 3075–3087, 2020.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. **Methods**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 402–408, 2001. Disponível em: Acesso em: 26 maio 2020.

LLEWELLYN-SMITH, I. J. *et al.* Preproglucagon neurons project widely to autonomic control areas in the mouse brain. **Neuroscience**, [s. l.], v. 180, p. 111–121, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452211001643>.

LOCKIE, S. H. *et al.* Direct control of brown adipose tissue thermogenesis by central nervous system glucagon-like peptide-1 receptor signaling. **Diabetes**, [s. l.], v. 61, n. 11, p. 2753–2762, 2012.

LÓPEZ, M.; TENA-SEMPERE, M. Estrogens and the control of energy homeostasis: A brain perspective. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 26, n. 8, p. 411–421, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2015.06.003>.

LOVE, M. I.; HUBER, W.; ANDERS, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 550, 2014.

LUBBS, D. C. *et al.* Dietary macronutrients and feeding frequency affect fasting and postprandial concentrations of hormones involved in appetite regulation in adult dogs. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 88, n. 12, p. 3945–3953, 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article/88/12/3945-3953/4745640>.

LUGLIO, H. F. Estrogen and body weight regulation in women: the role of estrogen receptor alpha (ER- α) on adipocyte lipolysis. **Acta Medica Indonesiana - The Indonesian Journal of Internal Medicine**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 333–338, 2014.

LUI, A. *et al.* Regulation of Human Sortilin Alternative Splicing by Glucagon-like Peptide-1 (GLP1) in Adipocytes. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 18, p. 14324, 2023.

LUND, P. K.; GOODMAN, R. H.; HABENER, J. F. Pancreatic pre-proglucagons are encoded by two separate mRNAs. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 256, n. 13, p. 6515–6518, 1981. Disponível em: Acesso em: 6 abr. 2021.

LUNDHOLM, L. *et al.* Key lipogenic gene expression can be decreased by estrogen in human adipose tissue. **Fertility and Sterility**, [s. l.], v. 90, n. 1, p. 44–48, 2008.

LUO, J.; LIU, D. Does GPER Really Function as a G Protein-Coupled Estrogen Receptor in vivo?. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 11, 2020.

LUSTIG, R. H. *et al.* Obesity I: Overview and molecular and biochemical mechanisms. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 199, p. 115012, 2022.

LYNCH, L. *et al.* iNKT Cells Induce FGF21 for Thermogenesis and Are Required for Maximal Weight Loss in GLP1 Therapy. **Cell Metabolism**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 510–519, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2016.08.003>.

MA, X. *et al.* Deciphering the Roles of PPAR γ in Adipocytes via Dynamic Change of Transcription Complex. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 9, 2018.

MACDONALD, P. E. *et al.* Antagonism of Rat β -Cell Voltage-dependent K⁺ Currents by Exendin 4 Requires Dual Activation of the cAMP/Protein Kinase A and Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling Pathways. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 278, n. 52, p. 52446–52453, 2003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002192582075252X>. Acesso em: 25 abr. 2021.

MACHADO, B. S. *et al.* An overweight/obesity survey among dogs and cats attended at a veterinary teaching hospital during the second year of the COVID-19 pandemic. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 74, n. 6, p. 999–1006, 2022.

MACHADO, V. L. A.; WASSERMANN, G. F.; MARQUES, M. In vitro effect of insulin on the uptake of glucose and α -aminoisobutyric acid in the thyroid gland of the turtle (*Chrysemys dorbigni*). **General and Comparative Endocrinology**, [s. l.], v. 82, n. 1, p. 8–13, 1991. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/001664809190290M>.

MAHBOOBIFARD, F. *et al.* Estrogen as a key regulator of energy homeostasis and metabolic health. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 156, n. August, p. 113808, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113808>.

MAHER, A. C. *et al.* Women have higher protein content of β -oxidation enzymes in skeletal muscle than men. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 5, n. 8, p. 1–7, 2010.

MAO, J. *et al.* Prevalence and risk factors for canine obesity surveyed in veterinary practices in Beijing, China. **Preventive Veterinary Medicine**, [s. l.], v. 112, n. 3–4, p. 438–442, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587713002778>.

MÁRQUEZ, L. *et al.* Inositolphosphoglycans possibly mediate the effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on rat liver and adipose tissue. **Cell Biochemistry and Function**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 51–56, 1998. Disponível em:

[https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-0844\(199803\)16:1%3C51::AID-CBF767%3E3.0.CO;2-T](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-0844(199803)16:1%3C51::AID-CBF767%3E3.0.CO;2-T).

MASKE, C. B. *et al.* Estradiol modulates the anorexic response to central glucagon-like peptide 1. **Hormones and Behavior**, [s. l.], v. 93, p. 109–117, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.05.012>.

MASOOD, B.; MOORTHY, M. Causes of obesity: a review. **Clinical Medicine**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 284–291, 2023.

MAUVAIS-JARVIS, F. Role of Sex Steroids in β Cell Function, Growth, and Survival. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, [s. l.], v. 27, n. 12, p. 844–855, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276016301114>.

MAUVAIS-JARVIS, F. *et al.* Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. **The Lancet**, [s. l.], v. 396, n. 10250, p. 565–582, 2020.

MAUVAIS-JARVIS, F. *et al.* The Role of Estrogens in Pancreatic Islet Physiopathology. *In*: MAUVAIS-JARVIS, F. (org.). **Sex and Gender Factors Affecting Metabolic Homeostasis, Diabetes and Obesity**. [S. l.]: Springer, Cham, 2017. v. 1043, p. 385–399. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-70178-3_18.

MAUVAIS-JARVIS, F.; CLEGG, D. J.; HEVENER, A. L. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. **Endocrine Reviews**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 309–338, 2013.

MCCOOL, K. E. *et al.* The effect of diet, adiposity, and weight loss on the secretion of incretin hormones in cats. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 62, p. 67–75, 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0739724017301157>.

MELONI, A. R. *et al.* GLP-1 receptor activated insulin secretion from pancreatic β -cells: mechanism and glucose dependence. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 15–27, 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1463-1326.2012.01663.x>.

MODEL, J. F. A. *et al.* Liraglutide improves lipid and carbohydrate metabolism of ovariectomized rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, [s. l.], v. 524, p. 111158, 2021a. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720721000022>.

MODEL, J. F. A. *et al.* Liraglutide treatment counteracts alterations in adipose tissue metabolism induced by orchietomy in rats. **Life Sciences**, [s. l.], v. 278, p. 119586, 2021b. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320521005725>.

MODEL, J. F. A. *et al.* Physiological and pharmacological actions of glucagon like peptide-1 (GLP-1) in domestic animals. **Veterinary and Animal Science**, [s. l.], v. 16, p. 100245, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2451943X22000163>.

MONAMI, M. *et al.* Safety issues with glucagon-like peptide-1 receptor agonists (pancreatitis, pancreatic cancer and cholelithiasis): Data from randomized controlled

trials. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, [s. l.], v. 19, n. 9, p. 1233–1241, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/dom.12926>.

MORI, A. *et al.* Effect of Acarbose, Sitagliptin and combination therapy on blood glucose, insulin, and incretin hormone concentrations in experimentally induced postprandial hyperglycemia of healthy cats. **Research in Veterinary Science**, [s. l.], v. 106, p. 131–134, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528816300704>.

MOSCA, L.; BARRETT-CONNOR, E.; KASS WENGER, N. Sex/Gender Differences in Cardiovascular Disease Prevention. **Circulation**, [s. l.], v. 124, n. 19, p. 2145–2154, 2011.

MÜLLER, T. D. *et al.* Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). **Molecular Metabolism**, [s. l.], v. 30, p. 72–130, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877819309135>.

NAUCK, M. A. *et al.* GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes – state-of-the-art. **Molecular Metabolism**, [s. l.], v. 46, p. 101102, 2021.

NAUCK, M. A.; MEIER, J. J. Glucagon-like peptide 1 and its derivatives in the treatment of diabetes. **Regulatory Peptides**, [s. l.], v. 128, n. 2, p. 135–148, 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167011504002472>.

NAUCK, M. A.; MEIER, J. J. Incretin hormones: Their role in health and disease. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, [s. l.], v. 20, n. October 2017, p. 5–21, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dom.13129>.

NAUCK, M. A.; MÜLLER, T. D. Incretin hormones and type 2 diabetes. **Diabetologia**, [s. l.], v. 66, n. 10, p. 1780–1795, 2023.

NEVOLA, R. *et al.* GLP-1 Receptor Agonists in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Current Evidence and Future Perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 1703, 2023.

NIGRO, M. *et al.* A Change in Liver Metabolism but Not in Brown Adipose Tissue Thermogenesis Is an Early Event in Ovariectomy-Induced Obesity in Rats. **Endocrinology**, [s. l.], v. 155, n. 8, p. 2881–2891, 2014. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/155/8/2881/2433297>.

NISHII, N. *et al.* Effects of sitagliptin on plasma incretin concentrations after glucose administration through an esophagostomy tube or feeding in healthy cats. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 49, p. 14–19, 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S073972401400040X>.

ODA, H. *et al.* Characterization of the use of liraglutide for glycemic control in healthy and Type 1 diabetes mellitus suffering dogs. **Research in Veterinary Science**, [s. l.], v. 95, n. 2, p. 381–388, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003452881300129X>.

ÖHLUND, M.; PALMGREN, M.; HOLST, B. S. Overweight in adult cats: a cross-sectional study. **Acta Veterinaria Scandinavica**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 5, 2018. Disponível em: <https://actavetscand.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13028-018-0359-7>.

OHNEDA, A. *et al.* The Structure-Function Relationship of GLP-1 Related Peptides in the Endocrine Function of the Canine Pancreas. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, [s. l.], v. 165, n. 3, p. 209–221, 1991. Disponível em: http://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem1920/165/3/165_3_209/_article.

OMANOVIC KOLARIC, T. *et al.* Liraglutide Exerts Protective Effects by Downregulation of PPAR γ , ACSL1 and SREBP-1c in Huh7 Cell Culture Models of Non-Alcoholic Steatosis and Drug-Induced Steatosis. **Current Issues in Molecular Biology**, [s. l.], v. 44, n. 8, p. 3465–3480, 2022.

ØRSKOV, C. *et al.* Glucagon-Like Peptides GLP-1 and GLP-2, Predicted Products of the Glucagon Gene, Are Secreted Separately from Pig Small Intestine but Not Pancreas*. **Endocrinology**, [s. l.], v. 119, n. 4, p. 1467–1475, 1986. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo-119-4-1467>. Acesso em: 6 abr. 2021.

ØRSKOV, C.; HOLST, J. J.; NIELSEN, O. V. Effect of Truncated Glucagon-Like Peptide-1 [Proglucagon-(78–107) amide] on Endocrine Secretion from Pig Pancreas, Antrum, and Nonantral Stomach. **Endocrinology**, [s. l.], v. 123, n. 4, p. 2009–2013, 1988. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo-123-4-2009>.

OSAKA, T. *et al.* Energy expenditure by intravenous administration of glucagon-like peptide-1 mediated by the lower brainstem and sympathoadrenal system. **Peptides**, [s. l.], v. 26, n. 9, p. 1623–1631, 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196978105000690>.

OUTEIRIÑO-IGLESIAS, V. *et al.* GLP-1 increases preovulatory LH source and the number of mature follicles, as well as synchronizing the onset of puberty in female rats. **Endocrinology**, [s. l.], v. 156, n. 11, p. 4226–4237, 2015.

PACHECO, B. P. M. *et al.* Dipeptidyl peptidase IV inhibition attenuates blood pressure rising in young spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 520–528, 2011. Disponível em: <https://journals.lww.com/00004872-201103000-00018>.

PADRUTT, I. *et al.* Effects of the glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogues exenatide, exenatide extended-release, and of the dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4) inhibitor sitagliptin on glucose metabolism in healthy cats. **Research in Veterinary Science**, [s. l.], v. 99, p. 23–29, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528814003427>.

PALACIOS, S. *et al.* Obesity and menopause. **Gynecological Endocrinology**, [s. l.], v. 40, n. 1, 2024.

PALMISANO, B. T.; ZHU, L.; STAFFORD, J. M. Role of Estrogens in the Regulation of Liver Lipid Metabolism. *In*: MAUVAIS-JARVIS, F. (org.). **Sex and Gender Factors Affecting Metabolic Homeostasis, Diabetes and Obesity**. [S. l.]: Springer, Cham, 2017. v. 1043, p. 227–256. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-70178-3_12.

PATZELT, C. *et al.* Identification and processing of proglucagon in pancreatic islets. **Nature**, [s. l.], v. 282, n. 5736, p. 260–266, 1979. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/282260a0>. Acesso em: 6 abr. 2021.

PEDERSEN, S. B. *et al.* Estrogen Controls Lipolysis by Up-Regulating alpha2A-Adrenergic Receptors Directly in Human Adipose Tissue through the Estrogen Receptor alpha. Implications for the female fat distribution. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s. l.], v. 89, n. 4, p. 1869–1878, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15070958>. Acesso em: 2 jul. 2017.

PEDRAM, A. *et al.* Estrogen Reduces Lipid Content in the Liver Exclusively from Membrane Receptor Signaling. **Science Signaling**, [s. l.], v. 6, n. 276, 2013.

PELLETIER, R. *et al.* Sex Differences in Clinical Outcomes After Premature Acute Coronary Syndrome. **Canadian Journal of Cardiology**, [s. l.], v. 32, n. 12, p. 1447–1453, 2016.

PELLETIER, R.; DITTO, B.; PILOTE, L. A Composite Measure of Gender and Its Association With Risk Factors in Patients With Premature Acute Coronary Syndrome. **Psychosomatic Medicine**, [s. l.], v. 77, n. 5, p. 517–526, 2015.

PERTEA, M. *et al.* StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. **Nature Biotechnology**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 290–295, 2015.

PETROVIC, A. *et al.* The Role of GLP1-RAs in Direct Modulation of Lipid Metabolism in Hepatic Tissue as Determined Using In Vitro Models of NAFLD. **Current Issues in Molecular Biology**, [s. l.], v. 45, n. 6, p. 4544–4556, 2023.

PÖPPL, Á. G. Canine diabetes mellitus: assessing risk factors to inform preventive measures. **Veterinary Record**, [s. l.], v. 192, n. 10, p. 406–408, 2023.

PORSANI, M. Y. H. *et al.* Prevalence of canine obesity in the city of São Paulo, Brazil. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 14082, 2020. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41598-020-70937-8>.

PROSSNITZ, E. R.; BARTON, M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. 715–726, 2011.

PURNELL, J. Q. **Definitions, Classification, and Epidemiology of Obesity**. [S. l.: s. n.], 2023.

PYKE, C. *et al.* GLP-1 Receptor Localization in Monkey and Human Tissue: Novel Distribution Revealed With Extensively Validated Monoclonal Antibody. **Endocrinology**, [s. l.], v. 155, n. 4, p. 1280–1290, 2014. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/155/4/1280/2423090>.

REDONDO, A. *et al.* Cell signalling of the GLP-1 action in rat liver. **Molecular and Cellular Endocrinology**, [s. l.], v. 204, n. 1–2, p. 43–50, 2003.

REIMANN, F.; GRIBBLE, F. M. Glucose-Sensing in Glucagon-Like Peptide-1-Secreting Cells. **Diabetes**, [s. l.], v. 51, n. 9, p. 2757–2763, 2002. Disponível em: <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/51/9/2757>. Acesso em: 7 abr. 2021.

REKDAL, C.; SJØTTEM, E.; JOHANSEN, T. The Nuclear Factor SPBP Contains Different Functional Domains and Stimulates the Activity of Various Transcriptional Activators. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 275, n. 51, p. 40288–40300, 2000.

RICHARDS, P. *et al.* Identification and Characterization of GLP-1 Receptor-Expressing Cells Using a New Transgenic Mouse Model. **Diabetes**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 1224–1233, 2014. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db13-1440>.

RIEDERER, A. *et al.* Effect of the Glucagon-like Peptide-1 Analogue Exenatide Extended Release in Cats with Newly Diagnosed Diabetes Mellitus. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 92–100, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.13817>.

ROWLANDS, J. *et al.* Pleiotropic Effects of GLP-1 and Analogs on Cell Signaling, Metabolism, and Function. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 9, n. November, p. 1–23, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00672/full>.

RUDINSKY, A. J. *et al.* Pharmacology of the glucagon-like peptide-1 analog exenatide extended-release in healthy cats. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 51, p. 78–85, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0739724014001118>. Acesso em: 7 mar. 2021.

RÜTTIMANN, E. B. *et al.* Intrameal Hepatic Portal and Intraperitoneal Infusions of Glucagon-Like Peptide-1 Reduce Spontaneous Meal Size in the Rat via Different Mechanisms. **Endocrinology**, [s. l.], v. 150, n. 3, p. 1174–1181, 2009. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/150/3/1174/2455579>.

RUZE, R. *et al.* Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 14, 2023.

SAHA, J. K. *et al.* Acute Hyperglycemia Induced by Ketamine/Xylazine Anesthesia in Rats: Mechanisms and Implications for Preclinical Models. **BioMed**, [s. l.], v. 230, p. 777–784, 2005.

SAMOLS, E.; MARKS, V. New conceptions on the functional significance of glucagon (pancreatic and extra-pancreatic). **Journées annuelles de diabetologie de l'Hotel-Dieu**, [s. l.], v. 7, p. 43–66, 1967. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6058572>.

SANDHU, H. *et al.* Glucagon-like peptide 1 increases insulin sensitivity in depancreatized dogs. **Diabetes**, [s. l.], v. 48, n. 5, p. 1045–1053, 1999. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.48.5.1045>.

SCHAUF, S. *et al.* Effect of feeding a high-carbohydrate or a high-fat diet on subsequent food intake and blood concentration of satiety-related hormones in dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s. l.], v. 102, n. 1, p. e21–e29, 2018. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/jpn.12696>.

SCHLAEPFER, I. R.; JOSHI, M. CPT1A-mediated Fat Oxidation, Mechanisms, and Therapeutic Potential. **Endocrinology**, [s. l.], v. 161, n. 2, 2020.

SCUDERI, M. A. *et al.* Safety and efficacy assessment of a GLP-1 mimetic: insulin glargine combination for treatment of feline diabetes mellitus. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 65, p. 80–89, 2018. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0739724018300237>. Acesso em: 7 mar. 2021.

SECHER, A. *et al.* The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 124, n. 10, p. 4473–4488, 2014. Disponível em: <http://www.jci.org/articles/view/75276>.

SEGERSTOLPE, Å. *et al.* Single-Cell Transcriptome Profiling of Human Pancreatic Islets in Health and Type 2 Diabetes. **Cell Metabolism**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 593–607, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413116304363>.

SHANNON, G. *et al.* Gender equality in science, medicine, and global health: where are we at and why does it matter?. **The Lancet**, [s. l.], v. 393, n. 10171, p. 560–569, 2019.

SHEN, M.; SHI, H. Sex Hormones and Their Receptors Regulate Liver Energy Homeostasis. **International Journal of Endocrinology**, [s. l.], v. 2015, p. 1–12, 2015. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/ije/2015/294278/>.

SHEPHERD, M. Canine and Feline Obesity Management. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 653–667, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561621000152>.

SHERMAN, B. T. *et al.* DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 50, n. W1, p. W216–W221, 2022.

SHI, X. *et al.* Acute activation of GLP-1-expressing neurons promotes glucose homeostasis and insulin sensitivity. **Molecular Metabolism**, [s. l.], v. 6, n. 11, p. 1350–1359, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877817305495>.

SHIMODA, M. *et al.* The human glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide preserves pancreatic beta cells via regulation of cell kinetics and suppression of oxidative and endoplasmic reticulum stress in a mouse model of diabetes. **Diabetologia**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 1098–1108, 2011. Disponível em: <http://rsbweb.nih.gov/ij/>. Acesso em: 26 abr. 2021.

SIMPSON, E. R. Sources of estrogen and their importance. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, [s. l.], v. 86, n. 3–5, p. 225–230, 2003.

SIROHI, S. *et al.* Central & peripheral glucagon-like peptide-1 receptor signaling differentially regulate addictive behaviors. **Physiology & Behavior**, [s. l.], v. 161, p. 140–144, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938416301494>.

SKELIN, M.; RUPNIK, M. cAMP increases the sensitivity of exocytosis to Ca²⁺ primarily through protein kinase A in mouse pancreatic beta cells. **Cell Calcium**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 89–99, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014341601000206X>. Acesso em: 25 abr. 2021.

SMITH, E. P. *et al.* The Role of β Cell Glucagon-like Peptide-1 Signaling in Glucose Regulation and Response to Diabetes Drugs. **Cell Metabolism**, [s. l.], v. 19,

n. 6, p. 1050–1057, 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413114001697>.

SMITS, M. M. *et al.* Pancreatic Effects of Liraglutide or Sitagliptin in Overweight Patients With Type 2 Diabetes: A 12-Week Randomized, Placebo-Controlled Trial. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 301–308, 2017. Disponível em: <http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dc16-0836>.

SONG, A.; MAO, Y.; WEI, H. GLUT5: structure, functions, diseases and potential applications. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, [s. l.], v. 55, n. 10, p. 1519–1538, 2023.

STEINER, B. M.; BERRY, D. C. The Regulation of Adipose Tissue Health by Estrogens. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 13, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2022.889923/full>.

SUNDBY, F.; JACOBSEN, H.; MOODY, A. Purification and Characterization of a Protein from Porcine Gut with Glucagon-Like Immunoreactivity. **Hormone and Metabolic Research**, [s. l.], v. 8, n. 05, p. 366–371, 1976. Disponível em: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0028-1093615>. Acesso em: 6 abr. 2021.

TAKASHIMA, S. *et al.* Concentrations of leptin, adiponectin, and resistin in the serum of obese cats during weight loss. **Journal of Veterinary Medical Science**, [s. l.], v. 81, n. 9, p. 1294–1300, 2019. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/81/9/81_19-0091/_article.

TAN, Q. *et al.* Recent Advances in Incretin-Based Pharmacotherapies for the Treatment of Obesity and Diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 13, 2022.

TANG-CHRISTENSEN, M. *et al.* Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, [s. l.], v. 271, n. 4, p. R848–R856, 1996. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpregu.1996.271.4.R848>.

TARKOSOVA, D. *et al.* Feline obesity – prevalence, risk factors, pathogenesis, associated conditions and assessment: a review. **Veterinární Medicína**, [s. l.], v. 61, n. No. 6, p. 295–307, 2016. Disponível em: <http://www.agriculturejournals.cz/web/vetmed.htm?volume=61&firstPage=295&type=publishedArticle>.

TERRILL, S. J. *et al.* Endogenous GLP-1 in lateral septum promotes satiety and suppresses motivation for food in mice. **Physiology & Behavior**, [s. l.], v. 206, p. 191–199, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938419300253>.

THEODORAKIS, M. J. *et al.* Human duodenal enteroendocrine cells: Source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 290, n. 3, p. 550–559, 2006. Disponível em: <http://www.ajpendo.org>. Acesso em: 7 abr. 2021.

TIANO, J. P. *et al.* Effect of targeted estrogen delivery using glucagon-like peptide-1 on insulin secretion, insulin sensitivity and glucose homeostasis. **Nature Publishing Group**, [s. l.], n. May, p. 1–8, 2015.

TIANO, J. P. *et al.* Estrogen receptor activation reduces lipid synthesis in pancreatic islets and prevents β cell failure in rodent models of type 2 diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 121, n. 8, p. 3331–3342, 2011.

TOLHURST, G.; REIMANN, F.; GRIBBLE, F. M. Nutritional regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 587, n. 1, p. 27–32, 2009. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.2008.164012>. Acesso em: 7 abr. 2021.

TOMAZ, L. M. *et al.* GLUT2 proteins and PPAR γ transcripts levels are increased in liver of ovariectomized rats: reversal effects of resistance training. **Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 51–57, 2016. Disponível em: Acesso em: 2 abr. 2020.

TORRES, I. L. S. *et al.* Effect of acute and repeated restraint stress on glucose oxidation to CO₂ in hippocampal and cerebral cortex slices. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 111–116, 2001.

TRAMUNT, B. *et al.* Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. **Diabetologia**, [s. l.], v. 63, n. 3, p. 453–461, 2020. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-019-05040-3>.

TREVELLA, P.; EKINCI, E. I.; MACISAAC, R. J. Potential kidney protective effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists. **Nephrology**, [s. l.], v. 29, n. 8, p. 457–469, 2024.

TSUNEKAWA, S. *et al.* Protection of pancreatic β -cells by exendin-4 may involve the reduction of endoplasmic reticulum stress; in vivo and in vitro studies. **Journal of**

Endocrinology, [s. l.], v. 193, n. 1, p. 65–74, 2007. Disponível em: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/193/1/1930065.xml>.

UNGER, R. H. *et al.* Characterization of the responses of circulating glucagon-like immunoreactivity to intraduodenal and intravenous administration of glucose. **The Journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 48–65, 1968. Disponível em: Acesso em: 6 abr. 2021.

VAN CITTERS, G. W. *et al.* Elevated Glucagon-Like Peptide-1-(7–36)-Amide, but Not Glucose, Associated with Hyperinsulinemic Compensation for Fat Feeding. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s. l.], v. 87, n. 11, p. 5191–5198, 2002. Disponível em: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2002-020002>.

VERA REGITZ-ZAGROSEK *et al.* Gender in cardiovascular diseases: impact on clinical manifestations, management, and outcomes. **European Heart Journal**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 24–34, 2016. Disponível em: <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehv598>.

VERKEST, K. R. *et al.* Spontaneously obese dogs exhibit greater postprandial glucose, triglyceride, and insulin concentrations than lean dogs. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 103–112, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0739724011001494>.

VOGT, É. L. *et al.* Acute effects of a single moderate-intensity exercise bout performed in fast or fed states on cell metabolism and signaling: Comparison between lean and obese rats. **Life Sciences**, [s. l.], v. 315, p. 121357, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320522010578>.

WALLIS, L. J. *et al.* Demographic Change Across the Lifespan of Pet Dogs and Their Impact on Health Status. **Frontiers in Veterinary Science**, [s. l.], v. 5, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2018.00200/full>.

WALLIS, N.; RAFFAN, E. The Genetic Basis of Obesity and Related Metabolic Diseases in Humans and Companion Animals. **Genes**, [s. l.], v. 11, n. 11, p. 1378, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/11/11/1378>.

WANG, Juan *et al.* Effects of exenatide combined with clomifene citrate on insulin resistance and angiotensin II/Angiotensin-(1-7) in peripheral blood in patients with polycystic ovary syndrome. **Biomedical Research (India)**, [s. l.], v. 28, n. 19, p. 8406–8411, 2017.

WANG, Y. *et al.* Glucagon-like peptide-1 affects gene transcription and messenger ribonucleic acid stability of components of the insulin secretory system in RIN 1046-38 cells. **Endocrinology**, [s. l.], v. 136, n. 11, p. 4910–4917, 1995. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo.136.11.7588224>. Acesso em: 25 abr. 2021.

WANG, J. *et al.* Silychristin A activates Nrf2-HO-1/SOD2 pathway to reduce apoptosis and improve GLP-1 production through upregulation of estrogen receptor α in GLUTag cells. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 881, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299920303289>.

WEI, Y.; MOJSOV, S. Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced

amino acid sequences. **FEBS Letters**, [s. l.], v. 358, n. 3, p. 219–224, 1995. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1016/0014-5793%2894%2901430-9>.

WETTERGREN, A. *et al.* The inhibitory effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 7-36 amide on gastric acid secretion in humans depends on an intact vagal innervation. **Gut**, [s. l.], v. 40, n. 5, p. 597–601, 1997. Disponível em: <https://gut.bmj.com/lookup/doi/10.1136/gut.40.5.597>.

WINDELØV, J. A.; PEDERSEN, J.; HOLST, J. J. Use of anesthesia dramatically alters the oral glucose tolerance and insulin secretion in C57Bl/6 mice. **Physiological Reports**, [s. l.], v. 4, n. 11, p. e12824, 2016. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.14814/phy2.12824>.

WORLD OBESITY FEDERATION. **World Obesity Atlas 2023**. London: [s. n.], 2023.

WU, Y.-R. *et al.* Liraglutide improves lipid metabolism by enhancing cholesterol efflux associated with ABCA1 and ERK1/2 pathway. **Cardiovascular Diabetology**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 146, 2019.

WU, C.-C. *et al.* Propofol Improved Glucose Tolerance Associated with Increased FGF-21 and GLP-1 Production in Male Sprague-Dawley Rats. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 14, p. 3229, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/14/3229>.

YANG, M. *et al.* Duodenal GLP-1 signaling regulates hepatic glucose production through a PKC- δ -dependent neurocircuitry. **Cell Death and Disease**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. e2609-11, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2017.28>.

YANG, H. *et al.* GLP-1 action in L6 myotubes is via a receptor different from the pancreatic GLP-1 receptor. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, [s. l.], v. 275, n. 3, p. C675–C683, 1998. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.1998.275.3.C675>.

YAP, M. K. K.; MISUAN, N. Exendin-4 from *Heloderma suspectum* venom: From discovery to its latest application as type II diabetes combatant. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, [s. l.], v. 124, n. 5, p. 513–527, 2019.

ZHANG, Y. *et al.* GLP-1 Receptor in Pancreatic α -Cells Regulates Glucagon Secretion in a Glucose-Dependent Bidirectional Manner. **Diabetes**, [s. l.], v. 68, n. 1, p. 34–44, 2019. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/db18-0317>.

ZHOU, H. *et al.* Zinc, Not Insulin, Regulates the Rat β -Cell Response to Hypoglycemia In Vivo. **Diabetes**, [s. l.], v. 56, n. 4, p. 1107–1112, 2007. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db06-1454>.

ZHU, L. *et al.* Estrogen Treatment After Ovariectomy Protects Against Fatty Liver and May Improve Pathway-Selective Insulin Resistance. **Diabetes**, [s. l.], v. 62, n. 2, p. 424–434, 2013. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db11-1718>.

ZORAN, D. L. Obesity in Dogs and Cats: A Metabolic and Endocrine Disorder. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 221–239, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561609001806>.

ZWARTS, I. *et al.* Identification of the fructose transporter GLUT5 (SLC2A5) as a novel target of nuclear receptor LXR. **Scientific Reports**, [s. /], v. 9, n. 1, p. 9299, 2019.

ANEXO I



U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 38478

Título: Influência da castração (ovariectomia e orquiectomia) sobre a ação do GLP1 na regulação do metabolismo intermediário de ratos Wistar.

Vigência: 03/02/2020 à 30/08/2024

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

ANAPAUOLA SOMMER VINAGRE - coordenador desde 03/02/2020

MARCELO DE LACERDA GRILLO - pesquisador desde 03/02/2020

JORGE FELIPE ARGENTA MODEL - Aluno de Doutorado desde 03/02/2020

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 12/05/2020 - Reunião por videoconferência - Plataforma UFRGS - Mconf, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 160 ratos Wistar, sendo 80 machos e 80 fêmeas com 60 dias de idade, originários do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório da UFRGS (CREAL-UFRGS) e acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Quinta-Feira, 21 de Maio de 2020

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Coordenador da comissão de ética

ANEXO II



HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

Carta de Aprovação

Certificamos que o projeto abaixo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, 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), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) e pelas áreas de apoio indicadas pelo pesquisador.

Projeto: 2022/0015

Título: Influência da castração (ovariectomia e orquiectomia) sobre a ação do GLP1 na regulação do metabolismo intermediário de ratos Wistar

Pesquisador Responsável: POLI MARA SPRITZER

Equipe de Pesquisa:

ANAPAUOLA SOMMER VINAGRE MARCELO DE LACERDA GRILLO JORGE FELIPE ARGENTA MODEL

MIRIAM GIL SANTHELENA ALESSA DA COSTA FAGUNDES Natalia Altmeyer Goulart

Data de Aprovação: 14/03/2022

Data de Término: 31/12/2024

Espécie/Linhagem	Sexo/Idade	Quantidade	Data Reunião	Documento
RATO HETEROGÊNICO	M/60 Dia(s)	80		Projeto
RATO HETEROGÊNICO	F/60 Dia(s)	80		Projeto

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.



Assinado digitalmente por:
PATRICIA ASHTON PROLLA
Grupo de Pesquisa e Pós-graduação
14/03/2022 11:55:43

ANEXO III

9/2/24, 3:53 PM

Gmail - Fwd: BP-D-24-03174 - Confirming your submission to Biochemical Pharmacology



Jorge F. A. Model <jorgefamodel@gmail.com>

Fwd: BP-D-24-03174 - Confirming your submission to Biochemical Pharmacology

Anapaula Vinagre <apvinagre2013@gmail.com>

14 de agosto de 2024 às 17:19

Para: Jorge Model <jorgefamodel@gmail.com>, "<chung@umces.edu>" <chung@umces.edu>, spritzer@ufrgs.br

----- Forwarded message -----

From: **Biochemical Pharmacology** <em@editorialmanager.com>

Date: Wed, Aug 14, 2024 at 5:14 PM

Subject: BP-D-24-03174 - Confirming your submission to Biochemical Pharmacology

To: ANAPaula SOMMER VINAGRE <apvinagre2013@gmail.com>

Dear Dr. VINAGRE,

This is to confirm your manuscript files have been submitted to the editorial office via the on-line system. You will receive further correspondence within the next few days.

It has been assigned the following manuscript number: **BP-D-24-03174**.

Thank you for choosing Biochemical Pharmacology.

Kind regards,

Managing Editor
Biochemical Pharmacology Editorial Office

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EM via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

At Elsevier, we want to help all our authors to stay safe when publishing. Please be aware of fraudulent messages requesting money in return for the publication of your paper. If you are publishing open access with Elsevier, bear in mind that we will never request payment before the paper has been accepted. We have prepared some guidelines (<https://www.elsevier.com/connect/authors-update/seven-top-tips-on-stopping-apc-scams>) that you may find helpful, including a short video on Identifying fake acceptance letters (<https://www.youtube.com/watch?v=o5i8thD9XtE>). Please remember that you can contact Elsevier's Researcher Support team (<https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>) at any time if you have questions about your manuscript, and you can log into Editorial Manager to check the status of your manuscript (https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/29155/c/10530/supporthub/publishing/kw/status/).

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Remove my information/details). Please contact the publication office if you have any questions.