

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**

Mariana Coelho Moraes

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À  
EXPOSIÇÃO CRÔNICA A DIETA HIPERPALATÁVEL E DO EFEITO DO  
TRATAMENTO COM INIBIDOR DO COTRANSPORTADOR DE SÓDIO E GLICOSE-2  
(SGLT2)**

**Belo Horizonte  
2024**

Mariana Coelho Moraes

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À  
EXPOSIÇÃO CRÔNICA A DIETA HIPERPALATÁVEL E DO EFEITO DO  
TRATAMENTO COM INIBIDOR DO COTRANSPORTADOR DE SÓDIO E GLICOSE-2  
(SGLT2)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Luciene Bruno Vieira.  
Coorientador: Prof. Dr. Diogo de Barros Peruchetti.

Belo Horizonte  
2024

043

Moraes, Mariana Coelho.

Avaliação da função renal em camundongos submetidos à exposição crônica a dieta hiperpalatável e do efeito do tratamento com inibidor do cotransportador de sódio e glicose-2 (SGLT2) [manuscrito] / Mariana Coelho Moraes. – 2024.

124 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Luciene Bruno Vieira. Coorientador: Prof. Dr. Diogo de Barros Peruchetti.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Fisiologia. 2. Dieta. 3. Obesidade. 4. Diabetes Mellitus Tipo 2. 5. Inibidores do Transportador 2 de Sódio-Glicose. 6. Camundongos Endogâmicos C57BL. I. Vieira, Luciene Bruno. II. Peruchetti, Diogo de Barros. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ICB - COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA - SECRETARIA

**Folha de Aprovação**

**Título:**

**"Avaliação da Função Renal em Camundongos Submetidos À Exposição Crônica A Dieta Hiperpalatável E DO EFEITO DO TRATAMENTO COM INIBIDOR DO COTRANSPORTADOR DE SÓDIO E GLICOSE-2 (SGLT2)"**

**DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado N° 595 DE MARIANA COELHO MORAES  
ORIENTADORA: LUCIENE BRUNO VIEIRA**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **24 de outubro de 2024**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

**PROFA. DRA. LUCIENE BRUNO VIEIRA - ORIENTADORA** - ICB/UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**PROF. DR. DIOGO DE BARROS PERUCHETTI, COORIENTADOR** - ICB/UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**PROF. DR. ALEXANDRE GUIMARÃES DE ALMEIDA BARROS** - MEDICINA-CLM/UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**PROFA. DRA. ADALIENE VERSIANI MATOS FERREIRA** - ESCOLA DE ENFERMAGEM/UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Luciene Bruno Vieira, pela sua orientação, paciência, contribuições científicas e por acreditar no meu potencial durante toda a jornada deste trabalho. Seu apoio foi essencial para a realização desta dissertação.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Diogo de Barros Peruchetti, pela valiosa coorientação, pelas sugestões enriquecedoras e por todo o suporte durante a realização deste trabalho.

Agradeço aos meus pais Sibeles e Gilberto, por todo o apoio e por sempre acreditarem no meu potencial, e à minha irmã Brunna, pela força e companheirismo em todos os momentos. Vocês são minha base e inspiração.

Aos professores e colegas do NEUROFAR, sou imensamente grata pela parceria, pelos aprendizados compartilhados e por cada momento de apoio ao longo dessa jornada.

À Profa. Dra. Cida e colegas do FISIORENAL, em especial à Mariana, Laura e Pedro, agradeço pela amizade, colaboração e por todos os momentos de troca e aprendizado.

Aos meus amigos do ICB, Paulo, Gabriella e Audrey, agradeço por todo o apoio, pelas palavras de incentivo e por estarem sempre ao meu lado, tornando essa caminhada mais leve e alegre.

Aos professores e pesquisadores que fazem parte do departamento de Farmacologia e do PGFISFAR, os ensinamentos foram fundamentais para o meu desenvolvimento.

Aos técnicos e funcionários do departamento e da universidade, pelo suporte e disponibilidade constantes.

Aos meus familiares e amigos que por acaso não tenham sido mencionados, deixo aqui meu sincero agradecimento pelo carinho, apoio e incentivo durante toda essa jornada. Vocês também foram parte essencial dessa conquista.

Às agências financiadoras: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

## **APOIO FINANCEIRO**

- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG);
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

## RESUMO

A obesidade está diretamente relacionada ao aumento da resistência à insulina, o que pode aumentar as chances de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (DM2), bem como o risco de doenças cardíacas, hipertensão e disfunções renais. O acúmulo de lipídeos, leva a complicações metabólicas, condições associadas a um declínio progressivo da função renal, aumento de mediadores pró-inflamatórios e danos às estruturas renais, resultando em lesões tubulares, alterações glomerulares e sobrecarga hemodinâmica. Para o controle da hiperglicemia no DM2, uma nova classe de medicamentos antidiabéticos, os inibidores do cotransportador de Sódio-Glicose 2 (SGLT2), tem demonstrado eficácia. Estes fármacos são capazes de reduzir a reabsorção de glicose e sódio nos rins, diminuindo os níveis de glicose no sangue, e proporcionando efeitos benéficos adicionais, como a redução do estresse oxidativo, inflamação e apoptose nas células renais. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos de uma dieta rica em gordura e açúcar na morfologia e função renal de camundongos machos e fêmeas. Além disso, buscamos avaliar o efeito protetor da dapagliflozina (inibidor de SGLT2) no estado glicêmico, perfil lipídico, função renal e morfologia, mimetizando condições de obesidade e DM2. Foram utilizados camundongos C57Bl/6, machos e fêmeas, com 4 semanas de idade (CEUA: #71/2023). Os animais foram divididos em dois grupos: um foi mantido em uma dieta rica em açúcar e gordura, enquanto o outro seguiu uma dieta controle (AIN93G) por um período de 12 semanas, a fim de simular condições de obesidade e DM2. Após as primeiras 8 semanas de dieta, os camundongos começaram a receber tratamento com dapagliflozina (DAPA, 1 mg/kg/dia) por um período de 4 semanas. Os camundongos foram submetidos à eutanásia para uma análise da função e da morfologia renal. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido pelo pós-teste de Tukey, com significância entre os grupos quando  $P < 0,05$ . Machos HSB apresentaram ganho de peso significativo a partir da 5ª semana de dieta, mantendo-se até a 12ª semana. Fêmeas HSB ganharam peso a partir da 6ª semana, mantendo-se até a 12ª semana. Além disso, machos HSB apresentaram alterações metabólicas caracterizadas por hiperglicemia e tolerância à glicose prejudicada, enquanto em fêmeas essas mudanças não foram observadas. O tratamento com DAPA não foi eficaz em reduzir o peso corporal ao longo das semanas de tratamento, em contrapartida reduziu a hiperglicemia e restaurou a tolerância à glicose de machos HSB. Os resultados de função renal mostraram um aumento significativo na proteinúria em machos HSB, indicando lesão. A elevação nos níveis de GGT e LDH na urina reforçou a presença de dano tubular. O tratamento com DAPA mostrou-se eficaz na redução desses marcadores, sugerindo um possível efeito protetor na função tubular renal dos camundongos submetidos a uma dieta hiperpalatável, contribuindo para a preservação da integridade funcional dos rins. Estruturalmente, os rins de machos HSB apresentaram danos, caracterizados pela presença de vacuolização, aumento de células intersticiais e diminuição de células tubulares. Notavelmente, o tratamento com DAPA foi capaz de reverter essas alterações. O aumento de inflamação foi observado com elevação dos níveis de IL-1 $\beta$ , associado ao aumento de lipotoxicidade, evidenciado pelo incremento dos triglicérides no tecido renal de machos HSB. Dessa forma, nosso trabalho mostra um padrão distinto de respostas entre machos e fêmeas, revelando uma complexa interação entre dieta, ganho de peso e função renal. Contudo, mais estudos são necessários para entender os efeitos da dieta HSB em fêmeas.

**Palavras-chave:** Dieta hiperpalatável; obesidade, diabetes mellitus tipo 2, inibidor do cotransportador de glicose e sódio-2 (SGLT2), camundongos C57Bl6.

## ABSTRACT

Obesity is directly associated with increased insulin resistance, which can elevate the risk of developing type 2 diabetes mellitus (T2DM), as well as the risk of heart disease, hypertension, and kidney dysfunctions. The accumulation of lipids leads to metabolic complications, conditions associated with a progressive decline in kidney function, increased pro-inflammatory mediators, and damage to renal structures, resulting in tubular injury, glomerular alterations, and hemodynamic overload. For controlling hyperglycemia in T2DM, a new class of antidiabetic drugs, Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors, has shown efficacy. These drugs reduce the reabsorption of glucose and sodium in the kidneys, lowering blood glucose levels and providing additional benefits, such as reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis in renal cells. In light of this, the aim of this study was to investigate the effects of a high-fat and high-sugar diet on the renal morphology and function of male and female mice. Additionally, we sought to evaluate the protective effect of dapagliflozin (an SGLT2 inhibitor) on glycemic status, lipid profile, renal function, and morphology, mimicking conditions of obesity and T2DM. Male and female C57Bl/6 mice, aged 4 weeks, were used (CEUA: #71/2023). The animals were divided into two groups: one was maintained on a high-fat and high-sugar diet, while the other followed a control diet (AIN93G) for a period of 12 weeks to simulate conditions of obesity and T2DM. After the first 8 weeks of the diet, the mice began treatment with dapagliflozin (DAPA, 1 mg/kg/day) for a period of 4 weeks. The mice were euthanized for the analysis of renal function and morphology. The results were analyzed by two-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test, with significance set at  $P < 0.05$  between groups. Male HSB mice showed significant weight gain starting from the 5th week of the diet, which persisted until the 12th week. Female HSB mice gained weight starting from the 6th week, which also persisted until the 12th week. Furthermore, male HSB mice exhibited metabolic alterations characterized by hyperglycemia and impaired glucose tolerance, whereas these changes were not observed in females. DAPA treatment was not effective in reducing body weight over the course of treatment; however, it reduced hyperglycemia and restored glucose tolerance in male HSB mice. Renal function results showed a significant increase in proteinuria in male HSB mice, indicating kidney injury. The elevated levels of GGT and LDH in the urine further reinforced the presence of tubular damage. DAPA treatment was effective in reducing these markers, suggesting a possible protective effect on renal tubular function in mice subjected to a hyperpalatable diet, contributing to the preservation of the functional integrity of the kidneys. Structurally, the kidneys of male HSB mice showed damage, characterized by the presence of vacuolation, increased interstitial cells, and decreased tubular cells. Notably, DAPA treatment was able to reverse these alterations. Increased inflammation was observed with elevated IL-1 $\beta$  levels, associated with increased lipotoxicity, evidenced by elevated triglycerides in the renal tissue of male HSB mice. Therefore, our work reveals a distinct pattern of responses between males and females, highlighting a complex interaction between diet, weight gain, and renal function. However, further studies are needed to understand the effects of the HSB diet in females.

**Keywords:** Hyperpalatable diet; obesity; type 2 diabetes mellitus; sodium-glucose cotransporter-2 (SGLT2) inhibitor; C57Bl6 mice.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição das dietas.....	40
<b>Tabela 2.</b> Número de animais utilizados por grupo experimental.....	41
<b>Tabela 3 .</b> Sequências dos oligonucleotídeos para qPCR.....	44

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Ilustração dos rins, distribuição do néfron e suas partes principais.....	19
<b>Figura 2</b> - Representação esquemática do glomérulo e seus componentes.....	20
<b>Figura 3</b> - Representação da barreira de filtração glomerular.....	21
<b>Figura 4</b> - Representação da reabsorção e secreção renal tubular.....	23
<b>Figura 5</b> - Representação do processo de filtração e reabsorção da albumina no túbulo proximal do néfron.....	25
<b>Figura 6</b> - Mecanismo de ação dos inibidores de SGLT2.....	35
<b>Figura 7</b> - Grupos experimentais.....	40
<b>Figura 8</b> - Desenho experimental.....	42
<b>Figura 9</b> - Representação esquemática da utilização da gaiola metabólica para coleta da urina dos animais.....	43
<b>Figura 10</b> - Efeitos das dietas no peso corporal de machos DC e HSB.....	47
<b>Figura 11</b> - Efeitos das dietas no peso corporal de fêmeas DC e HSB.....	49
<b>Figura 12</b> - Consumo médio de ração e calorias ao longo do período experimental em machos.....	50
<b>Figura 13</b> - Consumo de ração e calorias médio ao longo do período experimental em fêmeas.....	50
<b>Figura 14</b> - Efeitos das dietas sobre os depósitos de gordura branca (visceral) de machos DC e HSB sem e após tratamento com DAPA.....	52
<b>Figura 15</b> - Efeitos das dietas sobre os depósitos de gordura branca (visceral) de fêmeas DC e HSB sem e após tratamento com DAPA.....	53
<b>Figura 16</b> - Efeitos da dieta sobre a homeostase glicêmica em machos DC e HSB sem e com DAPA.....	55
<b>Figura 17</b> - Efeitos da dieta sobre a homeostase glicêmica de fêmeas DC e HSB sem e com DAPA.....	55
<b>Figura 18</b> - Efeitos da dieta sobre perfil lipídico de fêmeas DC e HSB sem e com DAPA.....	56
<b>Figura 19</b> - Efeitos das dietas sobre o peso renal total em machos.....	57
<b>Figura 20</b> - Efeitos das dietas sobre o peso renal total em fêmeas.....	58

<b>Figura 21</b> - Parâmetros de função renal e equilíbrio hídrico de machos após 12 semanas de dieta.....	60
<b>Figura 22</b> - Parâmetros de função renal e equilíbrio hídrico de fêmeas após 12 semanas de dieta.....	61
<b>Figura 23</b> - Parâmetros de função glomerular em machos.....	63
<b>Figura 24</b> - Parâmetros de função glomerular em fêmeas.....	64
<b>Figura 25</b> - Parâmetros de função tubular em machos.....	66
<b>Figura 26</b> - Parâmetros de função tubular em fêmeas.....	68
<b>Figura 27</b> - Efeitos da dieta HSB na proteinúria em machos.....	70
<b>Figura 28</b> - Efeitos da dieta HSB na proteinúria em fêmeas.....	71
<b>Figura 29</b> - Marcadores de lesão tubular em machos.....	72
<b>Figura 30</b> - Marcadores de lesão tubular em fêmeas.....	73
<b>Figura 31</b> - Cortes histológicos dos rins de machos corados com PAS.....	75
<b>Figura 32</b> - Quantificação histológica de machos.....	76
<b>Figura 33</b> - Cortes histológicos dos rins de fêmeas corados com PAS.....	77
<b>Figura 34</b> - Quantificação histológica de fêmeas.....	78
<b>Figura 35</b> - Citocinas inflamatórias no tecido renal de machos.....	79
<b>Figura 36</b> - Citocinas inflamatórias no tecido renal de fêmeas.....	80
<b>Figura 37</b> - HSB induz aumento de triglicerídeos no rim em machos.....	81
<b>Figura 38</b> - HSB não induz aumento de triglicerídeos no rim em fêmeas.....	81
<b>Figura 39</b> - Correlação positiva de Pearson em machos.....	82

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ADH** - Hormônio antidiurético

**AGEs** - Produtos finais de glicação avançada

**AIN93G** - *American Institute of Nutrition 93-Growth diet*

**Ang II** - Angiotensina II

**AUC** - Área sob a curva

**BFG** - Barreira de filtração glomerular

**BICBIO-2** - Biotério do Instituto de Ciências Biológicas

**BRA** - Bloqueadores do receptor de angiotensina

**CCr** - *Clearance* de creatinina

**CETPs** - Células epiteliais do túbulo proximal

**CEUA** - Comissão de Ética no Uso de Animais

**DAPA** - Dapagliflozina

**DC** - Dieta controle

**DM** - Diabetes *mellitus*

**DM1** - Diabetes *mellitus* tipo 1

**DM2** - Diabetes *mellitus* tipo 2

**DRC** - Doença renal crônica

**DRD** - Doença renal diabética

**DRET** - Doença renal em estágio terminal

**ECA** - Enzima conversora de angiotensina

**ET-1** - Endotelina-1

**FE** - Fração de excreção

**GESF** - Glomeruloesclerose segmentar focal

**GGT** - Gama-Glutamiltransferase

**GRO** - Glomerulopatia relacionada à obesidade

**HbA1c** - Hemoglobina glicada

**HSB** - *High sugar and butter diet*

**IFN** - Interferon

**IL-1** - Interleucina 1

**IL-1 $\beta$**  - Interleucina-1 beta

**IL-6** - Interleucina 6

**IMC** - Índice de massa corporal

**IRA** - Insuficiência renal aguda

**iSGLT2** - Inibidores do cotransportador de Sódio-Glicose 2

**LDH** - Lactato desidrogenase

**MBG** - Membrana basal glomerular

**MCP-1** - Proteína quimiotática de monócitos-1

**MS** - Ministério da Saúde

**OMS** - Organização Mundial da Saúde

**PAS** - Ácido Periódico de Schiff

**PKC** - Proteína quinase C

**PTECs** - Células epiteliais tubulares proximais renais

**qPCR** - PCR quantitativa

**RE** - Retículo endoplasmático

**RI** - Resistência à insulina

**ROS** - Espécies reativas de oxigênio

**SGLT2**- Cotransportador de Sódio-Glicose 2

**SRA** - Sistema renina-angiotensina

**STZ** - Estreptozotocina

**TAE** - Tecido adiposo epididimal

**TAM** - Tecido adiposo mesentérico

**TAPO** - Tecido adiposo periovariano

**TAPR** - Tecido adiposo perirenal

**TAR** - Tecido adiposo retroperitoneal

**TAV** - Tecido adiposo visceral

**TFG** - Taxa de filtração glomerular

**TFGe** - Taxa de filtração glomerular estimada

**TG** - Triglicerídeos

**TGF-beta** - Fator de crescimento transformador beta

**TNF- $\alpha$**  - Fator de necrose tumoral alfa

**TOTG** - Teste oral de tolerância à glicose

**TRS** - Terapia de substituição renal

**UFMG** - Universidade Federal de Minas Gerais

**VEGF** - Fator de crescimento endotelial vascular

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.1 Rins e função renal clássica.....	18
1.2 Estrutura e função glomerular.....	19
1.3 Estrutura e função tubular.....	23
1.4 Mecanismo de reabsorção de proteínas pelo túbulo proximal.....	25
1.5 Doença renal crônica.....	26
1.6 Obesidade.....	28
1.8 Diabetes mellitus tipo 2 e doença renal.....	31
1.9 Mecanismos envolvidos na doença renal associada à obesidade.....	32
1.10 Farmacoterapia para DM2 e DRC: as glifozinas.....	34
1.11 Papel do SGLT2 na doença renal induzida pelo consumo de dieta hiperpalatável....	36
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>38</b>
2.1 Objetivo geral.....	38
2.2 Objetivos específicos.....	38
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
3.1 Animais.....	39
3.2 Dietas e desenho experimental.....	39
3.3 Teste oral de tolerância à glicose.....	42
3.4 Análise de composição corporal e índice de Lee.....	42
3.5 Avaliação da função renal.....	43
3.6 Extração de RNA e RT-qPCR.....	44
3.7 Extração e análise de lipídeos no rim.....	44
3.8 Morfologia renal.....	45
3.9 Análise estatística.....	45
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>46</b>
4.1 Consumo de dieta HSB promoveu ganho de peso em machos e fêmeas.....	46
4.2 Dieta HSB aumentou índice de adiposidade em machos e fêmeas.....	50

4.3 Dieta HSB induziu alterações glicêmicas em machos que foram revertidas com tratamento com DAPA.....	54
4.4 Dieta HSB altera perfil lipídico sérico de fêmeas.....	56
4.5 Dieta HSB não induz aumento do peso renal em machos e fêmeas.....	56
4.6 Parâmetros de função renal e balanço hídrico após dieta HSB: papel da inibição de SGLT2 via tratamento com dapagliflozina.....	58
4.7 Inibição de SGLT2 via dapagliflozina protege a disfunção glomerular induzida pela dieta HSB em machos.....	61
4.8 Inibição de SGLT2 via dapagliflozina aumenta a excreção de potássio e glicose em machos HSB.....	64
4.9 Inibição de SGLT2 via tratamento com dapagliflozina melhora proteinúria de origem tubular induzida pela dieta HSB em machos.....	68
4.10 Inibição de SGLT2 via tratamento com dapagliflozina atenua aumento dos marcadores de lesão tubular renal em camundongo machos.....	71
4.11 HSB promoveu alterações histológicas e morfométricas nos rins de machos que foram atenuadas com tratamento com DAPA.....	73
4.12 HSB causa inflamação renal em machos e DAPA é capaz de diminuir a inflamação	78
4.13 HSB causa acúmulo de triglicerídeos no rim em machos e DAPA é capaz de reduzir o acúmulo.....	80
4.14 Efeito da lipotoxicidade na inflamação e proteinúria.....	81
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>83</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>101</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>102</b>
<b>ANEXO A – APROVAÇÃO CEUA.....</b>	<b>122</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o sobrepeso e a obesidade têm aumentado exponencialmente, tornando-se cada vez mais prevalentes tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, e assim contribuindo para o desenvolvimento de doenças crônicas (MULLER et al., 2019). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2025 estima-se que 2,3 bilhões de adultos no mundo estejam acima do peso, sendo 700 milhões com obesidade, isto é, com índice de massa corporal (IMC) acima de 30 kg/m<sup>2</sup> (ABESO, 2016). No Brasil, a obesidade é um dos problemas que mais afeta a população. De acordo com dados publicados pelo Ministério da Saúde (MS), houve um aumento de 89% nos últimos quinze anos, saindo de 11,8% em 2006 para 22,4% em 2021 (VIGITEL, 2021).

A obesidade é uma condição que está relacionada ao aumento do risco de várias condições e doenças crônicas, que incluem asma, câncer, hipercolesterolemia e doenças cardiovasculares, dentre elas, o diabetes *mellitus* (SAFAEI et al., 2021). A associação entre obesidade e *diabetes mellitus* é conhecida de longa data. A maioria dos pacientes acima do peso ou obesos apresentam resistência à insulina, o que aumenta as chances de desenvolver *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2). A associação entre obesidade e DM2 eleva o risco de doença coronariana, hipertensão, acidente vascular encefálico e disfunção renal (WANG et al., 2018; PAULA, 2006).

Um dos principais mecanismos pelos quais a obesidade aumenta o risco de desenvolver diabetes são as complicações metabólicas causadas pelo acúmulo de lipídeos predominante na parte superior do corpo (gordura subcutânea abdominal e intra-abdominal) (KLEIN et al., 2022), e que resultam em intolerância à glicose, hiperinsulinemia, e resistência à insulina (RI) (WANG et al., 2018; KAHN; HULL; UTZSCHENEIDER, 2006). Além disso, dietas ricas em gordura são acompanhadas por aumento do estresse oxidativo nos tecidos hepático, renal e cardíaco, bem como, alterações funcionais e metabólicas. Essas alterações incluem aumento da inflamação cardíaca, fibrose e hipertrofia; bem como aumento do peso do fígado, deposição de gordura, inflamação e fibrose (ZEENI et al., 2015).

Diversos estudos têm correlacionado o acúmulo anormal de lipídios em tecidos periféricos e a indução de RI, após consumo de dieta rica em gordura, com um declínio progressivo da função renal em modelos animais (MULLER et al., 2019; HANDY; HOLLOWAY, 2023). A literatura relata uma importante associação entre o acúmulo de lipídeos renais e o aumento de mediadores pró-inflamatórios renais, como: interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (MARTINS; MÁZ,

2015). A deposição excessiva de lipídeos renais causa lesão das células tubulares renais, danos aos podócitos, alterações estruturais dos glomérulos e esclerose mesangial. Esse processo está associado ao desenvolvimento de proteinúria, glomerulonefrite e doença renal crônica (DRC). Além disso, o aumento da pressão arterial, vasodilatação renal e hiperfiltração glomerular, características fisiopatológicas predominantes na obesidade causam sobrecarga hemodinâmica dos rins, desencadeando lesões no parênquima renal (KATAOKA; NITTA; HOSHINO, 2023). Entretanto, não está claro se esses processos são mediados ou não pelas alterações promovidas pela DM2 secundária à obesidade.

A prevalência de complicações renais em pacientes com DM2 (conhecida como doença renal diabética - DRD) atinge cerca de 40%, podendo evoluir para doença renal em estágio terminal (DRET) (SHIN et al., 2016). DRET é um estágio avançado da DRC, equivalente à falência total do órgão ou falência renal, onde somente as terapias de reposição renal são a única esperança de sobrevivência dos pacientes nefropatas (IMAMAH; LIN, 2021). A fisiopatologia da DRD compreende uma interação de diversos fatores metabólicos, como vias dependentes de altas concentrações de glicose, e fatores hemodinâmicos como super-ativação de componentes do sistema renina-angiotensina (SRA) e endotelina-1 (ET-1), além de vias inflamatórias e outras vias alternativas (SALEH et al., 2020). Dentre a grande variedade de fatores envolvidos na fisiopatologia da DRD, vários trabalhos indicam os efeitos deletérios de altas concentrações de glicose sobre as células renais como fator crucial. Uma corrente de pensamento propõe que a disfunção vascular induzida pela hiperglicemia é o mecanismo inicial da nefropatia, sendo também influenciado por um conjunto de mecanismos patológicos, como: estresse, inflamação e fibrose (ELKAZZAZ et al., 2021). Por outro lado, dados mais recentes, apontam os efeitos deletérios do alto influxo de glicose em células epiteliais glomerulares (podócitos) e células epiteliais do túbulo proximal (CETPs) como eventos iniciais do desenvolvimento da DRD (FARIAS et al., 2023). Portanto, o descontrole glicêmico é um fator de extrema importância na patogênese da DRD.

No controle da hiperglicemia na DM2, os inibidores do cotransportador de sódio-glicose 2 (SGLT2) ou gliflozinas, são uma nova classe de fármacos antidiabéticos que atuam no rim para reduzir a reabsorção de glicose no túbulo proximal (YANG et al., 2022). Como SGLT2 é responsável por aproximadamente 90% da reabsorção tubular de glicose filtrada pelos glomérulos, sua inibição reduz a reabsorção renal de glicose e sódio, reduzindo os níveis de glicose no sangue (MA et al., 2019). A dapagliflozina (DAPA), a primeira gliflozina e uma molécula derivada do seu precursor florizina, foi lançada como um inibidor de SGLT2 e seu efeito hipoglicemiante foi confirmado em muitos ensaios clínicos, que

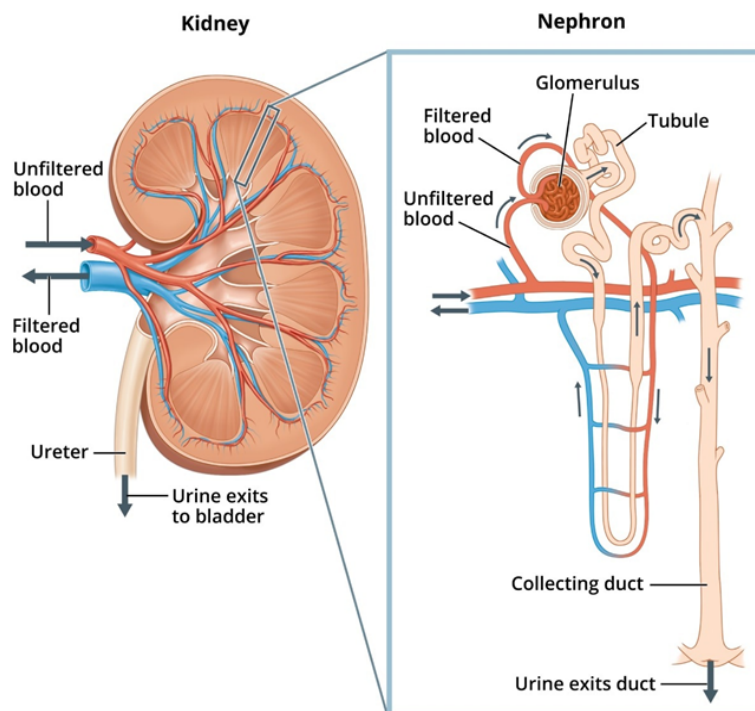
demonstraram redução de hemoglobina glicada (HbA1c), glicemia de jejum e glicemia pós-prandial (FERRANNINI et al., 2010; ANITHA et al., 2022). Além do seu efeito hipoglicemiante, foi mostrado que inibidores de SGLT2 poderiam diminuir o estresse oxidativo, a inflamação e a apoptose induzidas por altos níveis de glicose nas células epiteliais tubulares proximais (JAIKUMKAO et al., 2018). Estudos recentes mostram que entre pacientes com DRC, independentemente da presença de diabetes, o risco de declínio sustentado na taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) de pelo menos 50%, progressão para doença renal em estágio terminal ou morte por causas renais ou cardiovasculares foi significativamente menor após o tratamento com DAPA em comparação com placebo (HEERSPINK et al., 2020). Apesar de atestada a eficácia do efeito nefroprotetor da DAPA, o mecanismo molecular envolvido nesse processo ainda não foi elucidado.

Interessantemente, têm sido demonstrada uma possível correlação entre alterações na maquinaria endocítica envolvida na reabsorção tubular de proteínas com o desenvolvimento de lesão tubular e de albuminúria. Recentemente, FARIAS et al. (2023) mostraram que DAPA atenuou o desenvolvimento de proteinúria de origem tubular, associada à lesão tubular em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina (STZ), um modelo de DRD secundária ao diabetes *mellitus* do tipo 1 (DM1). Além disso, esse efeito protetor tem sido associado à modulação de componentes da maquinaria endocítica e suas vias de sinalização associadas ao alto influxo luminal de glicose (DE BARROS PERUCHETTI et al., 2018). Esses dados sugerem que o alto influxo de glicose via SGLT2 em CETPs promovem disfunção da maquinaria de endocitose de proteínas resultando em lesão túbulo-intersticial e proteinúria observadas na DRD secundária a DM1. No entanto, a possível participação desses mecanismos celulares e moleculares no desenvolvimento de lesão renal induzida pela DM2 secundária à obesidade ainda precisa ser investigada.

## 1.1 Rins e função renal clássica

Em humanos, os rins são órgãos localizados na região da cavidade retroperitoneal que possuem processo fundamental na manutenção do meio interno, principalmente, através do ajuste da osmolaridade plasmática, do volume extracelular / pressão arterial e do equilíbrio ácido-base. O rim executa com excelência suas funções através de três processos básicos: (1) filtração (processo ultrafiltração do plasma) seguido de (2) reabsorção e/ou (3) secreção. Através dos mecanismos de reabsorção, o rim é capaz realizar a manutenção e conservação de componentes essenciais ao organismo (eletrólitos, solutos orgânicos e água) que foram filtrados. Por outro lado, através da filtração e secreção, o rim possui uma alta capacidade de depuração de substâncias, prevenindo o acúmulo de substâncias indesejáveis, seja aquelas ingeridas ou produzidas pelo metabolismo, e que não são mais necessárias ao corpo. Essas substâncias incluem ureia, creatinina, ácido úrico, produtos finais da degradação da hemoglobina e metabólitos de vários hormônios. Elas devem ser eliminadas tão rapidamente quanto são produzidas. Além disso, os rins são responsáveis por produzir hormônios como a eritropoietina, renina e vitamina D (HALL, 2011).

Esses processos básicos são exercidos pelas unidades morfofuncionais, os néfrons. Eles são formados por estruturas com uma íntima relação túbulo-vascular (descrita a seguir). Para desempenharem suas funções, eles possuem uma organização celular altamente especializada. Cada rim contém cerca de um milhão de néfrons, cujas subestruturas estão distribuídas entre o córtex e medula renal (FIGURA 1). A função renal é resultante da ação de todos os néfrons simultaneamente. Cada néfron contém um corpúsculo renal, formado por um grupo de capilares glomerulares chamado glomérulo e uma cápsula epitelial (onde ocorre a filtração inicial do sangue que chega aos rins). Em seguida, diferentes estruturas tubulares organizadas em série - que incluem o túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e ducto coletor - realizam os processos de reabsorção e secreção das substâncias filtradas. O resultado dos processos desencadeados pelo néfron é a formação da urina (HALL, 2011).

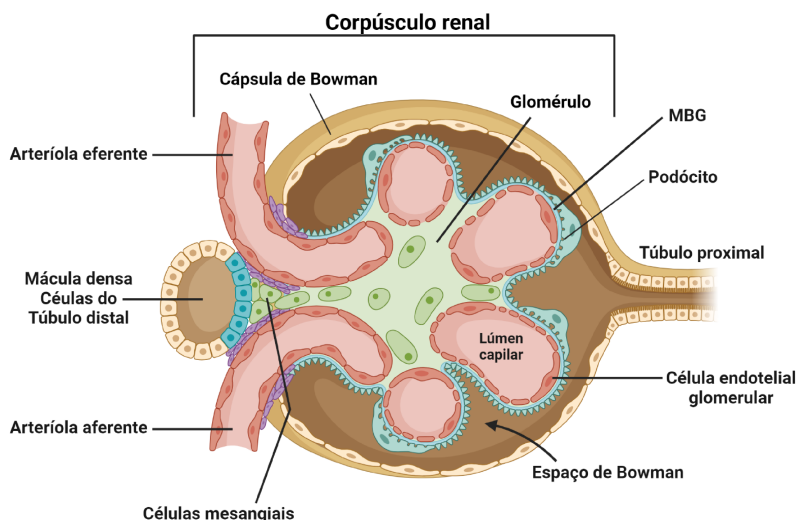


**Figura 1** - Ilustração dos rins, distribuição do néfron e suas partes principais. A imagem ilustra a estrutura do rim e de um néfron, que é a unidade funcional responsável pela filtração do sangue. No lado esquerdo, vemos o rim, com o caminho do sangue não filtrado chegando ao órgão e o sangue filtrado saindo para a circulação. No lado direito, há um destaque para o néfron, com o glomérulo, onde ocorre a filtração inicial do sangue, e os túbulos, onde a reabsorção e secreção ocorrem, culminando na coleta da urina nos ductos coletores. A urina final sai do ducto coletor em direção ao ureter.

Fonte: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney diseases, 2020.

## 1.2 Estrutura e função glomerular

A parte inicial do néfron, chamada de corpúsculo renal, é formada pelo glomérulo (FIGURA 2). Os capilares glomerulares, que se originam da arteríola aferente e desembocam na arteríola eferente, são recobertos por células epiteliais chamadas de podócitos, e todo o glomérulo é envolvido pela cápsula de Bowman. Além disso, o glomérulo contém células mesangiais e matriz mesangial, localizadas entre os capilares glomerulares. As células mesangiais têm funções contráteis e fagocíticas, contribuindo para a manutenção da estrutura e função do glomérulo (HALL, 2011).



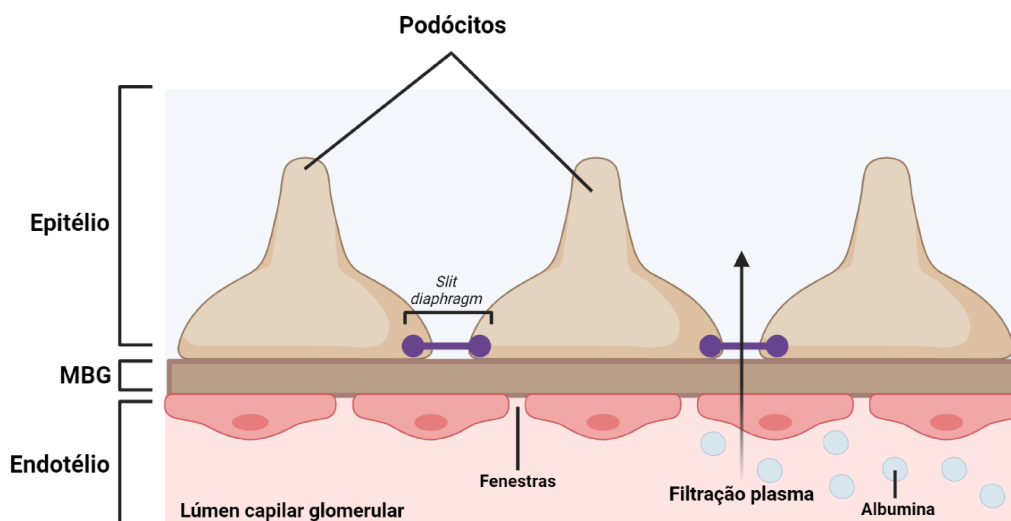
**Figura 2** - Representação esquemática do glomérulo e seus componentes. A imagem mostra uma representação esquemática do corpúsculo renal, destacando a estrutura do glomérulo. Ela inclui as arteríolas aferente e eferente, que trazem e levam o sangue, respectivamente. Também são mostrados componentes importantes, como a cápsula de Bowman, os podócitos, a MBG, células endoteliais, e as células mesangiais. A imagem enfatiza as interações entre essas estruturas no processo de filtração do sangue, levando à formação da urina no túbulo proximal.

\*MBG = membrana basal glomerular

Fonte: Moraes, M.C. Estrutura do Glomérulo Renal. Criação com BioRender, 2024. Adaptado de ANDERS, Hans-Joachim et al., 2023.

Os glomérulos possuem a membrana/barreira de filtração glomerular (BFG) que é formada por três camadas principais: (1) o endotélio capilar fenestrado, (2) a membrana basal glomerular (MBG) e (3) a camada de células epiteliais internas (podócitos), sobre a superfície externa da membrana basal capilar (FIGURA 3) (HALL, 2011). A BFG possui maior permeabilidade à água e solutos do que membrana capilar presentes em outros sistemas (VENKATACHALAM; RENNKE, 1978; DEEN et al., 2004). Apesar da alta intensidade de filtração, a BFG é seletiva na determinação de quais moléculas serão filtradas, com base no seu tamanho e em sua carga elétrica (HALL, 2011). Este fato garante uma alta restrição à passagem de molécula de raio molecular efetivo mais elevado, como as proteínas plasmáticas de alto peso molecular. Além da permeabilidade seletiva conferida pela BFG, um outro fator determinante da filtração glomerular é a pressão efetiva de ultrafiltração (a força motriz desse processo) (LEATHERBY; THEODOROU; DHANDA, 2021). A filtração glomerular é medida pela taxa de filtração glomerular (TFG), onde clinicamente é determinada pelo *clearance* renal de creatinina ou inulina (CUSUMANO; TZANNO-MARTINS; ROSA-DIEZ,

2021; FILLER; YASIN; MEDEIROS, 2014). O ultrafiltrado resultante, entra nos túbulos renais, ele flui pelas porções sucessivas do túbulo — túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal, túbulo coletor e, finalmente, ducto coletor — antes de ser excretado como urina. Ao longo desse curso, algumas substâncias são seletivamente reabsorvidas nos túbulos de volta para o sangue, como as proteínas de baixo peso molecular, enquanto outras são secretadas do sangue para o lúmen tubular (HALL, 2011).



**Figura 3** - Representação da barreira de filtração glomerular. A figura mostra a barreira de filtração glomerular com destaque para os podócitos, cujos processos formam extensões que envolvem os capilares glomerulares. Entre essas extensões, o "slit diaphragm" (diafragma de fenda) regula a passagem de proteínas e outras moléculas durante a filtração. Abaixo da camada dos podócitos, as fenestras (pequenas aberturas) nas células endoteliais permitem a passagem de fluidos e solutos, formando parte da barreira de filtração ao lado da MBG. Essa estrutura garante a seletividade no processo de filtração do sangue nos rins.

\*MBG = membrana basal glomerular

Fonte: Moraes, M.C. Camadas da barreira de filtração glomerular. Criação com BioRender, 2024. Adaptado de EBEFORS, Kerstin et al., 2021.

Quando a BFG sofre "ruptura" ou aumenta a sua permeabilidade, devido a danos em seus componentes, ela perde a capacidade de selecionar adequadamente o que deve ser filtrado. Isto pode resultar em um "vazamento" de proteínas do plasma para a urina (proteinúria), que está associada à perda da função renal e representa um fator de risco para a progressão da doença para falência de órgãos (SU et al., 2023). Os podócitos como células epiteliais do glomérulo que envolvem as paredes capilares dentro do tufo glomerular, são expostos exclusivamente a mudanças metabólicas e pressões hemodinâmicas, o que os tornam vulneráveis a lesões (ALGHAMDI et al., 2017). A maioria das doenças renais de etiologia

glomerular é caracterizada pela quebra da BFG (DAEHN; DUFFIELD, 2021). A MBG é composta por uma trama de colágeno e fibrilas proteoglicanas, que apresentam grandes espaços por onde uma quantidade significativa de água e pequenos solutos podem ser filtrados. Essa membrana atua de maneira eficiente na prevenção da filtração de proteínas plasmáticas, em parte devido às fortes cargas elétricas negativas associadas aos proteoglicanos. Além disso, a MBG fornece suporte estrutural ao tufo glomerular (ARIF; NIHALANI, 2013). O espessamento da MBG frequentemente precede a albuminúria clinicamente evidente (MARSHALL, 2016).

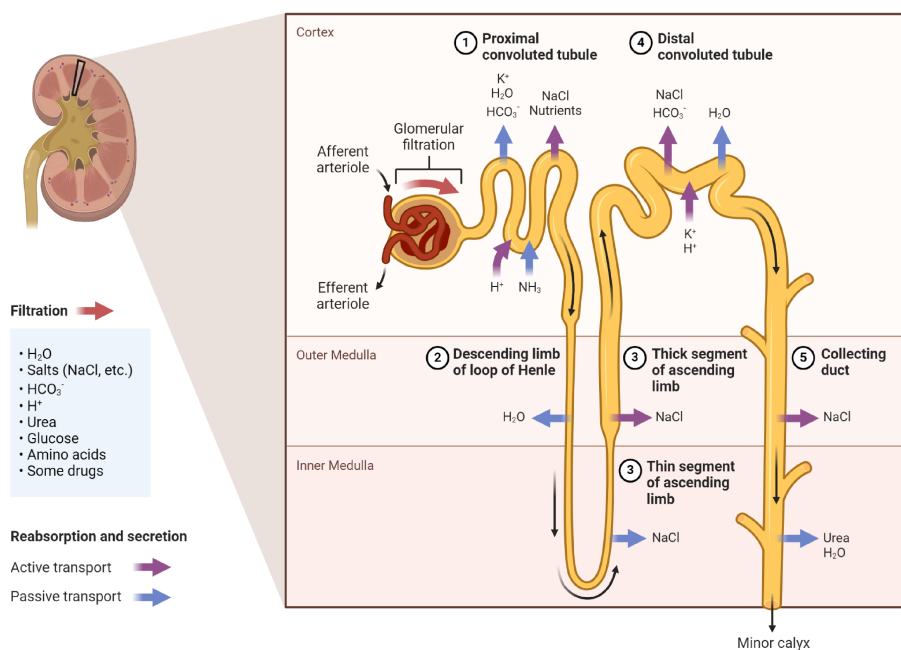
Podócitos ou células epiteliais viscerais são células terminalmente diferenciadas que revestem a superfície externa dos capilares glomerulares. Como um componente principal do aparelho de ultrafiltração, os podócitos têm uma arquitetura celular complexa que consiste em corpo celular, processos principais e processos podais (REISER, 2016). A resposta dos podócitos a lesões é determinada por alterações moleculares e estruturais. Eles cobrem a parte externa da MBG e estão envolvidos em uma variedade de funções glomerulares, incluindo manutenção da barreira de filtração, regulação da filtração glomerular, suporte do tufo capilar, renovação da MBG e funções imunológicas. Portanto, formam uma barreira final à perda de proteínas, o que explica porque a lesão do podócito é tipicamente associada à proteinúria acentuada (ASANUMA et al., 2007). A lesão crônica dessa estrutura pode também levar ao descolamento do podócito da MBG (ASANUMA; MUNDEL, 2003). Dependendo da gravidade e do tempo, as mudanças nas funções dos podócitos evoluem para um quadro de comprometimento da TFG e albuminúria (MUNDEL; SHANKLAND, 2002; SHANKLAND, 2006). Podocina, assim como a nefrina, são proteínas presentes na membrana plasmática do podócito na área do diafragma de fenda. Mutações no gene que codifica a podocina, causam síndrome nefrótica e glomeruloesclerose. Além disso, já foi demonstrado que tanto humanos quanto camundongos sem expressão de nefrina, nascem sem diafragmas de fenda típicos e exibem proteinúria maciça (MINER, 2002).

Considerando que existe um número finito de podócitos por glomérulo e que cada podócito cobre uma área específica da MBG, a diminuição do número de podócitos resulta em uma insuficiência para cobrir adequadamente essa área específica da membrana basal (MUNDEL; SHANKLAND, 2002). A perda de podócitos e a incapacidade de substituir aqueles que foram perdidos devido à falta de proliferação resultam em uma MBG descoberta, o que se torna um ponto inicial de depósito de matriz desencadeando glomeruloesclerose (MUNDEL; SHANKLAND, 2002). Em glomerulopatias caracterizadas por hipertrofia glomerular, incluindo nefropatia diabética, os podócitos sofrem hipertrofia para cobrir a área

de superfície aumentada da MBG. Se esse aumento não for proporcional, isso pode levar ao descolamento dos podócitos (BARUTTA; BELLINI; GRUDEN, 2022). Quando a injúria podocitária persiste, é comum o tecido normal ser substituído por tecido fibrótico, levando à perda funcional renal (LOPES et al., 2019).

### 1.3 Estrutura e função tubular

Após a filtração inicial do sangue pelos glomérulos, o ultrafiltrado resultante entra nos túbulos renais, fluindo pelas porções sucessivas: túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e, finalmente, o ducto coletor, antes de ser excretado como urina. Ao longo desse curso, algumas substâncias são seletivamente reabsorvidas nos túbulos de volta para o sangue enquanto outras são secretadas, do sangue para o lúmen tubular (FIGURA 4) (HALL, 2011).



**Figura 4** - Representação da reabsorção e secreção renal tubular. A figura mostra uma representação detalhada dos processos de reabsorção e secreção ao longo do túbulo renal. No túbulo proximal, substâncias como íons, glicose e água são reabsorvidas de volta para o sangue, enquanto resíduos e substâncias indesejadas são secretados para o túbulo. No ramo descendente da alça de Henle, ocorre a reabsorção de água, e no ramo ascendente, íons são reabsorvidos. No túbulo distal e ducto coletor, a regulação fina de íons e água continua, influenciada por hormônios como aldosterona e hormônio antidiurético (ADH), ajustando a composição final da urina.

Fonte: BioRender, 2020. Kidney Reabsorption and Secretion.

Através de mecanismos seletivos de transporte ativo e passivo, essas estruturas modulam a composição final da urina, ajustando o balanço de água, eletrólitos e nutrientes, e garantindo a eliminação de substâncias tóxicas do organismo (SANDS; LAYTON, 2009). Esta grande capacidade de reabsorção de água e solutos somente é possível devido a presença das microvilosidades na membrana apical, bem como de mecanismos celulares especializados que permitem a reabsorção de substâncias que normalmente não devem ou não podem ser excretadas na urina. Estas microvilosidades aumentam a superfície de contato com o filtrado glomerular, o que favorece o processo de reabsorção (COSTANZO, 2007).

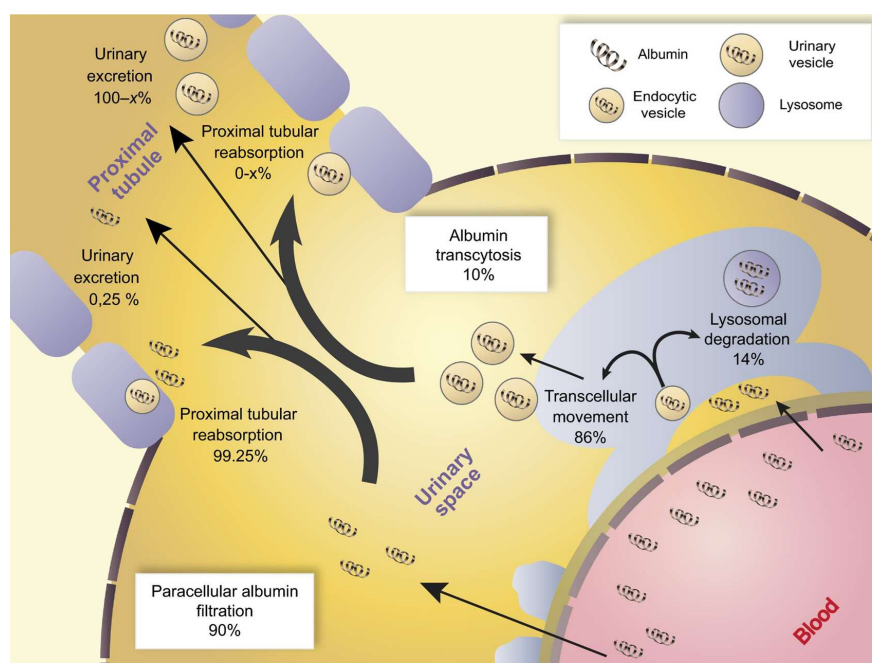
Os processos de reabsorção e secreção tubular envolvem mecanismos de transporte ativo e passivo, ocorrendo por diferentes vias. Por exemplo, água e solutos podem ser transportados, tanto através das próprias membranas celulares (*via transcelular*) quanto através dos espaços juncionais entre as junções celulares (*via paracelular*) (HALL, 2011; FERAILLE et al., 2022). Ao contrário da filtração glomerular, que é relativamente não seletiva, permitindo a passagem de quase todos os solutos plasmáticos, exceto as proteínas e as substâncias a elas ligadas, a reabsorção tubular é um processo altamente seletivo (HALL, 2011). Como exemplo de substâncias que são parcialmente reabsorvidas, podemos citar a água e os íons, aproximadamente 99% é reabsorvida ao longo dos túbulos renais. Em contrapartida, solutos como glicose e aminoácidos são reabsorvidos quase que totalmente, de modo que, em condições normais, não se espera a presença dessas substâncias na urina (RUBENSTEIN; YIN; FRAME, 2022). Ao longo do túbulo, existem variações nas intensidades de reabsorção de água e solutos. No entanto, é fato que pelo menos 65% da água e íons, e 100% da glicose e aminoácidos são reabsorvidos já no túbulo contorcido proximal, sendo o principal local de reabsorção. As demais quantidades são reabsorvidas ao longo das outras porções (HALL, 2011).

As seções subsequentes dos túbulos renais reabsorvem progressivamente menores quantidades de água e solutos. Em particular, o ramo ascendente de Henle e o túbulo contorcido distal apresentam uma impermeabilidade quase total à água (FERAILLE et al., 2022). A partir do túbulo proximal, o líquido flui para o interior da *alça de Henle*. Com suas porções descendente e ascendente, é fundamental para a concentração e diluição da urina, graças ao mecanismo contracorrente que permite a criação de um gradiente osmótico na medula renal (ABDALLA, 2020). O túbulo contorcido distal e o túbulo coletor são regiões onde ocorrem ajustes finos na reabsorção, processos que são altamente influenciados por hormônios como a aldosterona e o ADH (OGOBUIRO; TUMA, 2019).

Além da regulação do equilíbrio de água e eletrólitos, os túbulos renais desempenham um papel crucial na manutenção do equilíbrio ácido-base, por meio da secreção e reabsorção de íons hidrogênio e bicarbonato (RAJKUMA; PLUZNICK, 2018). O funcionamento adequado desses túbulos é fundamental para a prevenção de distúrbios eletrolíticos e acidose metabólica, condições que, se não tratadas adequadamente, podem resultar em complicações severas (DHONDUP; QIAN, 2017). Além disso, os túbulos renais são vulneráveis a uma variedade de lesões, incluindo hipóxia, proteinúria, toxinas, distúrbios metabólicos e senescência, podendo desencadear doença renal (LIU et al., 2018).

#### 1.4 Mecanismo de reabsorção de proteínas pelo túbulo proximal

O túbulo proximal desempenha um papel crucial na reabsorção de proteínas filtradas, sendo essencial para a recuperação tubular de vitaminas, hormônios, enzimas e medicamentos. Por meio da captação eficiente de praticamente todas as proteínas filtradas, substâncias potencialmente biologicamente ativas são eliminadas do ultrafiltrado e, conseqüentemente, segmentos posteriores não são expostos a essas substâncias (NIELSEN; CHRISTENSEN; BIRN, 2016). Sendo este um processo fundamental para a manutenção da homeostase proteica e a prevenção de perda excessiva de proteínas na urina (FIGURA 5).



**Figura 5** - Representação do processo de filtração e reabsorção da albumina no túbulo proximal do néfron. A maior parte da albumina filtrada (aproximadamente 99,25%) é reabsorvida pelo túbulo proximal, com uma pequena fração sendo excretada na urina (0,25%).

Fonte: CASTROP, Hayo e SCHIEBL, Ina Maria, 2017.

Os receptores endocíticos megalina e cubilina foram identificados como receptores essenciais nesse processo, cada um ligando-se a uma variedade de proteínas filtradas. A megalina é altamente expressa nas membranas apicais do túbulo proximal; mais especificamente, está localizada na borda em escova. E a cubilina, é coexpressa com megalina nos compartimentos endocíticos apicais do túbulo proximal, e também foi demonstrado recentemente em podócitos de ratos e humanos (NIELSEN; CHRISTENSEN; BIRN, 2016).

A deficiência desses receptores pode ter consequências significativas para a função renal. Quando essas proteínas estão ausentes ou disfuncionais, a capacidade do túbulo proximal de reabsorver proteínas filtradas é drasticamente reduzida, levando a presença anormal de proteínas na urina. Em doenças associadas à proteinúria foi identificado uma redução na expressão renal de megalina (BIRN; CHRISTENSEN, 2006). Proteinúria persistente pode ser um sinal precoce de disfunção renal e está associada à progressão de várias formas de DRC. A disfunção dos receptores foi sugerida em uma série de distúrbios adquiridos e comuns associados à proteinúria, como insuficiência renal aguda (IRA), DRC, diabetes e hipertensão (NIELSEN; CHRISTENSEN; BIRN, 2016).

A reabsorção excessiva de proteínas está envolvida na progressão da DRC, pois ativa diversas vias nas células do túbulo proximal, resultando em apoptose, estresse do retículo endoplasmático, inflamação intersticial, fibrose e potencial transformação epitelial-mesenquimal (BIRN; CHRISTENSEN, 2006; ZOJA; ABBATE; REMUZZI, 2015).

A proteinúria tem sido tradicionalmente dividida em proteinúria tubular e glomerular. Os defeitos básicos que levam à proteinúria tubular se originam no túbulo proximal, resultando na excreção de proteínas que são normalmente reabsorvidas de forma muito eficiente pelo túbulo proximal por endocitose mediada por receptor. As doenças de proteinúria glomerular têm sua origem em defeitos da barreira de filtração glomerular, introduzindo assim proteínas, que normalmente não são filtradas ou são filtradas apenas em quantidade limitada, no ultrafiltrado glomerular (CHRISTENSEN; GBUREK, 2004). A proteinúria é um biomarcador bem estabelecido da DRC, e é um preditor de risco de desfechos de doenças associadas. A proteinúria também é um fator determinante da progressão da DRC em direção à DRET (MAKHAMMAJANOV et al., 2024).

## **1.5 Doença renal crônica**

A DRC é uma doença progressiva, sem cura, com alta morbidade e mortalidade, que afeta predominantemente a população adulta em geral, especialmente aqueles com diabetes e

hipertensão. É caracterizada por alterações estruturais e funcionais no rim devido a várias causas, e é tipicamente definida como uma redução na função renal, uma TFGe de menos de 60 mL/min por 1,73 m<sup>2</sup>. Além disso, pode ser identificada por marcadores de danos renais, como albuminúria e hematúria, alterações histológicas na biópsia renal, distúrbios hidroeletrólíticos persistentes (WEBSTER et al., 2017; AMMIRATI, 2020). A carga global da DRC é substancial e está em crescimento constante. Estima-se que cerca de 10% dos adultos em todo o mundo são afetados por alguma forma de DRC, resultando em 1,2 milhões de mortes e 28,0 milhões de anos de vida perdidos a cada ano. Até 2040, a DRC deverá se tornar a quinta principal causa de morte globalmente, representando um dos maiores aumentos projetados de qualquer causa importante de morte (KALANTAR-ZADEH et al., 2021).

A DRC pode ser causada por diversos fatores, sendo os principais o *diabetes mellitus* e hipertensão arterial (WEBSTER et al., 2017), que podem danificar os vasos sanguíneos nos rins e levar a condições como a nefropatia diabética e a doença renal hipertensiva (VAN BUREN; TOTO, 2011). Outras causas comuns incluem a glomerulonefrite crônica, que é a inflamação dos glomérulos, e doenças renais císticas, como a doença policística, que provocam a formação de cistos nos rins e causam dano renal progressivo. Além disso, fatores de risco adicionais incluem histórico familiar de doença renal, uso excessivo de medicamentos nefrotóxicos e doenças cardiovasculares (AMMIRATI, 2020).

DRC progride de forma lenta e leva à perda irreversível de néfrons, culminando em DRET e/ou morte prematura. Esse processo de progressão é marcado por alterações patológicas que incluem perda de células parenquimatosas, capacidade regenerativa renal reduzida, estresse oxidativo, dano microvascular e inflamação crônica, resultando em fibrose (RUIZ-ORTEGA et al., 2020). A fibrose é um processo de cicatrização não fisiológico, que está associado à deposição excessiva de matriz extracelular e que leva ao comprometimento da função do órgão (ZEISBERG; KALLURI, 2013). Na DRC, a perda de podócitos e sua substituição por matriz extracelular, processo conhecido como glomeruloesclerose, juntamente com a lesão das células tubulares e a subsequente fibrose tubulointersticial, contribuem significativamente para a perda de néfrons (LEAF; DUFFIELD, 2017). Independentemente da causa subjacente, a DRC progride em direção à fibrose tubulointersticial, a qual apresenta uma correlação mais robusta com a gravidade da doença e com a presença de proteinúria do que com a lesão glomerular observada histologicamente. Além disso, lesões tubulointersticiais podem também levar ao desenvolvimento de glomeruloesclerose (RUIZ-ORTEGA et al., 2020).

Clinicamente, a DRC pode se manifestar com uma ampla gama de sintomas que variam com o estágio da doença. Nos estágios iniciais, a doença pode ser assintomática ou apresentar sintomas inespecíficos (AMMIRATI, 2020). À medida que a doença progride, algumas pessoas apresentam sintomas diretamente como resultado de sua função renal prejudicada. Alguns sinais incluem, palidez secundária à anemia, hipertensão, falta de ar, coceira e câimbras, sintomas gastrointestinais, alteração na produção de urina, proteinúria, hematúria, dentre outros. Além disso, a função renal se torna menos eficaz, fazendo com que solutos de retenção urêmica se acumulem no corpo, afetando diversos órgãos e sistemas (WEBSTER et al., 2017).

O diagnóstico da DRC é baseado na avaliação da TFG, análise de biomarcadores como a creatinina e a ureia no sangue, e a presença de proteínas ou sangue na urina. Exames de imagem e biópsias renais também podem ser realizados para identificar a causa subjacente e avaliar o grau de dano renal (WEBSTER et al., 2017).

O manejo da DRC envolve abordar as condições subjacentes e prevenir a progressão da doença. As terapias atuais têm eficácia limitada e apenas retardam a progressão da doença. Incluem o controle rigoroso da pressão arterial e da proteinúria através do bloqueio do SRA usando inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e/ou bloqueadores do receptor de angiotensina (BRA), redução dos níveis glicêmicos em pacientes diabéticos, modificações na dieta para reduzir a carga sobre os rins, e tratamento das complicações associadas, como anemia e desequilíbrios eletrolíticos. Em estágios finais, pode ser necessário iniciar diálise ou considerar o transplante renal para substituir a função renal perdida (AMMIRATI, 2020; RUIZ-ORTEGA et al., 2020).

Vários são os fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento e a progressão da DRC, com destaque para a obesidade e o DM2 (ZHAO; LI, 2023). Essas condições não apenas aumentam a carga metabólica e hemodinâmica sobre os rins, mas também estão associadas a mecanismos inflamatórios e fibrogênicos que aceleram a perda da função renal.

## **1.6 Obesidade**

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo devido a fatores genéticos, ambientais e comportamentais. A obesidade é uma doença crônica e complexa, definida pela OMS como um “acúmulo excessivo de massa gorda que pode ser significativamente prejudicial à saúde”. A prevalência global da obesidade mais que dobrou desde 1980. Em 2015, aproximadamente 12% da população adulta mundial, o equivalente a

641 milhões de pessoas, foi classificada como obesa. Se as tendências atuais continuarem, até 2025, aproximadamente 18% dos homens e 21% das mulheres em todo o mundo estarão com obesidade (YAU et al., 2024).

A dieta desempenha um papel crucial no controle do peso corporal. Manter um peso corporal saudável e prevenir o ganho de peso são aspectos centrais das orientações alimentares (DICKEN; BATTERHAM, 2024). O principal fator que contribui para o ganho de peso é a ingestão de energia que excede o gasto energético é o principal impulsionador do ganho de peso, resultando no armazenamento do excesso de energia na forma de tecido adiposo (ROMIEU et al., 2017).

Nos últimos anos, uma mudança significativa ocorreu no ambiente alimentar, marcada pela maior disponibilidade e consumo de alimentos ultraprocessados e hiperpalatáveis. Essa transformação alterou os tipos de alimentos e bebidas acessíveis e consumidos pela população, contribuindo para impactos substanciais no aumento da obesidade, devido à densidade calórica elevada e à baixa qualidade nutricional desses produtos (DICKEN; BATTERHAM, 2024).

A definição alimentos hiperpalatáveis refere-se à combinação de nutrientes que promovem uma elevada palatabilidade, como gorduras, açúcares, carboidratos e/ou sódio, em quantidades que ultrapassam determinados limiares. Esses alimentos podem estimular uma resposta exagerada ao sabor, tornando-os mais atraentes e, muitas vezes, levando ao consumo excessivo. Exemplos incluem itens baseados em refeições ricas em gordura e sódio, como pratos à base de carne, sanduíches; doces e sobremesas com alto teor de gordura e açúcar, como biscoitos e tortas; além de lanches com grande quantidade de carboidratos e sódio, como salgadinhos e biscoitos (DE OLIVEIRA CARLOS et al., 2024).

O consumo desses alimentos, caracterizados por sua alta concentração de açúcares, gorduras e aditivos que tornam os alimentos extremamente saborosos, está fortemente associado ao aumento da obesidade. Esses alimentos são projetados para estimular os centros de prazer do cérebro, levando a um consumo excessivo e desregulado (DE MACEDO; DE FREITAS; DA SILVA TORRES, 2016). Como resultado, o consumo frequente dessas dietas hiperpalatáveis contribui para o desequilíbrio energético e o acúmulo de gordura corporal, promovendo o desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades associadas.

## 1.7 Obesidade e doença renal

A obesidade pode afetar a função renal por vias diretas e indiretas (YAU et al., 2024). Ela está fortemente relacionada às duas principais causas de DRC, que são diabetes e hipertensão. Estudos demonstraram associações causais entre obesidade e DRC (YE et al., 2022). IMC elevado, bem como aumento na circunferência da cintura e razão cintura/altura são fatores de risco independentes associados à perda da função renal, referindo-se ao papel geral do rim na manutenção da homeostase e mortalidade em indivíduos com TFG normal ou reduzida (YAU et al., 2024). Pacientes que sofrem de obesidade têm um risco aumentado em duas vezes de desenvolver albuminúria (MCPHERSON et al., 2019).

A obesidade em humanos e modelos experimentais resulta em modificações tanto estruturais quanto funcionais (HENEGAR et al., 2001). Os efeitos diretos incluem glomerulopatia relacionada à obesidade, alterações hemodinâmicas e metabólicas renais. A hiperativação do SRA, hipertensão, desbalanço de adipocinas que levam à lipotoxicidade renal, aumento de inflamação relacionada à obesidade, tais como aumento de citocinas, moléculas pró-inflamatórias, e estresse oxidativo que também podem afetar a função renal (YAU et al., 2024).

Desde a década de 1970, relatos de casos isolados observaram a associação entre obesidade grave, proteinúria, glomerulomegalia marcante e glomeruloesclerose segmentar focal (GESF) (GRIFFIN; KRAMER; BIDANIREF, 2008). Estruturalmente, a obesidade tem sido associada à GESF, que corresponde a um padrão histopatológico de lesão caracterizado por cicatrização segmentar do tufo capilar glomerular com acúmulo de matriz extracelular. E a glomerulopatia relacionada à obesidade (GRO) refere-se aos achados patológicos da GESF que ocorrem secundariamente à obesidade, tipicamente dentro de glomérulos hipertróficos (YAU et al., 2024).

A glomerulomegalia é uma característica patológica destacada, refletindo uma resposta adaptativa à obesidade, impulsionada pelo aumento do fluxo sanguíneo glomerular e pela hiperfiltração. A dilatação da arteríola aferente sustenta a ideia de que a hiperfiltração adaptativa é uma reação à lesão renal. As alterações nas propriedades estruturais e funcionais dos glomérulos em casos de GRO comprometem a integridade dos podócitos, levando à proteinúria. Além disso, a nefrosclerose se desenvolve devido à capacidade limitada dos podócitos maduros de se regenerarem (YAU et al., 2024).

Enquanto a maioria dos indivíduos com obesidade possuem função renal aparentemente "normal" de acordo com os níveis séricos de creatinina, em um estudo

utilizando amostras de biópsia renal coletadas de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica, 38% dos pacientes tinham lesões glomerulares patológicas subclínicas (YAU et al., 2024).

Em modelos animais de obesidade, especialmente aqueles induzidos por dieta hiperlipídica, é possível identificar padrões semelhantes de anomalias metabólicas e cardiovasculares observadas em pacientes com obesidade. Esses modelos induzidos por dieta rica em gorduras têm se mostrado altamente eficazes no estudo dos diversos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de doenças renais associadas à obesidade (MCPHERSON et al., 2019). Em camundongos e ratos, é possível observar albuminúria, glomerulomegalia, expansão de matriz mesangial, glomerulosclerose, aumento de moléculas fibróticas, espessamento da MBG, aumento de inflamação e estresse oxidativo (MCPHERSON et al., 2019; WANG et al., 2018; SUCEDARAM et al., 2021; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2021; GLASTRAS et al., 2016).

## **1.8 Diabetes mellitus tipo 2 e doença renal**

A DRD é um desfecho devastador do diabetes *mellitus* (DM) sendo responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade global (AMORIM et al., 2019). Cerca de 90% dos portadores de DM desenvolvem complicações micro e macrovasculares, sendo a DRD considerada um dos mais graves desfechos clínicos, acometendo 20 a 40% dos seus portadores, e a maioria dos portadores de DRD são diabéticos do tipo 2 (AMORIM et al., 2019). A prevalência do DM2 tem aumentado principalmente em países em desenvolvimento, sendo a principal causa de necessidade de terapia de substituição renal (TRS) nesses países e a segunda causa no Brasil (RIZZATO; SILVA; DE BRITO SOYER, 2020).

O DM2 é cada vez mais reconhecido como a principal causa de insuficiência renal crônica, com muitos pacientes evoluindo para DRET e necessitando de diálise ou transplante (JHAJAY et al., 2016). DRD está associada às alterações funcionais e estruturais dos diferentes tipos de células renais como resposta ao estresse metabólico induzido pelo influxo excessivo de glicose celular, através da ativação de vias metabólicas específicas interligadas ao desequilíbrio redox e inflamação. É clinicamente caracterizada por um aumento progressivo da albuminúria e um declínio subsequente na taxa de filtração glomerular (AMORIM et al., 2019; RIZZATO; SILVA; DE BRITO SOYER, 2020).

A patogênese da DRD é complexa e não está completamente compreendida, no entanto, acredita-se que vários mecanismos contribuem para o seu desenvolvimento, como resistência à insulina, hiperglicemia, alterações hemodinâmicas, fatores genéticos

(VARGHESE; JIALAL; DOERR, 2023). A hiperglicemia crônica leva à ativação de vários processos patológicos, que afetam inúmeras células renais residentes, incluindo as células endoteliais glomerulares, células musculares lisas, células mesangiais, podócitos e células dos ductos tubulares e coletores (FORBES; COOPER, 2013).

A hiperglicemia leva à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e ativação de vias, incluindo proteína quinase C (PKC), poli-ol, hexosamina e produtos finais de glicação avançada (AGEs). Uma característica significativa é a inflamação acentuada manifestada por um aumento de citocinas e quimiocinas, incluindo IL-6, MCP-1 (proteína quimiotática de monócitos-1), TGF-beta (fator de crescimento transformador beta) e VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), causando inflamação, fibrose e aumento da permeabilidade vascular (VARGHESE; JIALAL, 2024).

Os riscos de desenvolvimento e progressão da DRD dependem principalmente da duração do diabetes, do controle glicêmico e do controle da hipertensão. DRD é impulsionada principalmente por três fatores: lesão por hiperfiltração na barreira de filtração glomerular, expansão do mesângio glomerular e estresse oxidativo (BONNER et al., 2020).

As estratégias atuais para o tratamento da DRD visam alcançar um controle glicêmico ótimo, redução da pressão arterial e bloqueio do SRA (VARGHESE; JIALAL, 2024). Se tratando do DM1, o controle glicêmico intensivo tem se mostrado como fator protetivo na DRD, assim como o controle da pressão arterial (DCCT/EDIC RESEARCH GROUP et al., 2014), sendo que seu controle levou a menor taxa de mortalidade por problemas cardiovasculares. Já no DM2, a manutenção da hemoglobina glicada em níveis próximos a 7%, leva a um menor risco de lesões microvasculares, nefropatia incluída (GENUTH et al., 2003), bem como o controle da pressão arterial, por meio do sistema renina-angiotensina, tem sido fundamental na prevenção do desenvolvimento de microalbuminúria (VARGHESE; JIALAL, 2024).

### **1.9 Mecanismos envolvidos na doença renal associada à obesidade**

Ao longo dos anos muitos mecanismos foram propostos para elucidar a fisiopatologia da insuficiência renal crônica relacionada à obesidade (KRAMER, 2006). Uma associação de fatores hemodinâmicos, principalmente hipertensão, juntamente com distúrbios metabólicos, podem exacerbar os danos renais em pacientes obesos. Ademais, a adiposidade visceral promove o acúmulo celular de ácidos graxos livres e triglicerídeos, levando ao estresse oxidativo e à lipotoxicidade. E os mediadores inflamatórios, como adipocinas e

citocinas, e fatores pró fibróticos aumentam a inflamação, a disfunção endotelial e a lesão renal. A obesidade e a DRC compartilham uma associação estreita; no entanto, a fisiopatologia da DRC relacionada à obesidade é aparentemente multifatorial (STASI et al., 2022).

A resposta fisiológica dos rins à obesidade é caracterizada por um aumento do fluxo sanguíneo renal na TFG, e na reabsorção tubular de sódio. Essa resposta é uma tentativa de compensação, a fim de manter o equilíbrio homeostático em um organismo com excesso de peso. Notavelmente, estudos mostram que um IMC mais elevado está fortemente associado a uma TFG aumentada quando comparado ao fluxo renal em indivíduos com peso normal (STASI et al., 2022). Essas respostas adaptativas visam acomodar a maior demanda metabólica e a carga de trabalho renal impostas pelo excesso de peso.

Indivíduos obesos apresentam níveis circulantes mais elevados dos componentes do SRA em comparação com indivíduos magros. Isso tem implicações significativas para a progressão da DRC, pois efeitores do SRA como a aldosterona e a angiotensina II (Ang II) desempenham papéis cruciais na promoção da hipertensão e glomeruloesclerose, contribuindo para a deterioração da função renal (SIMOES E SILVA et al., 2020). A obesidade agrava essa situação ao aumentar a atividade do SRA, criando um ciclo vicioso que exacerba a hipertensão e o dano renal (STASI et al., 2022). O sistema também contribui para a disfunção endotelial por meio de vários mecanismos, incluindo a hiperleptinemia e a resistência à insulina, condições frequentemente associadas à obesidade (KIM et al., 2006). Além disso, a Ang II aumenta a pressão intraglomerular, levando à proteinúria, que é um sinal de dano renal progressivo (COSTANTINO et al., 2021).

Estudos também relatam o papel crucial da inflamação induzida pela obesidade no desenvolvimento da DRC. O tecido adiposo representa a principal fonte de secreção de citocinas devido às suas funções endócrinas (BÖRGESON; SHARMA, 2013).

Comumente encontrada em indivíduos obesos, a resistência à insulina está associada à inflamação e fibrose renal através de múltiplos mecanismos moleculares (MIZOGUCHI et al., 2021). Juntamente com a inflamação, contribui para um risco maior de progressão da DRC, afetando tanto a hemodinâmica glomerular quanto a expressão genética de fatores que promovem fibrose e inflamação (RAO; PANDYA; WHALEY-CONNELL, 2015).

Por fim, a obesidade, caracterizada por uma sobrecarga lipídica, está associada a um acúmulo ectópico de lipídios que exerce um efeito tóxico significativo, conhecido como lipotoxicidade (DE VRIES et al., 2014). Lipídios acumulados interferem nas funções celulares, levando a estresse oxidativo, inflamação e disfunção celular, e correlaciona-se com

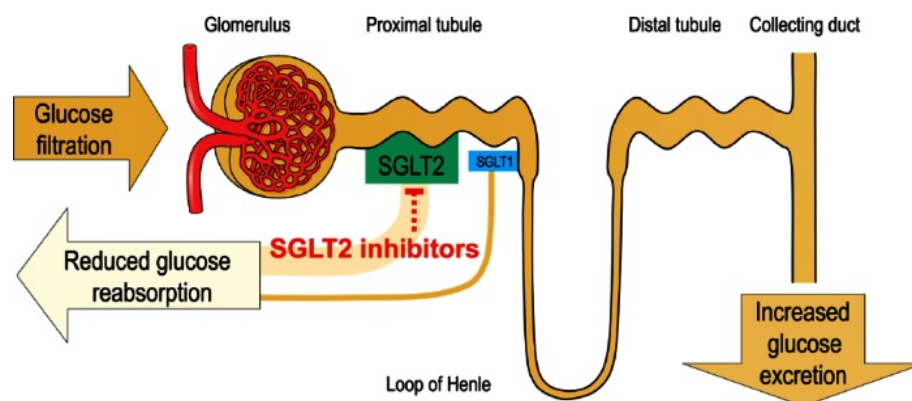
alterações estruturais e funcionais de células mesangiais, podócitos e células tubulares (STASI et al., 2022).

### **1.10 Farmacoterapia para DM2 e DRC: as glifozinas**

A importância do controle precoce e intensivo dos níveis de glicemia na melhoria dos resultados para pessoas com DM2 foi estabelecida no UK Prospective Diabetes Study, 1998 (UKPDS). O controle melhorado da glicemia diminui a progressão da doença microvascular diabética (retinopatia, neuropatia, nefropatia e outras microangiopatias) (BLONDE et al., 2017).

Até recentemente, as únicas classes de medicamentos que demonstraram retardar o declínio da função renal foram os inibidores da ECA e os BRA; no entanto, a maioria das evidências foi gerada em pacientes com DM2 (HEERSPINK, 2020). Os agentes mais novos, particularmente aqueles associados a um baixo risco de hipoglicemia em comparação com sulfonilureias e insulina, oferecem novas opções para terapia combinada visando atingir melhor controle glicêmico (BLONDE et al., 2017).

Os inibidores do cotransportador de sódio-glicose 2 (iSGLT2) foram desenvolvidos para o tratamento de DM2 como uma terapia para controle glicêmico. SGLT2 é predominantemente expresso nos segmentos S1 e S2 do túbulo proximal, atuando como transportador de glicose dependente de sódio reabsorvendo até 90% da glicose do filtrado glomerular; conseqüentemente, sua inibição resulta em glicosúria e perda de calorias (GHEZZI; LOO; WRIGHT, 2018; YAU et al., 2024). A glicose é filtrada nos glomérulos e é reabsorvida pelo SGLT2, assim os inibidores desse cotransportador bloqueiam esse processo, diminuindo a reabsorção de glicose, e então, a hiperglicemia, independente dos níveis de insulina (FIGURA 6).



**Figura 6** - Mecanismo de ação dos inibidores de SGLT2. A figura ilustra o mecanismo de ação dos inibidores de SGLT2, que atuam nos rins para bloquear a reabsorção de glicose no túbulo proximal. Ao inibir o transportador SGLT2, esses medicamentos promovem a excreção de glicose na urina, reduzindo os níveis de glicose no sangue.

SGLT1, cotransportador de sódio-glicose 1; SGLT2, cotransportador de sódio-glicose 2

Fonte: Adaptado de Hinnen, Deborah., 2015.

Até o momento, existem quatro inibidores de SGLT2: canagliflozina, dapagliflozina, empagliflozina e ertugliflozina que são aprovados pela Food Drug Administration (FDA) para uso em adultos. As propriedades farmacocinéticas benéficas incluem excelente biodisponibilidade oral, meia-vida de eliminação bastante longa, permitindo a administração uma vez ao dia, ausência de metabólitos ativos e baixo risco de interação com outros fármacos (PADDA; MAHTANI; PARMAR, 2022).

Eles contrastam com os antigos tratamentos para DM2 que aumentam o risco de hipoglicemia, internação hospitalar e morte associada à hospitalização, especialmente em pacientes idosos e frágeis (SALMEN et al., 2023). Os iSGLT2 apresentam um bom perfil de segurança, seus efeitos são dependentes de glicose, levando assim a um risco muito baixo de hipoglicemia (PANCHOLIA, 2018). O risco de hipoglicemia aumenta com a administração concomitante de SGLT2 de secretagogos de insulina, como sulfonilureias ou insulina (PADDA; MAHTANI; PARMAR, 2022).

Inesperadamente, benefícios consideráveis predominantemente em insuficiência cardíaca e resultados renais foram consistentemente observados em ensaios em pacientes com diferentes níveis de risco cardiovascular e renal (EMPA-KIDNEY COLLABORATIVE GROUP, 2023; PERKOVIC et al., 2019).

### **1.11 Papel do SGLT2 na doença renal induzida pelo consumo de dieta hiperpalatável**

O SGLT2 desempenha um papel crucial no manejo da glicose e do sódio pelos rins. Em condições normais, o SGLT2, localizado no túbulo proximal do néfron, é responsável por reabsorver cerca de 90% da glicose filtrada pelos glomérulos (ABDUL-GHANI; NORTON; DEFRONZO, 2015). No entanto, em condições patológicas, como na doença renal induzida pelo consumo de dieta hiperpalatável, o papel do SGLT2 pode ser exacerbado, contribuindo para o agravamento da disfunção renal.

Dietas hiperpalatáveis, frequentemente ricas em açúcares e gorduras, podem levar ao desenvolvimento de obesidade e resistência à insulina, condições que aumentam o risco de hiperglicemia (LACKEY et al., 2016). A hiperglicemia, por sua vez, sobrecarrega o SGLT2, resultando em uma maior reabsorção de glicose e sódio (ABDUL-GHANI; NORTON; DEFRONZO, 2011; RAVINDRAN; MUNUSAMY, 2022). Esse processo contribui para a hiperfiltração glomerular e o aumento da pressão intraglomerular, ambos fatores que promovem a progressão da lesão renal (YANG; XU, 2022).

Além disso, a hiperatividade do SGLT2 em resposta ao consumo de dietas hiperpalatáveis pode intensificar o estresse oxidativo e a inflamação renal, exacerbando a fibrose e o dano tubular. O excesso de glicose reabsorvido estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias, agravando ainda mais o dano renal (AMORIM et al., 2019). Portanto, o SGLT2 desempenha um papel central na doença renal induzida por dietas hiperpalatáveis, agindo como um mediador das alterações hemodinâmicas e inflamatórias que aceleram a progressão da nefropatia. Consequentemente, o uso de inibidores de SGLT2 pode mitigar esses efeitos, reduzindo a hiperfiltração glomerular e a inflamação, e protegendo assim a função renal (UPADHYAY, 2024).

Um dos principais mecanismos pelos quais os iSGLT2 conferem benefícios no rim envolve a ativação do feedback tubuloglomerular, em que a diminuição da reabsorção de glicose e sódio no túbulo proximal em resposta à inibição deste transportador aumenta a entrega distal de cloreto de sódio ao aparelho justaglomerular. A ativação do feedback para a mácula densa resulta em vasoconstrição aferente via adenosina, o que reduz a hipertensão intraglomerular, prevenindo assim a lesão glomerular de longo prazo em indivíduos com DM e hiperfiltração (YAU et al., 2024). A redução da pressão intraglomerular leva à diminuição da albuminúria. A interferência na reabsorção proximal de glicose e na reabsorção proximal de sódio resulta em natriurese. Os iSGLT2 diminuem o volume circulante efetivo, diminuem a pressão arterial e induzem pequena perda de peso. Além disso, iSGLT2 alteram os fatores que

promovem inflamação e fibrose, diminuem a hipóxia renal e alteram o metabolismo mitocondrial no tecido renal (PADDA; MAHTANI; PARMAR, 2022).

Assim diante do contexto apresentado acima, o presente estudo investigou os possíveis efeitos deletérios da obesidade associada a DM2 induzida pela ingestão de uma dieta hiperpalatável rica em gordura e açúcar (HSB - do inglês *high sugar and high butter*), sobre a morfologia e função renal de camundongos machos e fêmeas. Além disso, avaliamos o potencial efeito protetor do tratamento crônico da DAPA nesse processo.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar as alterações renais induzidas pela obesidade em modelo murino, considerando as diferenças sexo-específicas (machos e fêmeas), e o possível efeito protetor da inibição da atividade de SGLT2 sobre as alterações renais.

Para atingir esse objetivo geral, foi delineado o desenho experimental envolvendo o desenvolvimento de um modelo de obesidade induzido pela ingestão crônica de dieta hiperpalatável seguido ou não do tratamento oral com dapaglifozina, um inibidor seletivo de SGLT2.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar o modelo de obesidade induzido por ingestão de dieta hiperpalatável durante 12 semanas em machos e fêmeas;
- Avaliar alterações metabólicas, através dos parâmetros de peso corporal e de tecidos (adiposo e renal), consumo alimentar e tolerância à glicose;
- Avaliar os parâmetros de função renal para identificar possíveis alterações tanto na função glomerular quanto na tubular, com foco em entender como essas funções podem estar comprometidas em diferentes condições experimentais;
- Avaliar o tecido renal visando identificar possíveis mudanças na estrutura glomerular e tubular que possam indicar lesões ou adaptações celulares;
- Avaliar a modulação do perfil pró-inflamatório no tecido renal por meio da análise da expressão de IL-1 $\beta$ , MCP-1 e TNF- $\alpha$ , visando identificar mudanças na resposta inflamatória no rim;
- Investigar a correlação entre disfunção e lesão renal e o acúmulo de lipídeos no parênquima renal, buscando compreender como a presença de depósitos lipídicos pode contribuir para o comprometimento estrutural e funcional do tecido renal.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos e fêmeas da linhagem C57Bl/6, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), com idade entre 3 e 4 semanas. Os animais foram mantidos em caixas de microisoladores (42 x 23 x 17 cm; 4 animais por caixa) contendo maravalha no biotério de experimentação de camundongos do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas (BICBIO-2). Os animais tiveram livre acesso à água e comida, sendo mantidos em ciclo claro/escuro a cada 12 horas com temperatura local de 24°C. Todos os experimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação com animais adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG. O protocolo experimental foi submetido, avaliado e aprovado pelo CEUA-UFMG (#71/2023) (ANEXO A).

#### 3.2 Dietas e desenho experimental

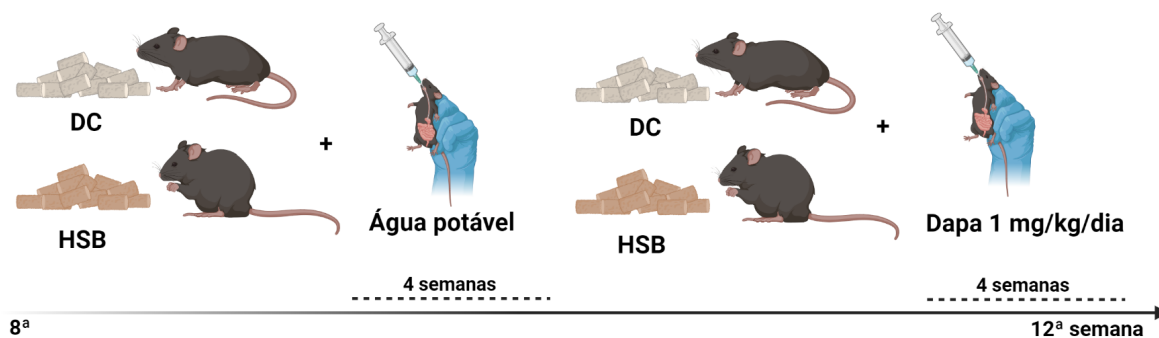
O modelo experimental de obesidade induzido por ingestão crônica de dieta hiperpalatável foi desenvolvido como descrito anteriormente (MAIOLI et al., 2016; RIBEIRO et al., 2023). Após uma semana de aclimatação, os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos e, quando indicado, receberam uma dieta altamente palatável/densa em energia [dieta rica em açúcar e manteiga (*High sugar and butter diet - HSB*); (carboidratos: 36%; proteínas: 16%; lipídios: 48%; 4,9 kcal/g)] ou uma dieta isocalórica [*American Institute of Nutrition 93-Growth diet - AIN93G*]; carboidratos: 64%; proteínas: 20%; lipídios: 16%; 3,9 kcal/g] durante um período total de 12 semanas. A dieta HSB foi preparada no laboratório de Neurofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, seguindo a composição descrita na Tabela 1. Dapagliflozina 10 mg (AstraZeneca), inibidor seletivo de SGLT2, foi dissolvido em água potável, preparado toda semana e armazenado a 4°C protegido da luz. Dapagliflozina (1 mg/kg de peso corporal por dia) foi administrada a partir da 8ª semana após o início da dieta, durante 4 semanas por gavagem. A dose diária de dapagliflozina foi escolhida de acordo com efeito renoprotetor, cardioprotetor e hipoglicêmico observado em publicações anteriores (HAN et al., 2021; MA et al., 2019; BELOSLUDTSEV et al., 2021; JAIKUMKAO et al., 2018). Os grupos foram formados de acordo com a dieta e o tratamento farmacológico que receberam, a saber: 1) Dieta controle (DC), camundongo não-obeso (controle) que recebeu veículo (água potável) via gavagem por 4 semanas consecutivas; 2) HSB, camundongo obeso que recebeu veículo; 3) DC+DAPA, camundongo não-obeso que

recebeu dapagliflozina 1 mg/kg/dia, inibidor seletivo de SGLT2, via gavagem por 4 semanas consecutivas; 4) HSB+DAPA, camundongo obeso que recebeu dapagliflozina (FIGURA 7).

**Tabela 1.** Composição das dietas.

Dietas/Ingredientes	AIN93G	HSB
Caseína	200	200
Amido de milho	397,5	208,6
Açúcar	100	232
Óleo	70	70
Celulose	50	50
Mix Mineral	35	35
Mix Vitamina	10	10
L cistina	3	3
Bitartrato de colina	2,5	2,5
BHT	0,014	0,014
Manteiga	0	188,9
Total (g)	1000	1000
Kcal/g	3,9	4,9
<b>Composição centesimal (%)</b>		
Carboidratos	64	36
Proteínas	20	16
Lipídeos	16	48

Nota: AIN93G = dieta controle; HSB= dieta hiperpalatável



**Figura 7** - Grupos experimentais.

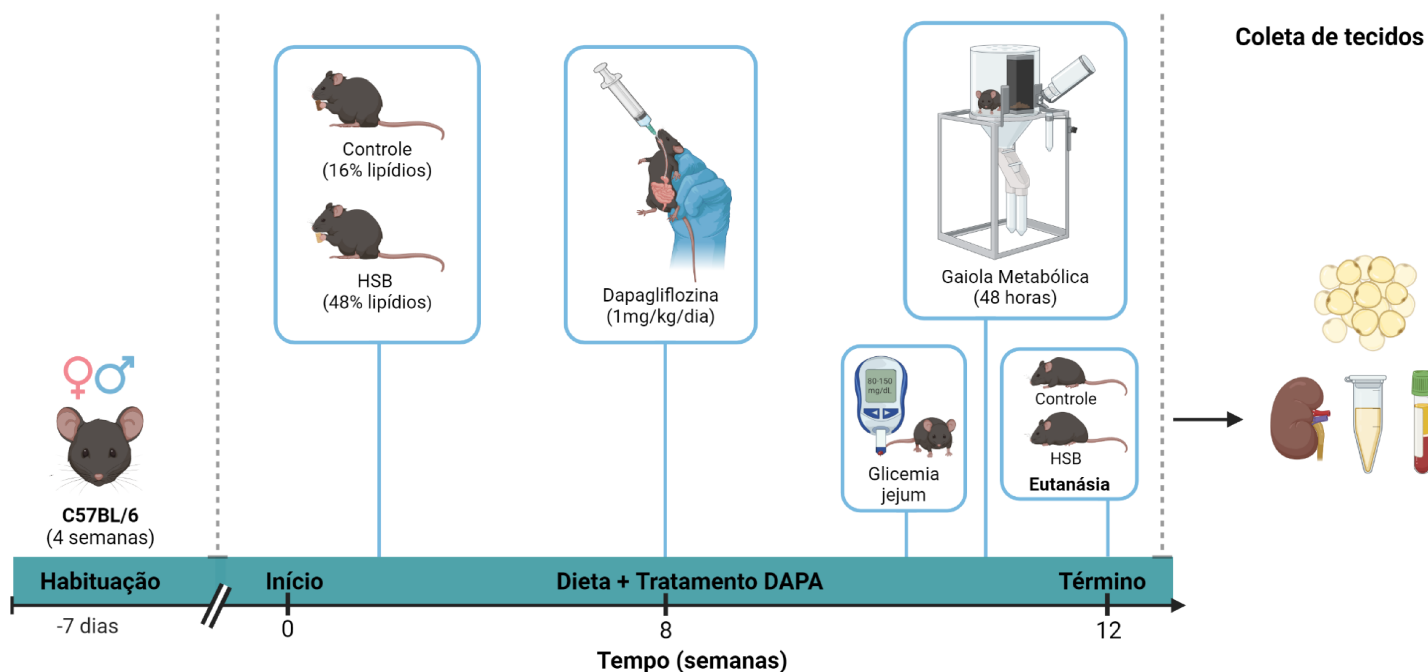
Fonte: Do Autor.

**Tabela 2.** Número de animais utilizados por grupo experimental.

Nome do grupo	Linhagem	Dieta	Sexo	<i>n</i> (12* sem)
DC + veículo	C57BL/6	AIN93G	M	8
HSB + veículo	C57BL/6	HSB	M	8
DC + DAPA 1mg/kg/dia	C57BL/6	AIN93G	M	8
HSB + DAPA 1mg/kg/dia	C57BL/6	HSB	M	8
DC + veículo	C57BL/6	AIN93G	F	8
HSB + veículo	C57BL/6	HSB	F	8
DC + DAPA 1mg/kg/dia	C57BL/6	AIN93G	F	8
HSB + DAPA 1mg/kg/dia	C57BL/6	HSB	F	8

\*: tempo de dieta ofertado; *n*: número de animais utilizados em cada grupo experimental

A partir do início da dieta, os camundongos e o consumo de ração oferecida (g) - ração restante (g)/ caixa) foram pesados uma vez por semana. Entre a 11<sup>a</sup> e a 12<sup>a</sup> semana, o nível de glicose no sangue foi aferido. Os animais foram submetidos ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG). No final da 12<sup>a</sup> semana após o início da dieta, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas para coleta de urina de 24 horas. No final do período de estudo, a eutanásia foi realizada por meio da decapitação após sobredose anestésica (320 mg/kg de cetamina e 32 mg/kg de xilazina por via ip.). O sangue foi coletado para obtenção de amostras de plasma. O tecido adiposo [(epididimal, retroperitoneal, mesentérico e perirenal) em machos e (periovariano, retroperitoneal, mesentérico e perirenal) em fêmeas] foi coletado para posterior análise de índices de adiposidade. Os rins foram removidos, descapsulados e pesados. Em seguida, o rim esquerdo foi congelado para posterior extração de RNA ou de lipídeos; enquanto que, o rim direito foi bi-seccionado para posterior realização de análises histológicas.



**Figura 8** - Desenho experimental.

Fonte: Do Autor.

### 3.3 Teste oral de tolerância à glicose

O TOTG foi adaptado de Pedro, Tsakmaki e Bewick (2020). Foi realizado na 12<sup>a</sup> semana, onde os camundongos separados foram submetidos ao jejum durante 6 horas (das 7 às 13h). Para o teste, os animais receberam uma solução de glicose concentrada (30%) (2 g/kg) por meio da gavagem. A coleta de sangue foi obtida pela ponta da cauda, com auxílio de uma tesoura, e a concentração de glicose (mg/dL) foi medida utilizando um glicosímetro (On call plus II®) em diferentes tempos, a saber: 0, 30, 60, 90, 120 minutos após administração oral de glicose. Colocando em um gráfico XY as glicemias observadas em diferentes tempos após a gavagem, é possível obter uma área sob a curva (AUC) e com ela se infere a tolerância ou não a glicose. O cálculo foi realizado utilizando o software GraphPrism (VIRTUE; VIDAL-PUIG, 2021).

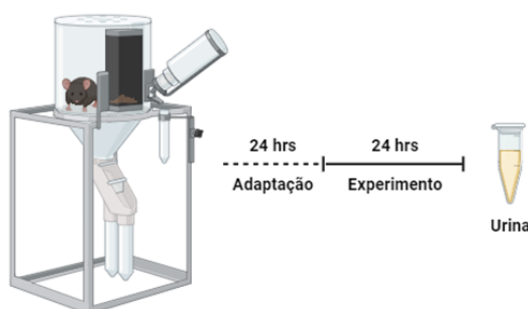
### 3.4 Análise de composição corporal e índice de Lee

A adiposidade corporal foi determinada pela soma dos pesos de depósitos de gordura visceral (epididimal (TAE) ou periovariano (TAPO), mesentérico (TAM), retroperitoneal (TAR)) através da fórmula:  $[\text{TAV (g)}/\text{peso corporal (g)}] \times 100$  (MAIOLI et al., 2016). O

índice de Lee foi calculado a partir da raiz cúbica do peso corporal (g) dividido pelo comprimento nasoanal (mm) e multiplicado por 1000 [  $\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)} / \text{comprimento nasoanal (cm)}} \times 1000$ ] (YUAN et al., 2018).

### 3.5 Avaliação da função renal

Os parâmetros da função renal foram determinados conforme publicado anteriormente (FARIAS et al., 2023; PERUCHETTI et al., 2020; 2021). Na décima segunda semana de protocolo experimental, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais, nos quais permaneceram por 24 horas para adaptação (FIGURA 9). Nas 24 horas seguintes foi mensurado: o volume urinário, consumo de água e ração. O balanço hídrico (expresso em %) foi calculado:  $(\text{volume urinário em 24h} / \text{ingestão de água em 24h}) \times 100$ . A urina de 24h foi coletada e clarificada por centrifugação por 10 min a 1000 x g (passo repetido 5 vezes). Os sobrenadantes foram usados para quantificação de creatinina, proteínas totais, uréia, glicose, eletrólitos ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ) e a atividade da enzima Gama-Glutamiltransferase (GGT) através de ensaio colorimétrico utilizando kits comerciais da Labtest (Labtest Lagoa Santa, MG, Brasil), por espectrofotometria de luz visível. Além disso, foi quantificada a osmolaridade através do uso de um osmômetro. O clearance de creatinina para avaliação do ritmo de filtração glomerular foi calculado através da fórmula:  $\text{Creatinina urinária} \times \text{Volume Urina} / \text{Creatinina plasmática}$ . A depuração de creatinina (CCr), um marcador da TFG; depuração de glicose (Cglicose); fração de excreção de glicose (FEglicose); depuração de proteínas (proteínas C); e a fração de excreção de proteínas (FEproteínas) foram calculadas pelas fórmulas:  $\text{CCr} = \text{creatinina urinária} \times \text{fluxo urinário} / \text{creatinina plasmática}$ ;  $\text{Cglicose} = \text{glicose urinária} \times \text{fluxo urinário} / \text{glicose plasmática}$ ;  $\text{FEglicose} = (\text{Cglicose} / \text{CCr}) \times 100$ ;  $\text{Cproteínas} = \text{proteína urinária} \times \text{fluxo urinário} / \text{proteína plasmática}$ ; e  $\text{FEproteínas} = (\text{Cproteínas} / \text{CCr}) \times 100$ .



**Figura 9** - Representação esquemática da utilização da gaiola metabólica para coleta da urina dos animais. Fonte: Do Autor.

### 3.6 Extração de RNA e RT-qPCR

O RNA total foi extraído pelo método de TRIzol (Invitrogen, 15596026), conforme recomendação do fabricante. Em seguida, 2 µg do RNA total foi utilizado para a transcrição reversa em mix de reação consistindo de: 15 ng/µL de *primers* randômicos (Thermo Fisher, 48190-011), 50 mM Tris-HCl, 75 mM KCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 625 µM dNTP (GE Healthcare, 28-4065-52), 10 µM DTT e transcriptase reversa em água livre de nucleases. As condições da reação de transcrição reversa foram as seguintes: 70 °C por 10 minutos, 4 °C por 10 minutos, 42 °C por 1 h e 70 °C por 15 minutos. Em seguida, o cDNA resultante foi diluído (1:10) em água livre de nucleases e submetido à PCR quantitativa (qPCR) para MCP-1, TNF-α, IL-1β (Interleucina-1 beta), RPL32 e HPRT (as sequências dos *primers* estão disponíveis na **Tabela 3**), utilizando o Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, 4367659) e 200 nM de *primers* senso e antissenso no sistema QuantStudio 7 (Applied Biosystems). As condições de termociclagem da qPCR foram as seguintes: 95 °C por 3 minutos; 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos, 60 °C por 15 segundos e 72 °C por 15 segundos; 95 °C por 15 segundos. A expressão relativa de cada gene foi normalizada pela média geométrica dos genes de expressão constitutiva (RPL32 e HPRT) e calculada pelo método 2<sup>-ΔCt</sup>.

<b>Tabela 3 . Sequências dos oligonucleotídeos para qPCR</b>		
<b>ALVOS</b>	<b>SENSO (5'-3')</b>	<b>ANTISSENSO (3'-5')</b>
MCP-1	CCCAATGAGTAGGCTGGAGA	GCTGAAGACCTTAGGGCAGA
TNF-α	GCTGAGCTCAAACCCTGGTA	CGGACTCCGCAAAGTCTAAG
IL-1β	GGGCCTCAAAGGAAAGAATC	TACCAGTTGGGGAACTCTGC
RPL32	GCTGCCATCTGTTTTACGG	TGACTGGTGCCTGATGAACT
HPRT	TCAGTCAACGGGGGACATAAA	GGGGCTGTACTGCTTAACCAG

### 3.7 Extração e análise de lipídeos no rim

O protocolo de extração lipídica foi adaptado dos métodos Scerbo et al., 2017; Folch; Lees; Stanley., 1957. Parte do tecido renal total (córtex e medula), sob condições de refrigeração, foi usado para extração de lipídeos. Resumidamente, aproximadamente 100 mg do tecido foi homogeneizado com PBS e em seguida foi adicionado 1,5 mL de clorofórmio:metanol (2:1, v/v). Após 1 hora no gelo, as amostras foram centrifugadas durante 10 min a 3.000 rpm a 4°C. A fase orgânica inferior foi então coletada. Para evaporação do solvente, as amostras foram colocadas no concentrador de amostras por 1 hora sem aquecimento. Os lipídeos secos foram então ressuspensos em 500 microlitros de Triton

X-100 a 2% em clorofórmio e após nova evaporação de solvente por 2 horas, as amostras foram ressuspensas em 100 µL de água deionizada. A solução final foi utilizada para quantificação de colesterol total e triglicerídeos usando kits colorimétricos da Labtest. As medidas lipídicas foram normalizadas pela massa (mg) do tecido usado na extração.

### **3.8 Morfologia renal**

A análise histomorfométrica foi realizada conforme descrito anteriormente (Farias et al., 2023; Peruchetti et al., 2021). Amostras de tecido renal foram seccionadas longitudinalmente e o tecido fixado por 24 horas em paraformaldeído 4% e então transferido para o álcool 70%. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas para realização da histologia na Faculdade de Odontologia da UFMG e embebidas em parafina para a preparação em cortes de 5 µm de espessura. Os cortes foram corados com ácido periódico de Schiff (PAS), para análise das áreas glomerulares e tubulares. Trinta imagens foram adquiridas aleatoriamente usando um microscópio Zeiss e a quantificação realizada manualmente usando o software Image J. Para cada animal (n=8/grupo), 30 fotos aleatórias foram feitas e analisadas. Os seguintes parâmetros de estrutura glomerular foram analisados: (1) celularidade glomerular (normalizada pela área de tufo); (2) deposição de matriz mesangial (áreas coradas com PAS normalizado pela área do tufo glomerular); (3) área do tufo glomerular (normalizada pela área glomerular total); e (4) área espaço da cápsula de Bowman (normalizada pela área glomerular total). Os seguintes parâmetros de estrutura tubular foram analisados: (1) número de células intersticiais; (2) número de células epiteliais tubulares proximais renais (PTECs). Todas as imagens e as análises foram realizadas de forma cega.

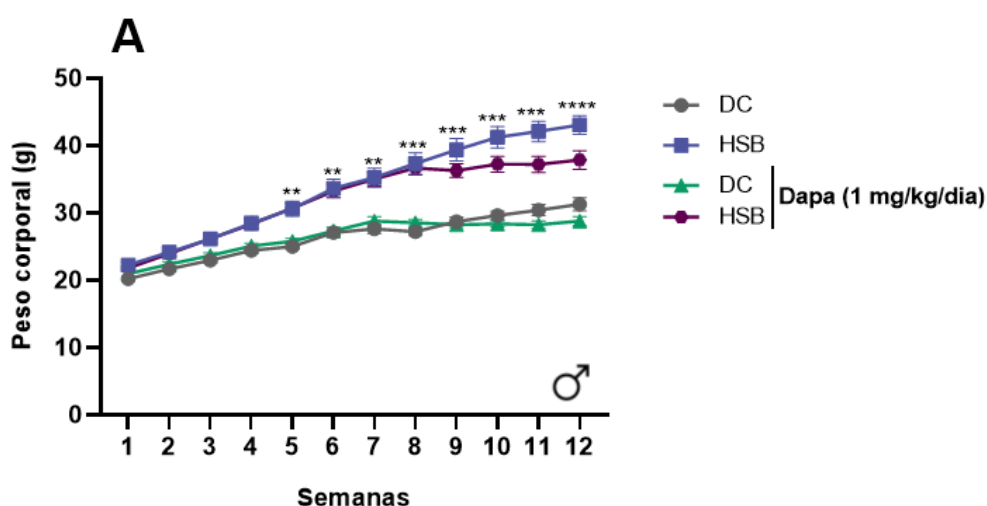
### **3.9 Análise estatística**

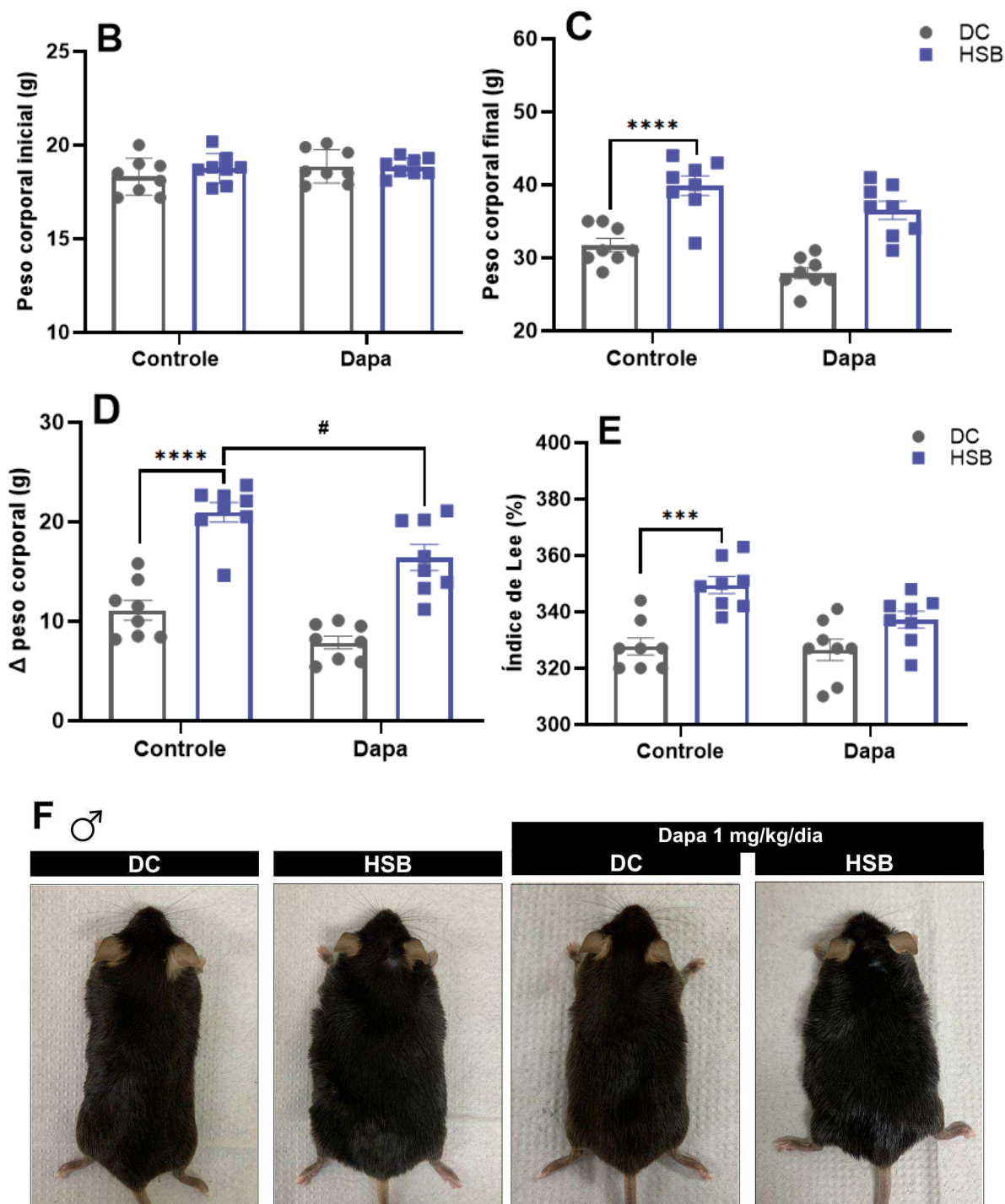
A análise estatística dos dados foi realizada no software GraphPad Prism versão 8.0.2 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA). Os experimentos comparando os efeitos da dieta, do tratamento e da interação entre eles foram avaliados por análise de variância (ANOVA) de duas vias. E os experimentos comparando apenas o efeito da dieta, foi utilizado o teste T seguido pelo pós-teste de Tukey. Quando a interação entre ambos os fatores (dieta e tratamento) foi estatisticamente significativa foi utilizado o pós-teste de Tukey. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os gráficos em coluna e os gráficos XY estão apresentados como média e erro padrão da média (SEM).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Consumo de dieta HSB promoveu ganho de peso em machos e fêmeas

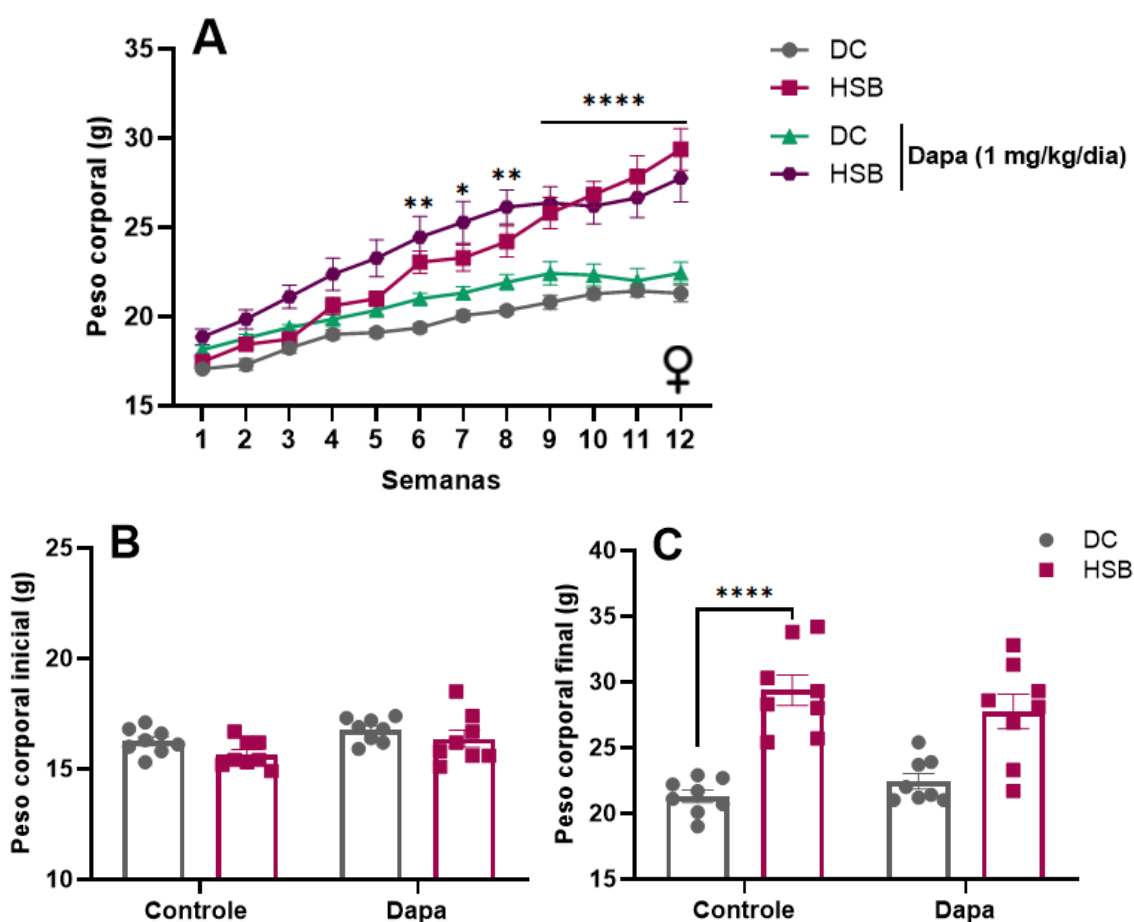
Antes do início das dietas, os animais machos apresentaram peso corporal similar (em média, 22g). Como mencionado em detalhes na seção de Materiais e Métodos, foram gerados quatro grupos experimentais: 1) DC+veículo; 2) HSB+veículo; 3) DC+DAPA; e 4) HSB+DAPA. Após 5 semanas em dieta, os machos que consumiram a dieta HSB (grupo HSB+veículo) apresentaram maior peso quando comparado ao grupo DC+veículo (efeito da dieta  $p = 0,005$ ) (FIGURA 10). O tratamento com dapagliflozina 1 mg/kg/dia por 4 semanas não foi capaz de reduzir o peso corporal do grupo HSB ao longo das semanas (grupo HSB+DAPA). É importante mencionar que não foram observadas diferenças significativas entre os grupos DC+DAPA e DC+veículo. Ao final das 12 semanas de dieta, os machos HSB apresentavam uma diferença ~32% no peso final em relação aos grupos DC+veículo e DC+DAPA ( $p < 0,0001$ ), com ganho de massa total, em média, 1,8 vezes maior ( $p < 0,0001$ ). O grupo HSB+DAPA mostrou uma redução ~22% no ganho de massa total comparando-se com o grupo que apenas recebeu a dieta HSB (grupo HSB+veículo) ( $p < 0,04$ ). Mudanças significativas no peso corporal do grupo HSB tratado com dapagliflozina (grupo HSB+DAPA) não foram observadas ao longo das 4 semanas.

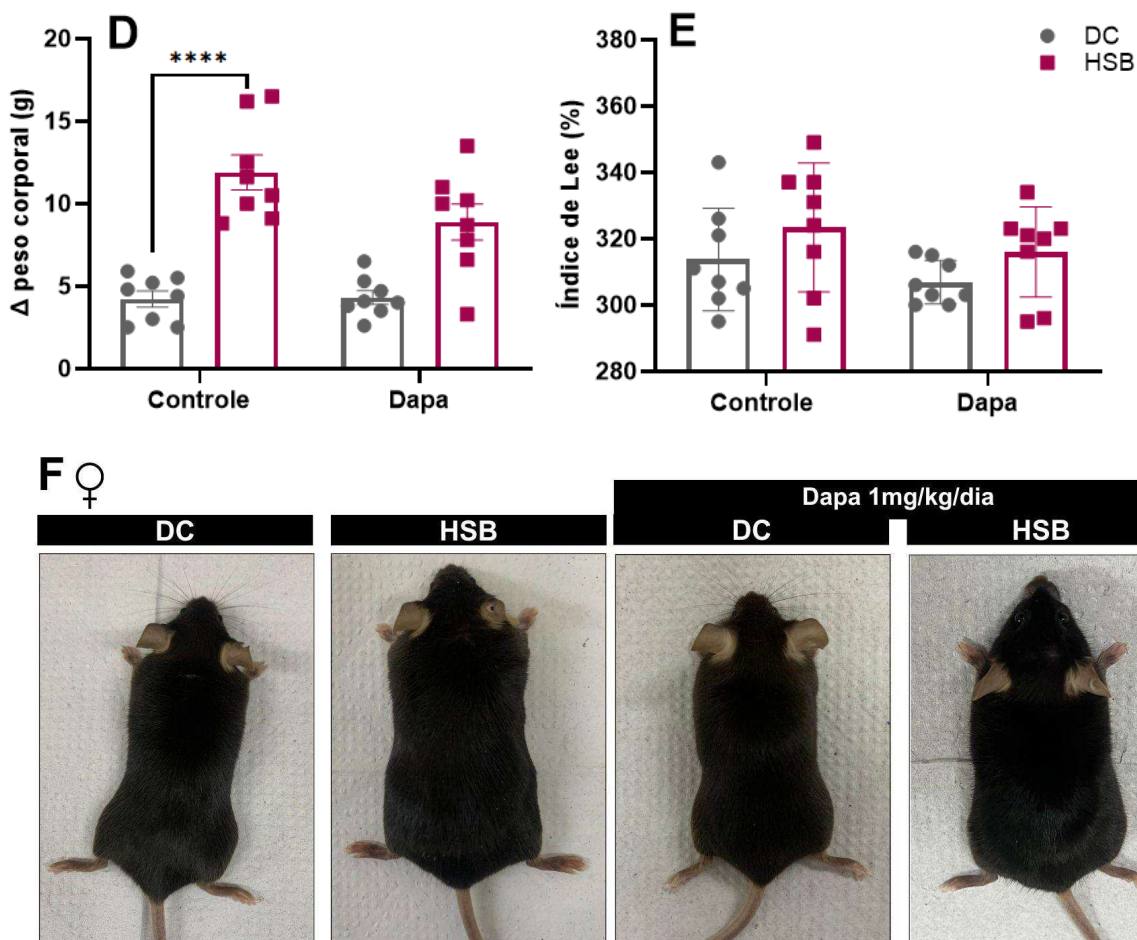




**Figura 10** - Efeitos das dietas no peso corporal de machos DC e HSB. (A) Evolução semanal do peso nos animais (B) Peso corporal antes do início da dieta (C) Ganho de peso total ao final das 12 semanas de dieta, (D) Delta do peso corporal (final - inicial), (E) Índice de Lee, (F) O fenótipo representativo dos grupos de interesse na 12ª semana de protocolo. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n = 8$ /grupo. # $p < 0,05$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n = 8$ /grupo.

Em fêmeas, antes do início das dietas, o peso corporal era de, em média, 19g. Após 6 semanas em dieta, as fêmeas que consumiram a dieta HSB (grupos HSB e HSB+DAPA) apresentaram maior peso corporal quando comparado ao grupo controle (grupos DC+veículo e DC+DAPA, efeito da dieta  $p = 0,001$ ) (FIGURA 11). O tratamento com dapagliflozina 1 mg/kg/dia por 4 semanas não foi capaz de reduzir o peso corporal das fêmeas que consumiram a dieta HSB ao longo das semanas (como observado no grupo HSB+DAPA). Ao final das 12 semanas de dieta, as fêmeas do grupo HSB apresentavam uma diferença ~31% no peso final em relação aos controles (DC+veículo,  $p < 0,0001$ ), com ganho de massa total, em média, 2,8 vezes maior ( $p < 0,0001$ ). O grupo HSB+DAPA não mostrou nenhuma redução no ganho de massa total, nem mudanças no peso corporal ao longo das 4 semanas de tratamento, quando comparados com o grupo HSB+veículo.



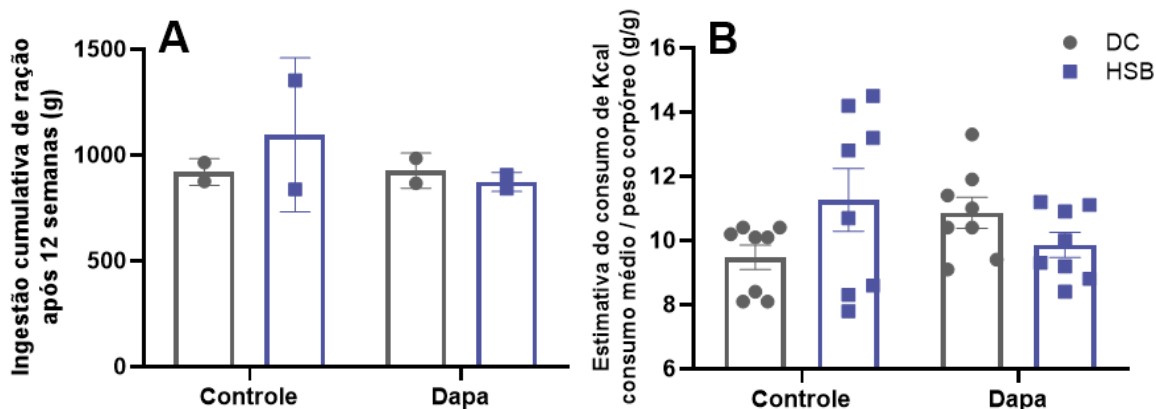


**Figura 11** - Efeitos das dietas no peso corporal de fêmeas DC e HSB. (A) Evolução semanal do peso dos animais. (B) Peso corporal antes do início da dieta. (C) Ganho de peso total ao final das 12 semanas de dieta (D) Delta do peso corporal (final - inicial). (E) Índice de Lee. (F) O fenótipo representativo dos grupos de interesse na 12<sup>a</sup> semana de protocolo. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo. # $p < 0,05$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.

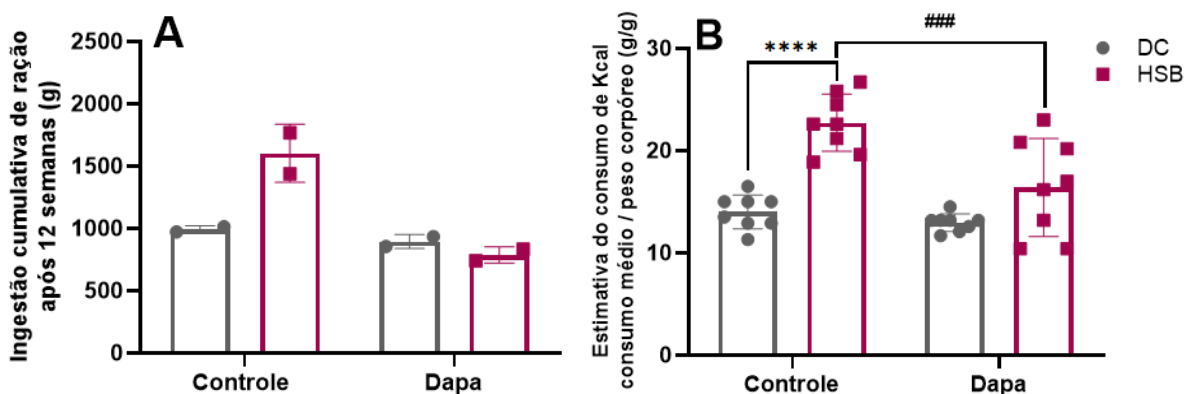
Considerando que a dieta hiperpalatável pode influenciar os níveis de ingestão alimentar, decidimos avaliar a quantidade de ração consumida por todos os grupos. Para isso, o consumo foi medido semanalmente, pesando a ração em cada caixa, que continha quatro animais. Observamos que em machos não houve hiperfagia, uma vez que a média do consumo de ração (em gramas) não foi significativamente diferente entre todos os grupos experimentais (FIGURA 12). Em relação a estimativa do consumo de Kcal desses animais, também não foram observadas diferenças significativas em machos.

Já em fêmeas podemos dizer que o ganho de peso foi associado ao maior consumo de Kcal no grupo HSB+veículo ( $p < 0,0001$ ) (FIGURA 13). O tratamento com DAPA foi capaz

de diminuir a estimativa de Kcal ingeridas nas fêmeas que consumiram a dieta HSB (grupo HSB+DAPA,  $p=0,0009$ ).



**Figura 12** - Consumo médio de ração e calorias ao longo do período experimental em machos. (A) Ingestão cumulativa de ração em gramas (g) por caixa (B) Estimativa de consumo de quilocalorias (consumo médio de ração em gramas) pelo peso corpóreo de cada animal, n=2 caixas; n=8 animais.

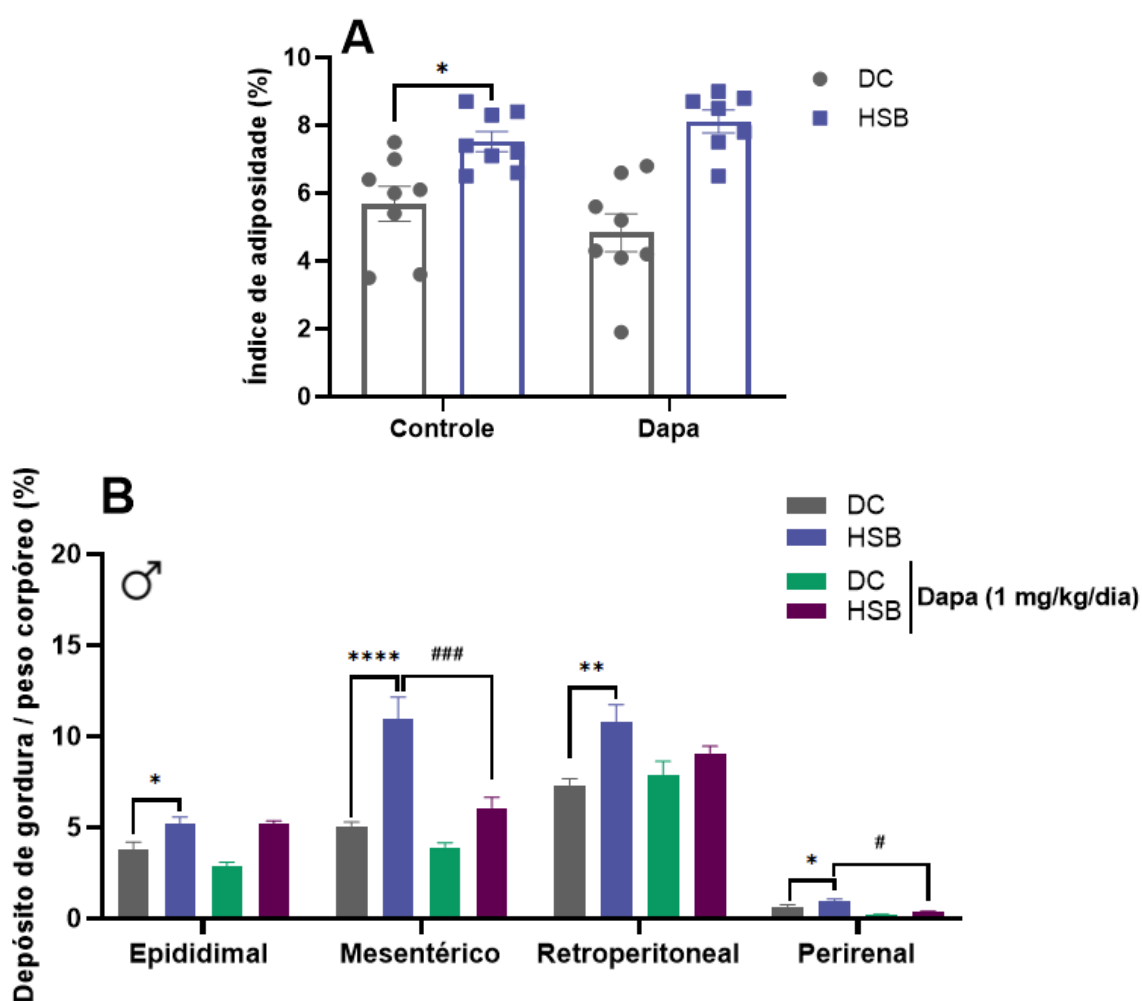


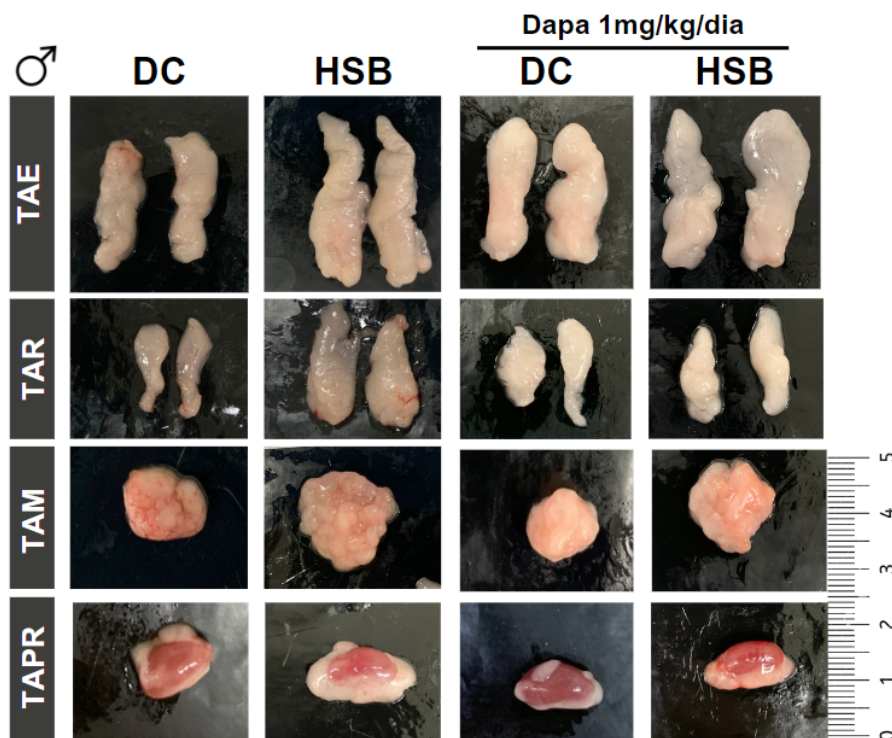
**Figura 13** - Consumo de ração e calorias médio ao longo do período experimental em fêmeas. (A) Ingestão cumulativa de ração em gramas (g) por caixa (B) Estimativa de consumo de quilocalorias (consumo médio de ração em gramas) pelo peso corpóreo de cada animal. \* $p<0,05$ ; \*\*\*\* $p<0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey, n=8/grupo. ### $p<0,01$ ; #### $p<0,001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey, n=2 caixas; n=8 animais.

#### 4.2 Dieta HSB aumentou índice de adiposidade em machos e fêmeas

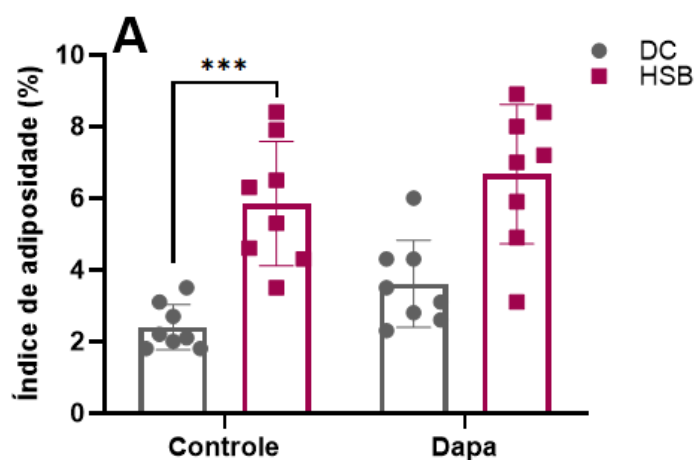
O aumento do peso dos animais dos grupos HSB+veículo e HSB+DAPA está relacionado ao incremento dos depósitos de gorduras viscerais estudados (epididimal,

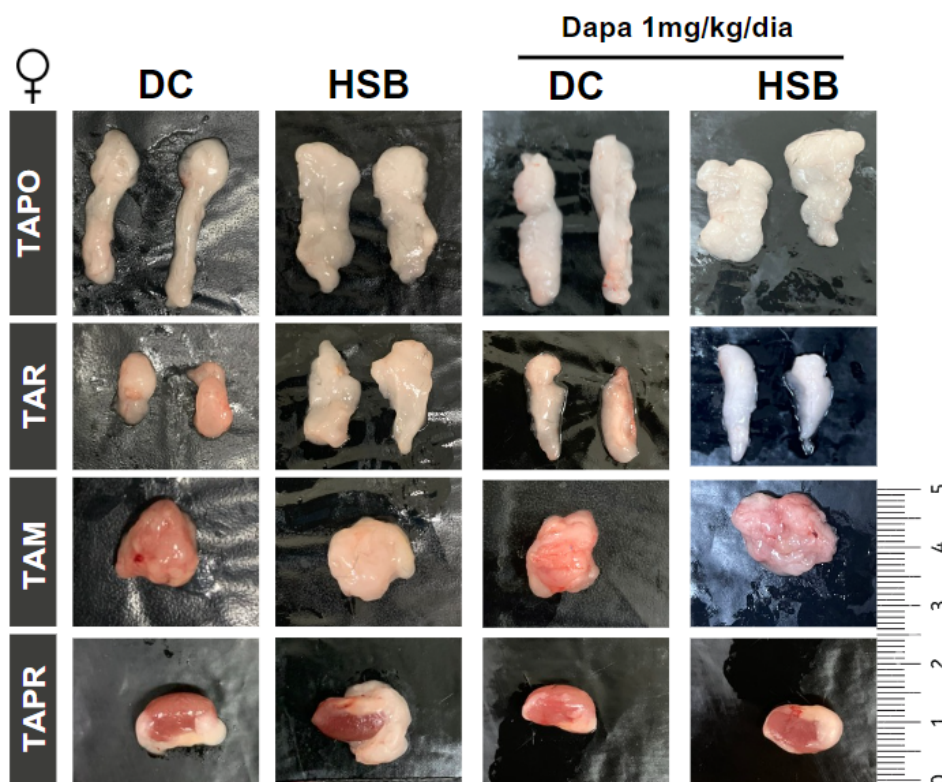
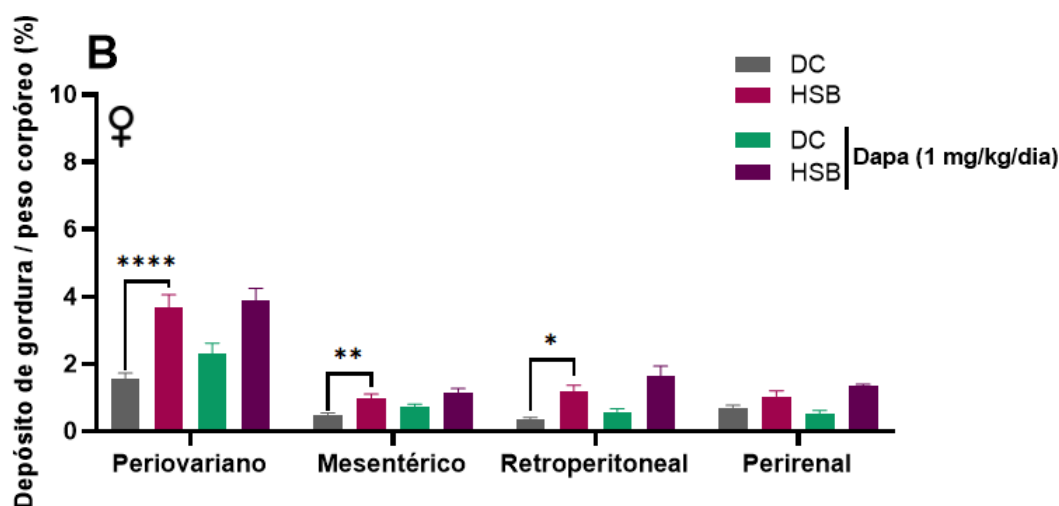
mesentérica, retroperitoneal e perirenal). Observou-se um aumento tanto no depósito total de gordura, representado pelo índice de adiposidade (%), quanto nos tecidos individuais, em ambos os sexos (FIGURAS 14 e 15). DAPA mostrou eficácia em reduzir a adiposidade em tecidos específicos, como os tecidos adiposos mesentérico e perirrenal, em machos HBS+DAPA (FIGURA 14). No entanto, apesar dessa redução significativa nesses depósitos específicos de gordura, não foi observada uma diminuição da adiposidade total. Em fêmeas HSB+DAPA, não foi observada melhora significativa em nenhum dos parâmetros avaliados, incluindo a adiposidade total e os depósitos específicos de gordura (FIGURA 15).





**Figura 14** - Efeitos das dietas sobre os depósitos de gordura branca (visceral) de machos DC e HSB sem e após tratamento com DAPA. (A) Índice de adiposidade (% depósito de gordura pelo peso corporal) (B) Porcentagem das gorduras epididimal, mesentérica, retroperitoneal e perirenal relativa ao peso corpóreo dos machos estão representadas (C) O fenótipo representativo dos tecidos adiposos viscerais isolados (epididimal (TAE), retroperitoneal (TAR), mesentérico (TAM) e perirenal (TAPR)) na 12<sup>a</sup> semana do protocolo. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo. # $p < 0,05$ ; ### $p < 0,001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.



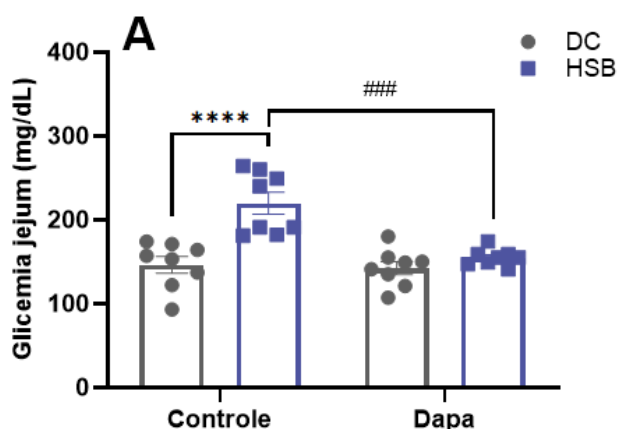


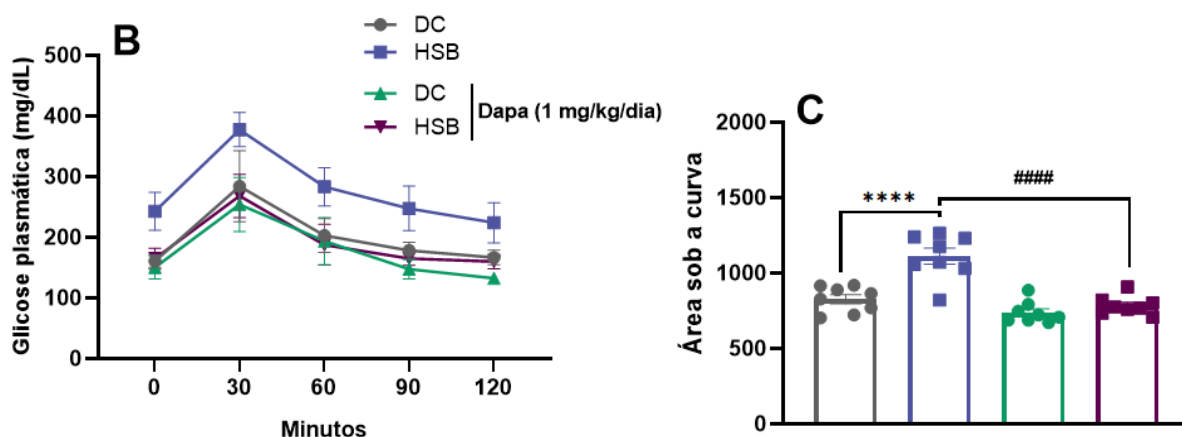
**Figura 15** - Efeitos das dietas sobre os depósitos de gordura branca (visceral) de fêmeas DC e HSB sem e após tratamento com DAPA. (A) Índice de adiposidade (% depósito de gordura pelo peso corporal) (B) Porcentagem (%) das gorduras epididimal, mesentérica, retroperitoneal e perirenal relativa ao peso corpóreo das fêmeas estão representadas (C) O fenótipo representativo dos tecidos adiposos viscerais isolados (periovariano (TAPO), retroperitoneal (TAR), mesentérico (TAM) e perirenal (TAPR)) na 12ª semana do protocolo. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.

### 4.3 Dieta HSB induziu alterações glicêmicas em machos que foram revertidas com tratamento com DAPA

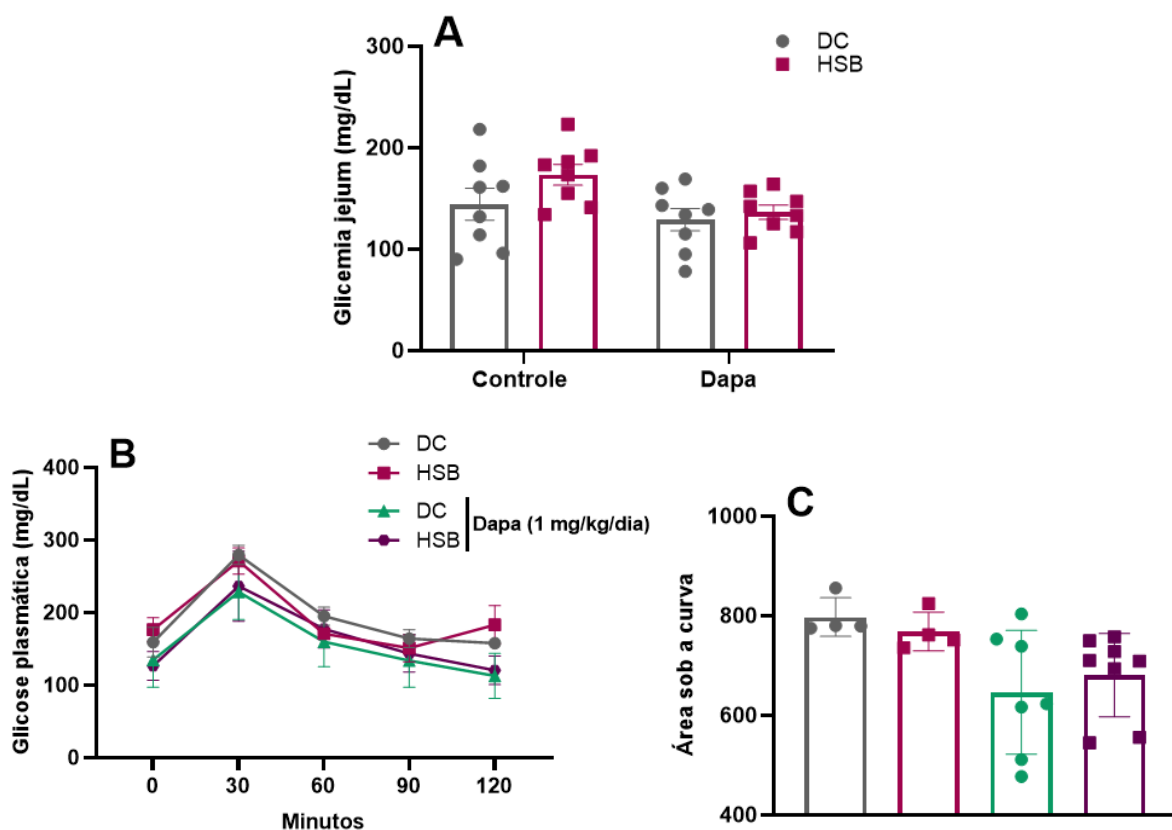
Além da composição corporal, a dieta HSB afetou o perfil metabólico dos camundongos machos. Nos machos, a dieta hiperpalatável levou ao aumento em ~40% dos níveis de glicose em jejum ( $p < 0,0001$ ) (FIGURA 16) e tolerância oral à glicose prejudicada evidenciada pela AUC, sendo esta, 1,3 vezes maior no grupo HSB+veículo do os níveis observados em animais controles (grupos DC+veículo e DC+DAPA) (FIGURA 16). Por outro lado, o tratamento com DAPA foi capaz de reverter essas alterações, uma vez que, foi observado uma redução da hiperglicemia observada no grupo HSB+DAPA em comparação com o grupo HSB+veículo ( $p < 0,0001$ ). Além disso, o tratamento com DAPA também foi capaz de reverter a tolerância oral à glicose prejudicada em camundongos machos que receberam a dieta hiperpalatável, diminuindo a AUC em 1,4 vezes ( $p < 0,0001$ ).

Diferentemente dos machos, a dieta HSB não foi capaz de afetar o perfil metabólico das fêmeas. A dieta hiperpalatável não levou ao aumento dos níveis de glicose em jejum ( $p = 0,2$ ) (FIGURA 17) e também não foi possível observar tolerância oral à glicose prejudicada em fêmeas ( $p = 0,9981$ ) (FIGURA 17), evidenciado pela ausência de diferença na AUC comparando-se o grupo DC+veículo e o grupo HSB+veículo. Além disso, o tratamento com DAPA não foi capaz de melhorar nenhum desses parâmetros avaliados em fêmeas.





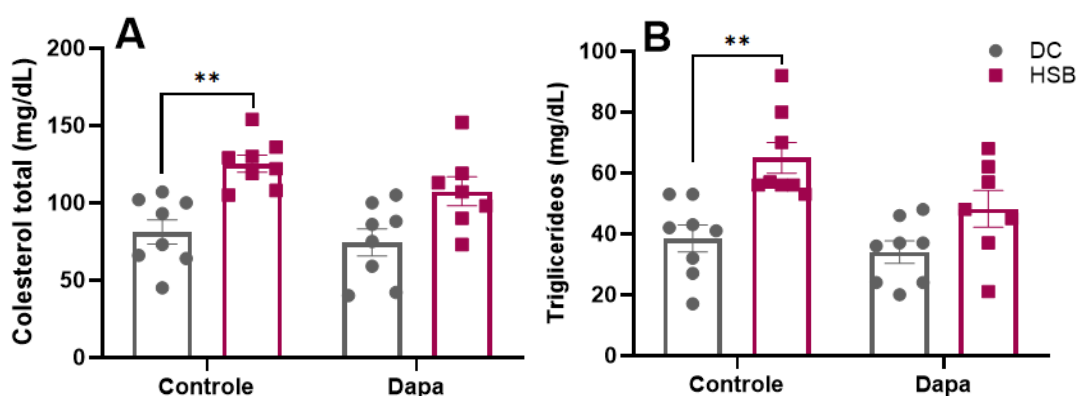
**Figura 16** - Efeitos da dieta sobre a homeostase glicêmica em machos DC e HSB sem e com DAPA. (A) Glicemia em jejum (B) Curva de glicemia do teste de tolerância oral à glicose (oGTT) (C) Área sob a curva (AUC) obtida da curva de glicemia do TOTG. \*\*\*\* $p < 0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo. #### $p < 0,001$ ; ##### $p < 0,0001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.



**Figura 17** - Efeitos da dieta sobre a homeostase glicêmica de fêmeas DC e HSB sem e com DAPA. (A) Glicemia em jejum (B) Curva de glicemia do teste de tolerância oral à glicose (oGTT) (C) Área sob a curva (AUC) obtida da curva de glicemia do TOTG.  $n=4-8$ /grupo.

#### 4.4 Dieta HSB altera perfil lipídico sérico de fêmeas

Em relação ao perfil lipídico das fêmeas, observamos um aumento das concentrações de colesterol total no plasma e nos níveis circulantes de triglicerídeos ( $p=0,0026$ ) em animais do grupo HSB+veículo ( $p<0,05$ ). O tratamento com DAPA não foi capaz de melhorar o perfil lipídico (grupo HSB+DAPA) (FIGURA 18).



**Figura 18** - Efeitos da dieta sobre perfil lipídico de fêmeas DC e HSB sem e com DAPA. (A) Colesterol total (mg/dL) (B) Triglicerídeos (mg/dL) \* $p<0,05$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.

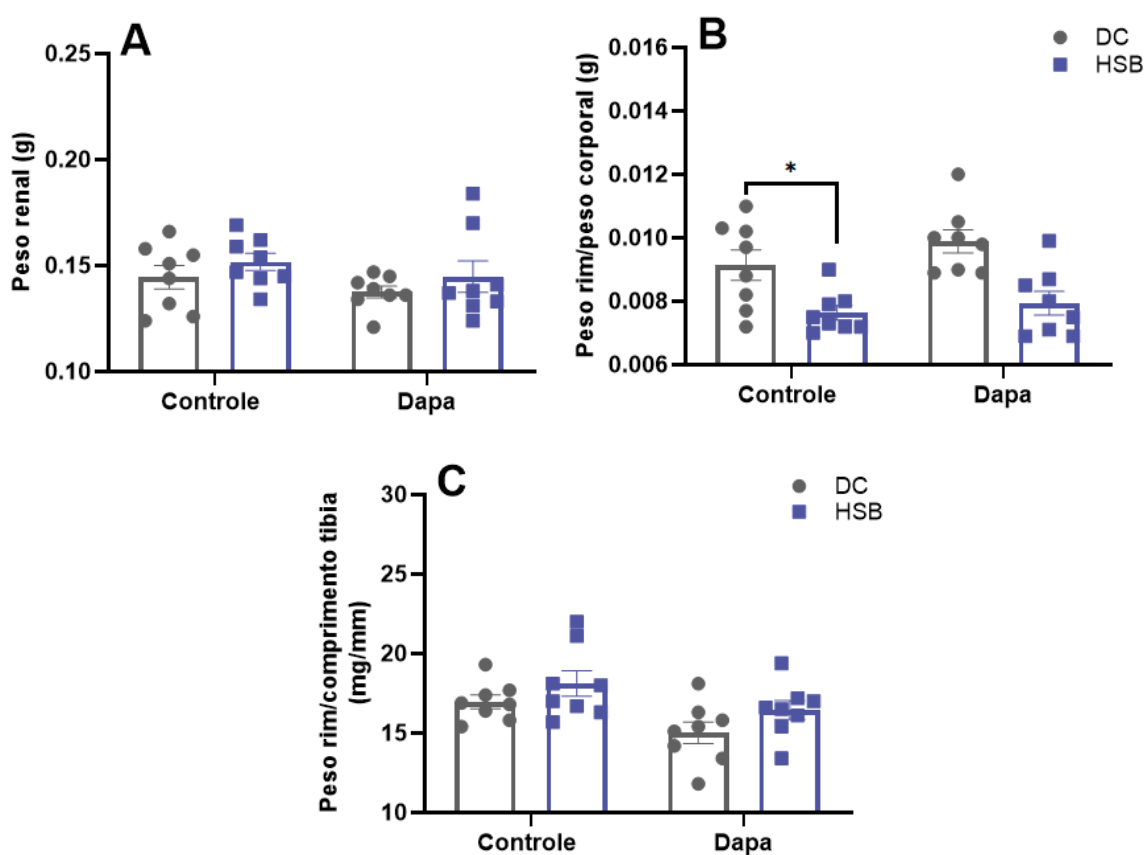
Até o momento, observamos que a dieta hiperpalatável promoveu ganho de peso e aumento da adiposidade associado à dislipidemia em camundongos de ambos os sexos. No entanto, apenas os machos desenvolveram hiperglicemia associada à obesidade. A inibição de SGLT2 através do tratamento com DAPA reduziu o ganho de peso, o acúmulo de gordura e a hiperglicemia nos machos, melhorando diversas alterações metabólicas induzidas pela dieta. Visando entender o impacto dessas alterações metabólicas nos rins, decidimos investigar os efeitos da dieta HSB na estrutura e função renal.

#### 4.5 Dieta HSB não induz aumento do peso renal em machos e fêmeas

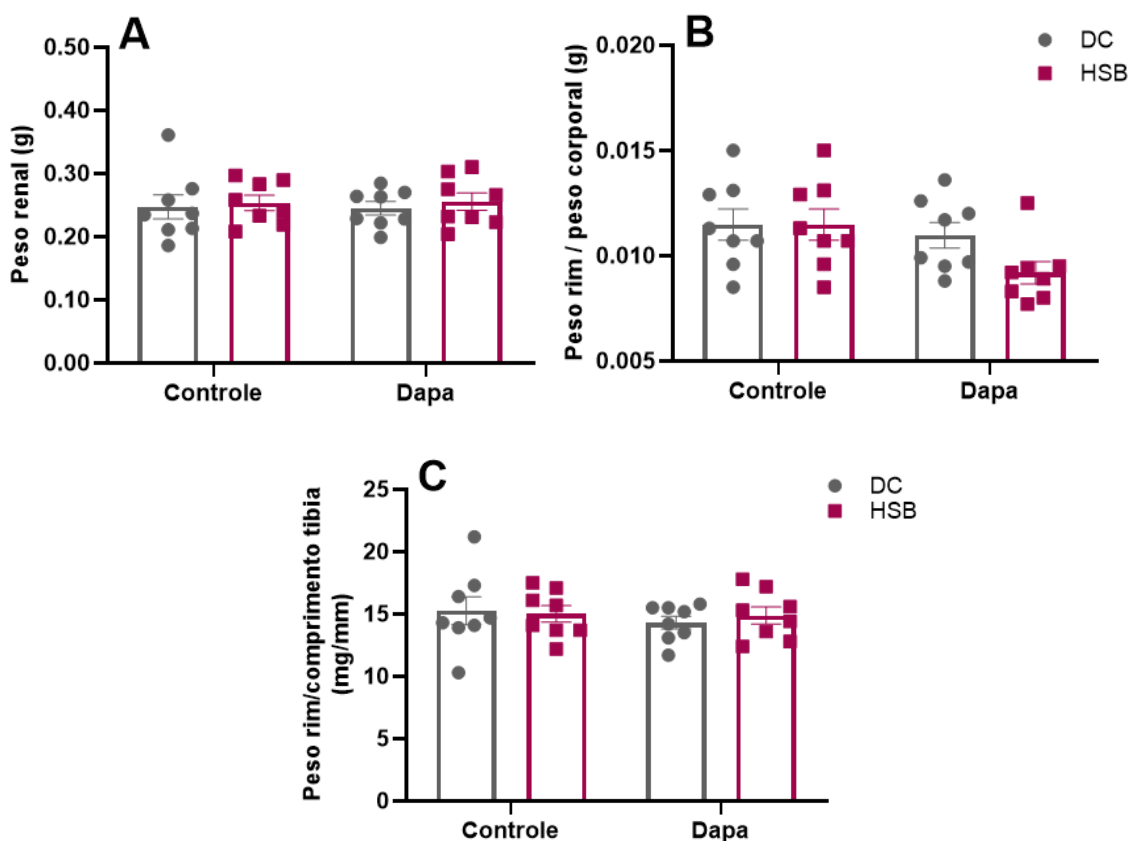
Apesar das alterações sistêmicas induzidas pelo consumo de dieta HSB, não observaram-se alterações significativas do parênquima renal do ponto de vista macroscópico (dado não mostrado). O peso renal absoluto em machos não foi estatisticamente diferente entre DC e HSB ( $p=0,7620$ ). Foi observado que a proporção do peso do rim em relação ao peso corporal estava menor no grupo HSB quando comparado com o grupo controle  $p=0,0401$ . Além disso, foi realizada a relação peso rim (mg) /comprimento tibia (mm) e não

foi observada nenhuma mudança entre os grupos (DC vs HSB  $p = 0,5914$ ). E o tratamento com DAPA (observados nos grupos DC+DAPA e HSB+DAPA) não alterou nenhum dos parâmetros avaliados comparando-se aos seus respectivos grupos controles (grupos DC+veículo e HSB+veículo) (FIGURA 19).

Em fêmeas, não foi observado nenhuma diferença significativa em relação ao peso renal no grupo que recebeu dieta HSB nos parâmetros avaliados (FIGURA 20). E igualmente ao observado nos machos, o tratamento com DAPA (observados nos grupos DC+DAPA e HSB+DAPA) não foi capaz de modificar nenhuma das análises comparando-se aos seus respectivos grupos controles (grupos DC+veículo e HSB+veículo).



**Figura 19** - Efeitos das dietas sobre o peso renal total em machos. (A) Os rins direito e esquerdo foram pesados (sem a cápsula renal) logo após a eutanásia. (B) Relação peso rim (g) e peso corporal (g) (C) Relação peso rim (mg) e comprimento da tíbia (mm).  $*p < 0,05$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.



**Figura 20** - Efeitos das dietas sobre o peso renal total em fêmeas. (A) Os rins direito e esquerdo foram pesados (sem a cápsula renal) logo após a eutanásia. (B) Relação peso rim (g) e peso corporal (g) (C) Relação peso rim (mg) e comprimento da tibia (mm), n=8/grupo.

#### 4.6 Parâmetros de função renal e balanço hídrico após dieta HSB: papel da inibição de SGLT2 via tratamento com dapagliflozina

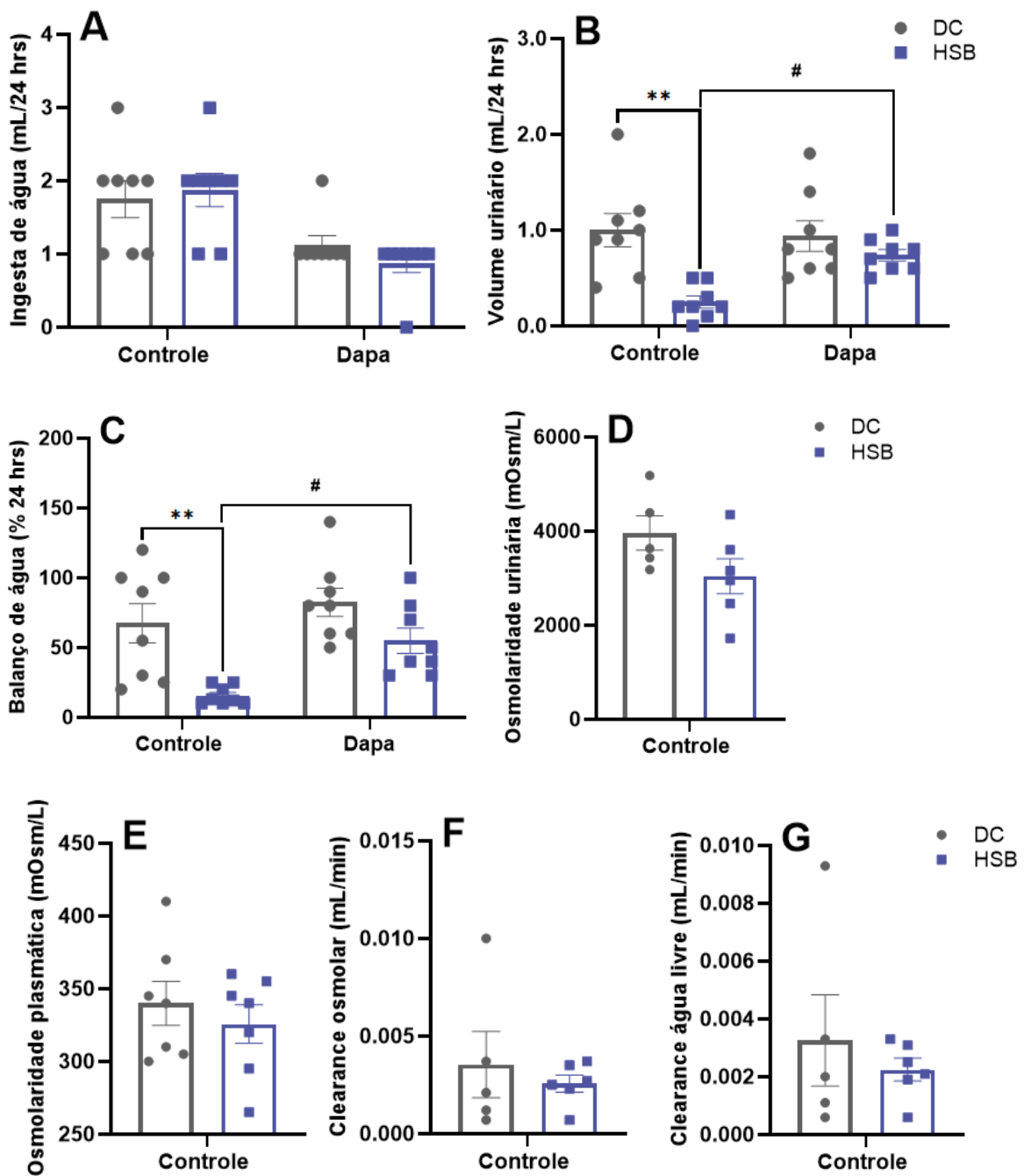
A obesidade pode influenciar a homeostase hídrica de várias maneiras, e o balanço de hídrico ou água refere-se à quantidade líquida de água que entra e sai do organismo em um determinado período de tempo (ROWNTREE, 1922; TOBIAS; BALLARD; MOHIUDDIN, 2019). Em relação aos parâmetros de função renal e balanço hídrico dos machos, os nossos resultados demonstraram que não houve diferenças significativas na ingestão de água entre os grupos experimentais, mas o volume urinário medido em mL/24 horas foi reduzido em ~120% em animais do grupo HSB+veículo comparando com o grupo DC+veículo ( $p=0,0012$ ), indicando uma menor capacidade dos rins de excretar urina. Interessantemente, o tratamento com DAPA (grupo HSB+DAPA) foi capaz de restaurar volume urinário ( $p=0,0478$ ). Com esses dados, foi possível calcular o balanço hídrico (como descrito na subseção 3.5 de Materiais e Métodos). Foi observado um menor balanço de água (~125%) em machos do grupo HSB+veículo ( $p=0,0045$ ), e o tratamento com DAPA (grupo HSB+DAPA)

foi capaz de restabelecer este parâmetro aos valores observados em animais DC+veículo ( $p=0,0399$ ). Não houve alterações significativas desses parâmetros entre os grupos DC+DAPA e DC+veículo (FIGURA 21).

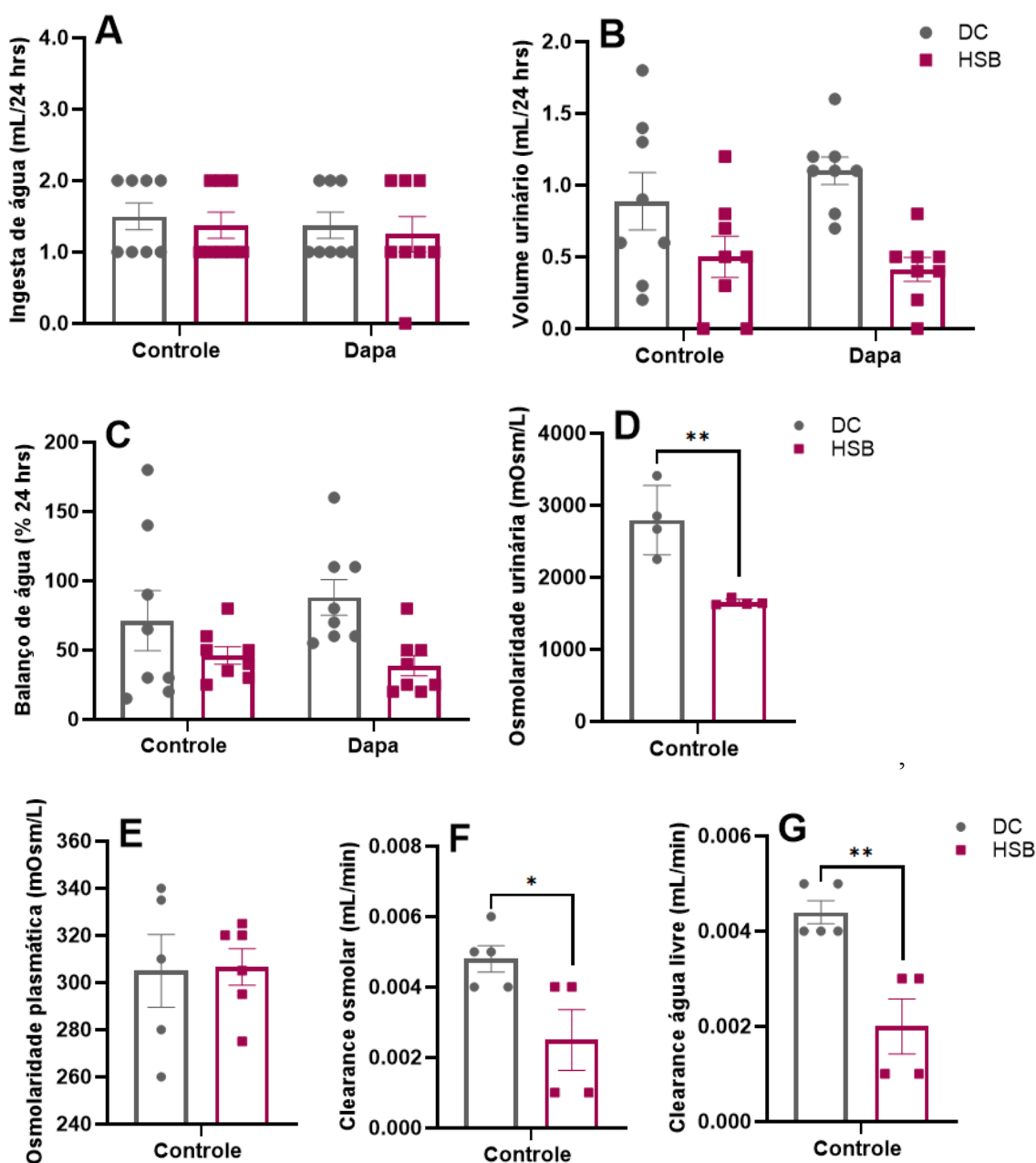
A osmolaridade urinária e plasmática são medidas que avaliam a concentração de partículas totais (eletrólitos e substâncias dissolvidas) no plasma e na urina. Esses parâmetros permitem a determinação do *clearance* osmolar (COsm) e o *clearance* de água livre (CH<sub>2</sub>O) que avalia a capacidade dos rins de concentrar ou diluir a urina, essas medidas são fundamentais para entender como os rins estão funcionando na regulação do equilíbrio hídrico e eletrolítico. Não foi possível observar nenhuma mudança significativa em relação a esses parâmetros em machos (FIGURA 21).

Em fêmeas, não foram observadas mudanças significativas na ingestão de água e no volume urinário dentro de 24h comparando-se os grupos, associado a isso, também não ocorreram alterações no balanço de água. A osmolaridade plasmática não apresentou alteração significativa entre os grupos experimentais. Porém, diferentemente dos machos, foi possível observar uma diminuição ~51% da osmolaridade urinária em fêmeas do grupo HSB+veículo quando comparado ao grupo DC+veículo ( $p=0,0032$ ), indicando uma menor capacidade dos rins em concentrar a urina. De acordo com essa ideia, nós observamos uma redução no *clearance* osmolar ~63% em fêmeas do grupo HSB+veículo quando comparado ao grupo DC+veículo ( $p=0,0334$ ). Associado a isso, também observamos uma menor taxa de *clearance* de água livre neste mesmo grupo experimental ( $p=0,0043$ ) (FIGURA 22).

Até o momento, foi observado que a dieta HSB promove redução significativa na taxa de formação da urina, impactando no balanço hídrico em camundongos machos. Interessantemente, a inibição de SGLT2 via tratamento com dapagliflozina atenuou essas modificações induzidas pela obesidade induzida pela dieta HSB. Sabendo que a função renal é resultante dos processos de filtração glomerular e transporte tubular, o próximo passo foi identificar o possível envolvimento das possíveis alterações funcionais glomerulares e/ou tubulares.



**Figura 21** - Parâmetros de função renal e equilíbrio hídrico de machos após 12 semanas de dieta. (A) Ingesta de água (mL/24 hrs) (B) Volume urinário medido em 24 hrs (mL) (C) Balanço de água em % das 24 hrs (D) Osmolaridade urinária (mOsm/L) (E) Osmolaridade plasmática (mOsm/L) (F) Clearance osmolar que reflete a depuração de solutos (mL/min) (G) Clearance de água livre (mL/min). \*\* $p < 0,01$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo. # $p < 0,05$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo. (D, E, F, G; Teste T não pareado,  $n=5,6$ /grupo).



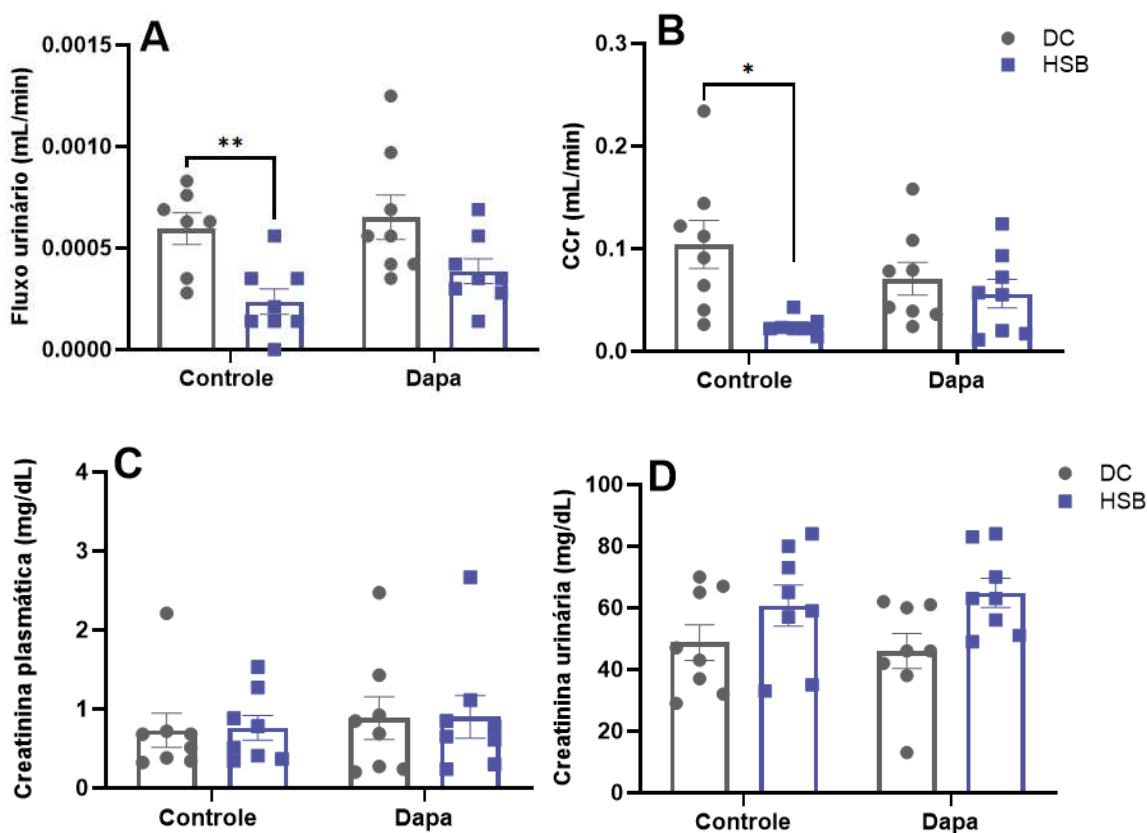
**Figura 22** - Parâmetros de função renal e equilíbrio hídrico de fêmeas após 12 semanas de dieta. (A) Ingesta de água (mL/24 hrs) (B) Volume urinário medido em 24 hrs (mL) (C) Balanço de água em % das 24 hrs (D) Osmolaridade urinária (mOsm/L) (E) Osmolaridade plasmática (mOsm/L) (F) *Clearance* osmolar que reflete a depuração de solutos (mL/min) (G) *Clearance* de água livre (mL/min). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo Teste T não pareado,  $n = 4, 5, 6$ /grupo.

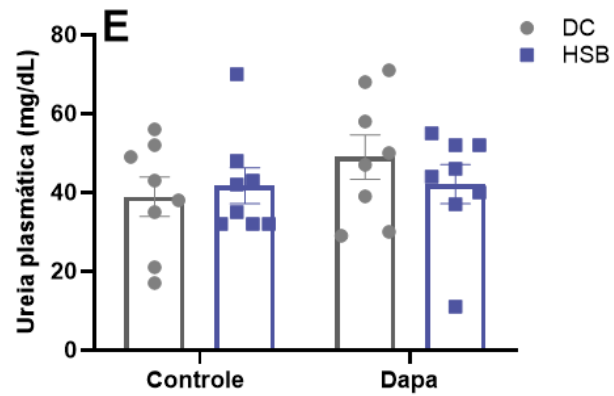
#### 4.7 Inibição de SGLT2 via dapaglifozina protege a disfunção glomerular induzida pela dieta HSB em machos

Para avaliar a função glomerular, foram analisados os parâmetros de fluxo urinário que refere-se à quantidade de urina produzida e excretada pelos rins ao longo de um

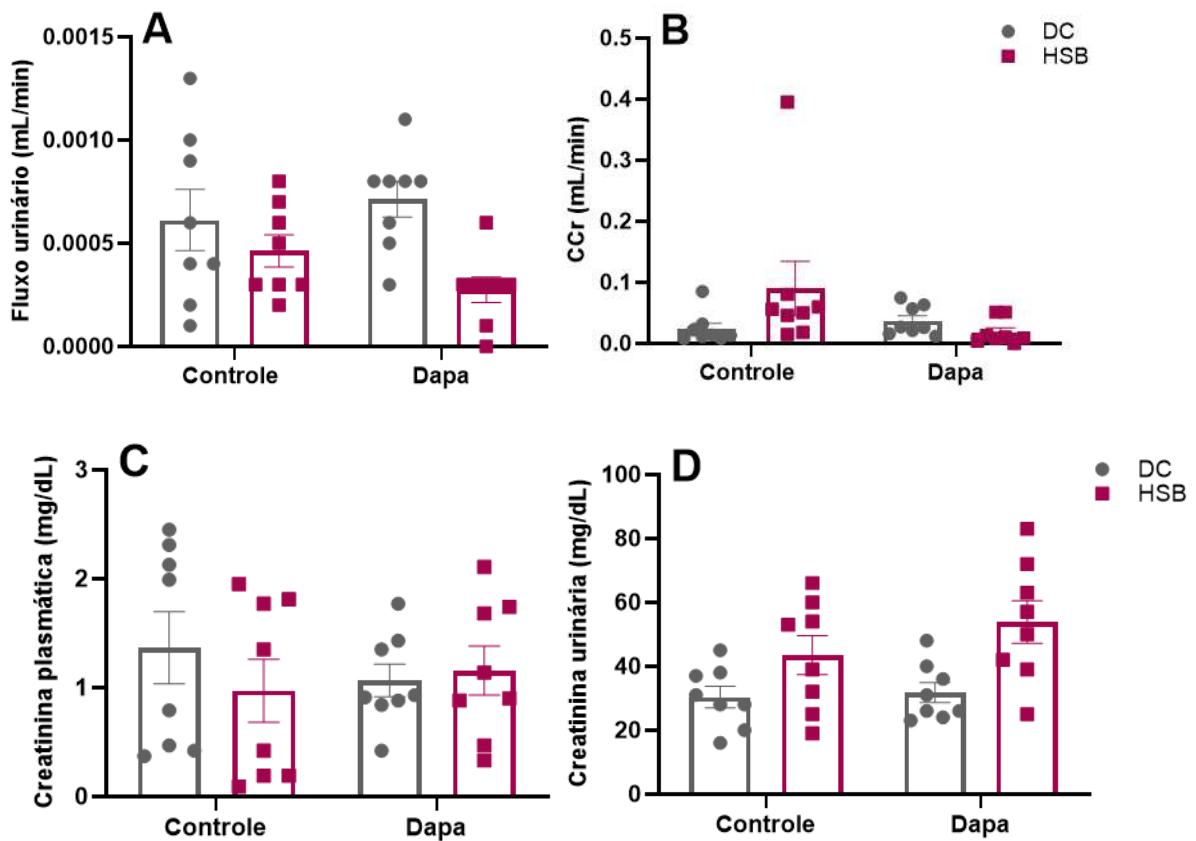
determinado período de tempo. Além disso, foi avaliado a concentração de creatinina plasmática, creatinina urinária e o *clearance* dessa substância, que refere-se à taxa na qual a creatinina é manipulada pelos néfrons, sendo um marcador da TFGe (FILLER; YASIN; MEDEIROS, 2014). Camundongos machos que consumiram a dieta HSB (grupo HSB+veículo) tiveram uma diminuição do fluxo urinário em ~86% quando comparado ao grupo DC+veículo ( $p=0,0216$ ), associado à uma diminuição do *clearance* da creatinina em ~142% ( $p=0,0161$ ). Por outro lado, não foram observadas mudanças significativas na concentração de creatinina plasmática, creatinina urinária e de uréia plasmática entre os diferentes grupos experimentais (FIGURA 23).

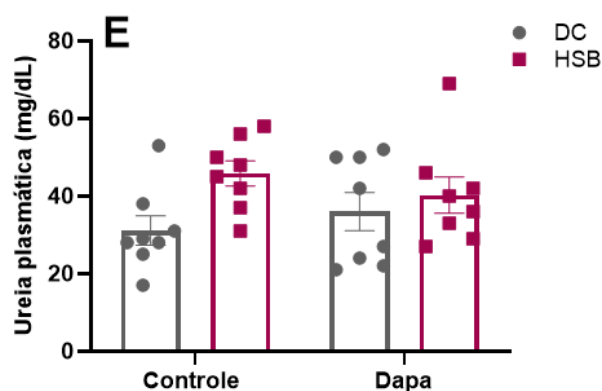
Em fêmeas, não foi possível observar nenhuma diferença estatística significativa entre os grupos estudados em relação ao fluxo urinário (DC vs HSB  $p = 0,8748$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,7194$ ), *clearance* de creatinina (DC vs HSB  $p = 0,2113$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,1534$ ), concentrações plasmáticas e urinárias de creatinina (DC vs HSB  $p = 0,7021$ ;  $p = 0,2802$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,9566$ ;  $p = 0,4813$ ) e as concentrações plasmáticas de uréia (DC vs HSB  $p = 0,0840$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,7792$ ) (FIGURA 24).





**Figura 23** - Parâmetros de função glomerular em machos. (A) Fluxo urinário (mL/min) (B) *Clearance* de creatinina, marcador direto da TFG (mL/min) (C) Creatinina plasmática (mg/dL) (D) Creatinina urinária (mg/dL) (E) Concentração de uréia plasmática (mg/dL) \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias,  $n = 8$ /grupo.





**Figura 24** - Parâmetros de função glomerular em fêmeas. (A) Fluxo urinário (mL/min) (B) *Clearance* de creatinina, marcador direto da TFG (mL/min) (C) Creatinina plasmática (mg/dL) (D) Creatinina urinária (mg/dL) (E) Concentração de uréia plasmática (mg/dL), n=8/grupo.

Até aqui, nossos achados indicam que a dieta HSB promove uma alteração significativa da função glomerular em machos e que o tratamento com dapagliflozina restaura, pelo menos em parte, o rim dessa disfunção. Como o principal sítio de ação do SGLT2 é o túbulo proximal (PADDA; MAHTANI; PARMAR, 2022) e dados mostram que uma disfunção glomerular pode levar a uma disfunção tubular ou vice-versa (VALLON; NAKAGAWA, 2021; MEYER, 2003), o próximo passo foi investigar o efeito da dieta e tratamentos sobre os parâmetros de função tubular.

#### 4.8 Inibição de SGLT2 via dapagliflozina aumenta a excreção de potássio e glicose em machos HSB

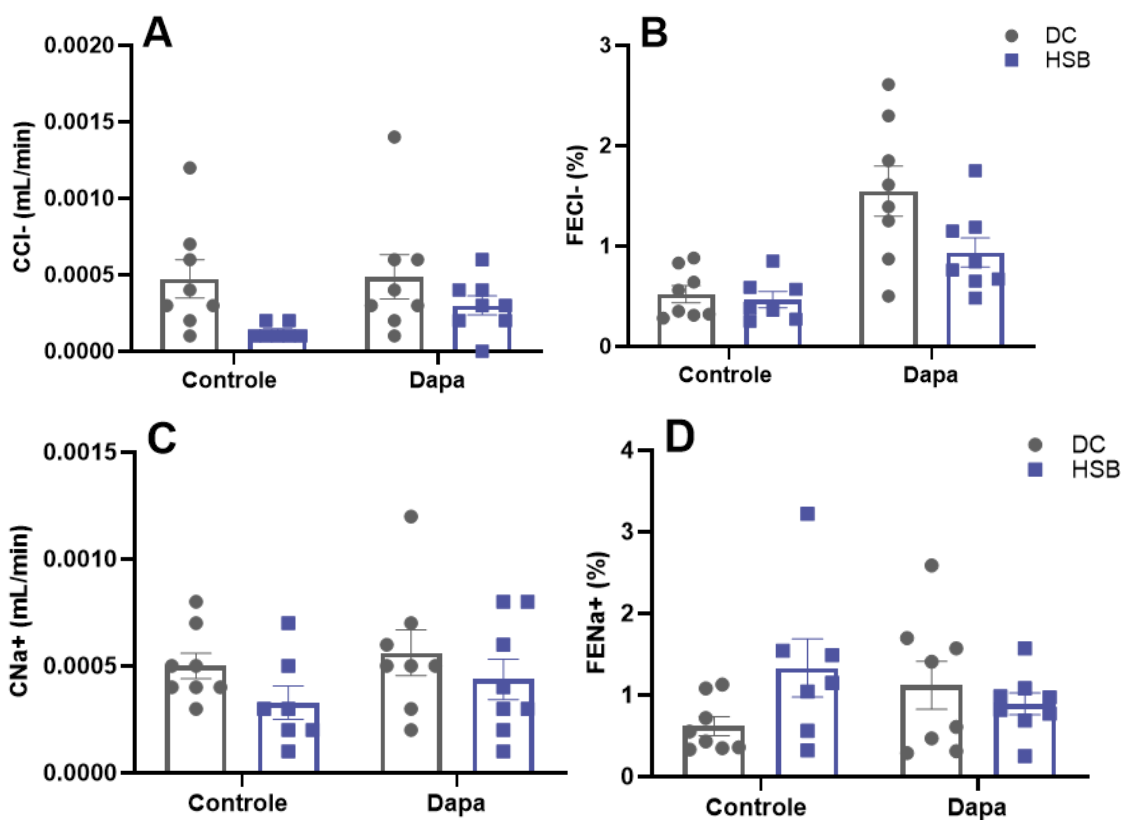
Os túbulos renais, em especial o túbulo proximal, são responsáveis por reabsorver substâncias essenciais do fluido tubular como glicose e eletrólitos (cloretos, sódio e potássio) após serem filtradas pelos glomérulos e secretar substâncias indesejadas que não foram eventualmente filtradas pelos glomérulos (HORITA et al., 2017). Em machos, nossos resultados não mostraram nenhuma mudança significativa em relação ao *clearance* e fração de excreção (FE) dos eletrólitos cloretos e sódio. Foi possível observar que a inibição do SGLT2 via DAPA aumentou a excreção de potássio através do aumento do *clearance* (p=0,0095) dessa substância no grupo HSB que recebeu DAPA (grupo HSB+DAPA) associado a uma maior FE de potássio (p=0,0029), também observada neste grupo (FIGURA 25).

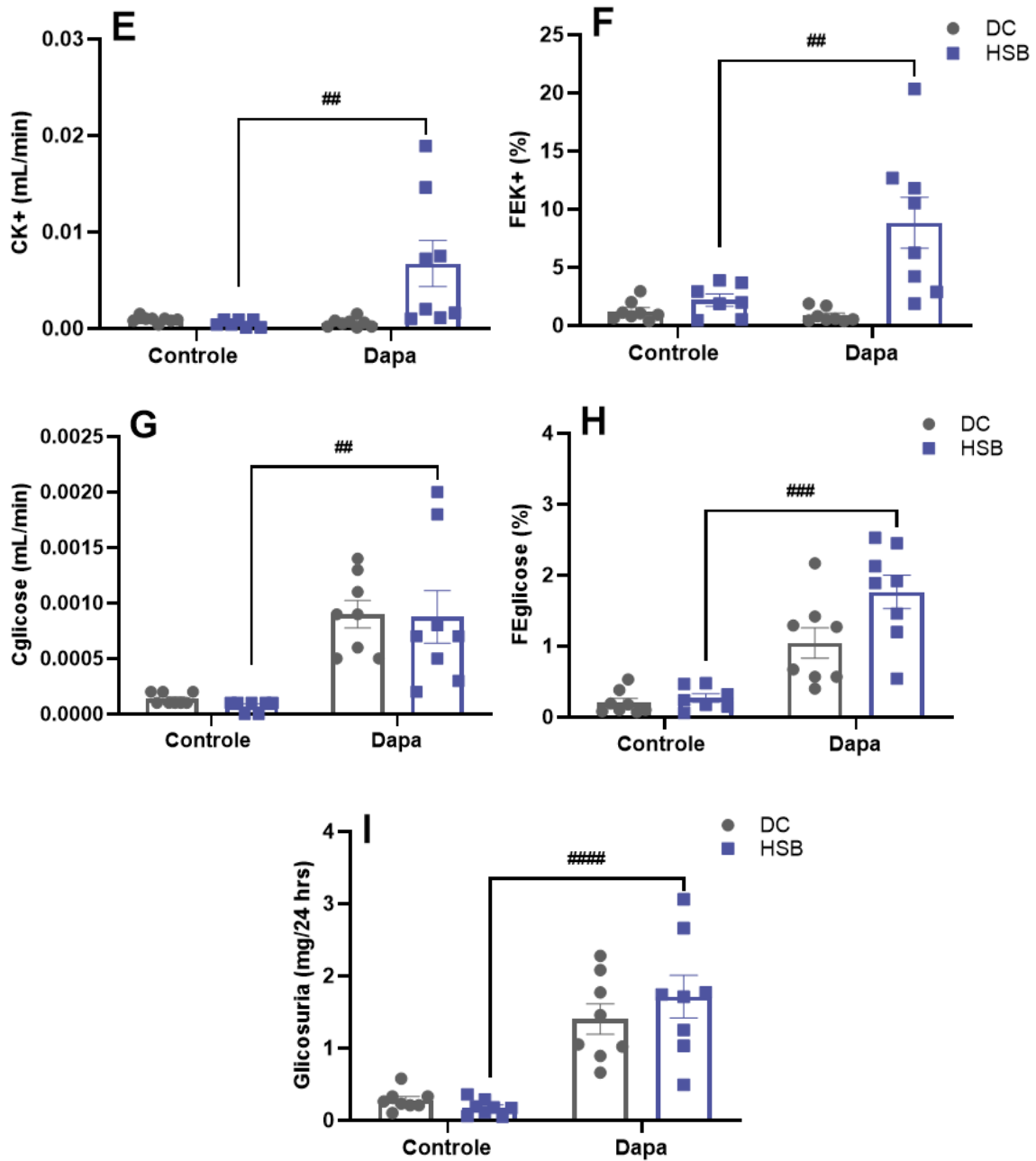
Com relação à excreção renal de glicose, foi observado um aumento significativo do *clearance* dessa substância associada à maior FE<sub>glicose</sub> no grupo HSB que recebeu DAPA

(grupo HSB+DAPA)  $p < 0,0001$ ;  $p = 0,0362$ , respectivamente. A concentração em mg/24 hrs de glicose também foi maior em machos do grupo HSB+DAPA  $p < 0,0001$  (FIGURA 25). DAPA é um inibidor do SGLT2, com isso é esperado um aumento da excreção de glicose e sódio na urina.

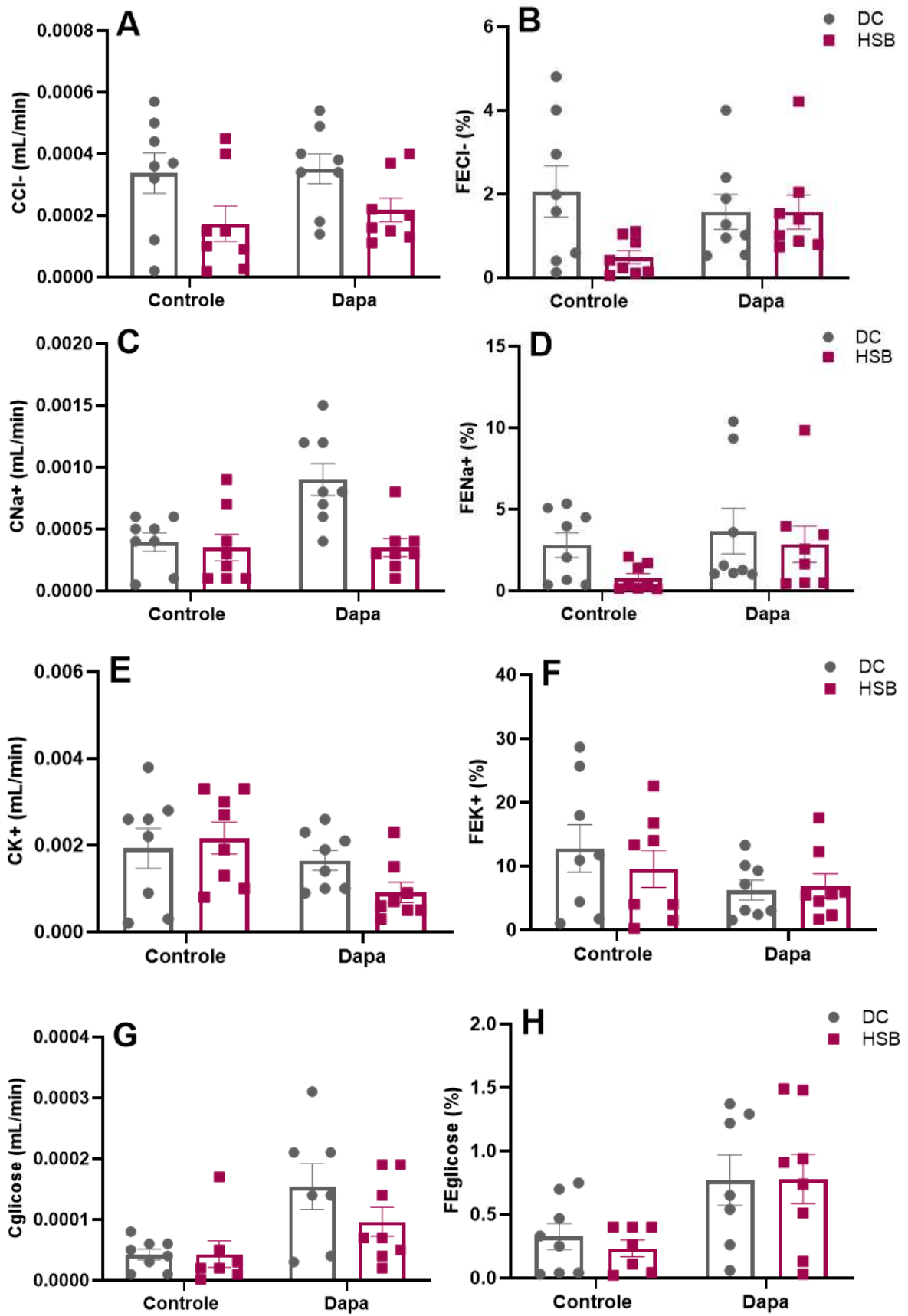
Em camundongos fêmeas, não foram observados nenhuma alteração significativa na manipulação tubular dos eletrólitos avaliados, assim como, na excreção de glicose (FIGURA 26). Dessa forma, nossos dados mostram que existe uma seletividade de efeitos sobre a função tubular promovidos pela dieta e pelo tratamento com dapagliflozina nos camundongos machos.

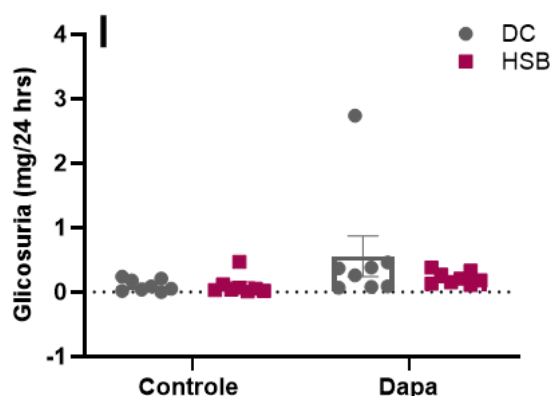
Sabendo que disfunção glomerular e/ou tubular estão estreitamente correlacionados com o desenvolvimento de proteinúria (conhecido marcador de lesão renal) (COMPER; VUCHKOVA; MCCARTHY, 2022; BÖKENKAMP, 2020) e que a inibição de SGLT2 possui efeitos antiproteinúricos em doenças renais crônicas como a doença renal diabética (PERICO; RUGGENENTI; REMUZZI, 2017; FARIAS et al. 2023), o nosso próximo passo foi avaliar o potencial efeito da dieta e do tratamento na manipulação de proteínas pelo néfron.





**Figura 25** - Parâmetros de função tubular em machos. (A) *Clearance* de cloretos (mL/min) (B) FE de cloretos (%) (C) *Clearance* de sódio (D) FE de sódio (E) *Clearance* de potássio (F) FE de potássio (G) *Clearance* de glicose (H) FE de glicose (I) Concentração de glicose na urina 24 h (mg/24h). # $p < 0,05$ ; ## $p < 0,01$ ; ### $p < 0,001$ ; #### $p < 0,0001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.





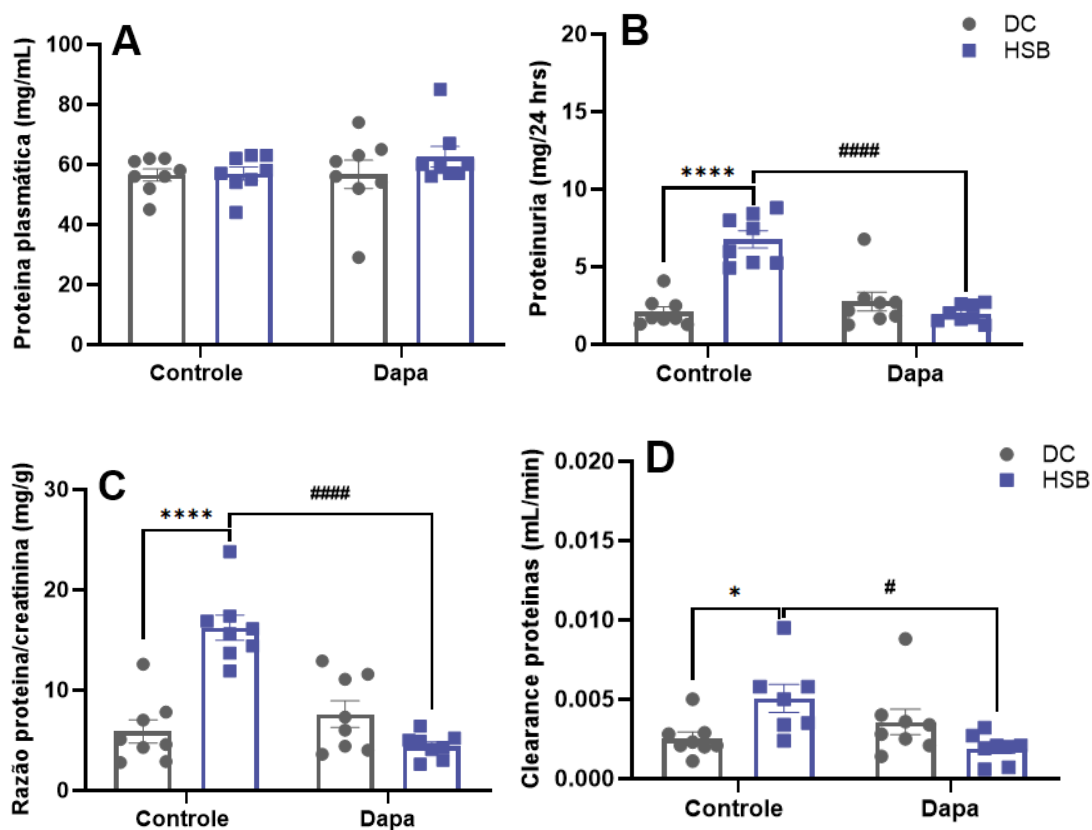
**Figura 26** - Parâmetros de função tubular em fêmeas. (A) *Clearance* de cloretos (mL/min) (B) FE de cloretos (%) (C) *Clearance* de sódio (D) FE de sódio (E) *Clearance* de potássio (F) FE de potássio (G) *Clearance* de glicose (H) FE de glicose (I) Concentração de glicose na urina 24 h (mg/24 h), n=8/grupo.

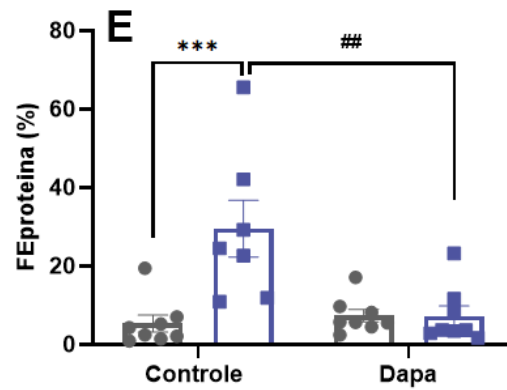
#### 4.9 Inibição de SGLT2 via tratamento com dapagliflozina melhora proteinúria de origem tubular induzida pela dieta HSB em machos

Analisando a manipulação renal de proteínas, inicialmente, não encontramos alterações nas concentrações plasmáticas de proteínas em nenhum dos grupos experimentais. Foi observado que nos camundongos machos do grupo HSB+veículo houve um aumento da excreção de proteína na urina (mg/24h) ~105% quando comparado com o grupo DC+veículo ( $p<0,0001$ ), e o tratamento com DAPA (observado no grupo HSB+DAPA) foi capaz de reverter esse parâmetro significativamente ( $p<0,0001$ ) (FIGURA 27). A razão proteína/creatinina (RPC) na urina é uma medida usada para avaliar a quantidade de proteína presente na urina em relação à quantidade de creatinina. Esse marcador é útil e bem utilizado para detectar e monitorar a proteinúria independente da variação de fluxo urinário (KAMIŃSKA et al., 2020; DWYER et al., 2008). Nós observamos que camundongos machos do grupo HSB+veículo apresentaram aumento dessa razão de ~93% em comparação ao grupo DC+veículo ( $p<0,0001$ ). Interessantemente, o tratamento com DAPA (grupo HSB+DAPA) reverteu este indicador aumentado pelo efeito da dieta ( $p<0,0001$ ), corroborando com os demais dados mostrados acima. Associado a isso, também observamos um aumento significativo do *clearance* renal de proteínas ( $C_{\text{proteínas}}$ ) ~66% da FE de proteínas ( $FE_{\text{proteínas}}$ ) ~138% em camundongos machos do grupo HSB+veículo quando comparados ao grupo DC+veículo, indicando menor reabsorção de proteínas. O tratamento com DAPA também foi eficiente em modificar positivamente esses parâmetros (como pode ser observado no grupo HSB+DAPA) (FIGURA 27). Vale a pena ressaltar que não ocorreram variações

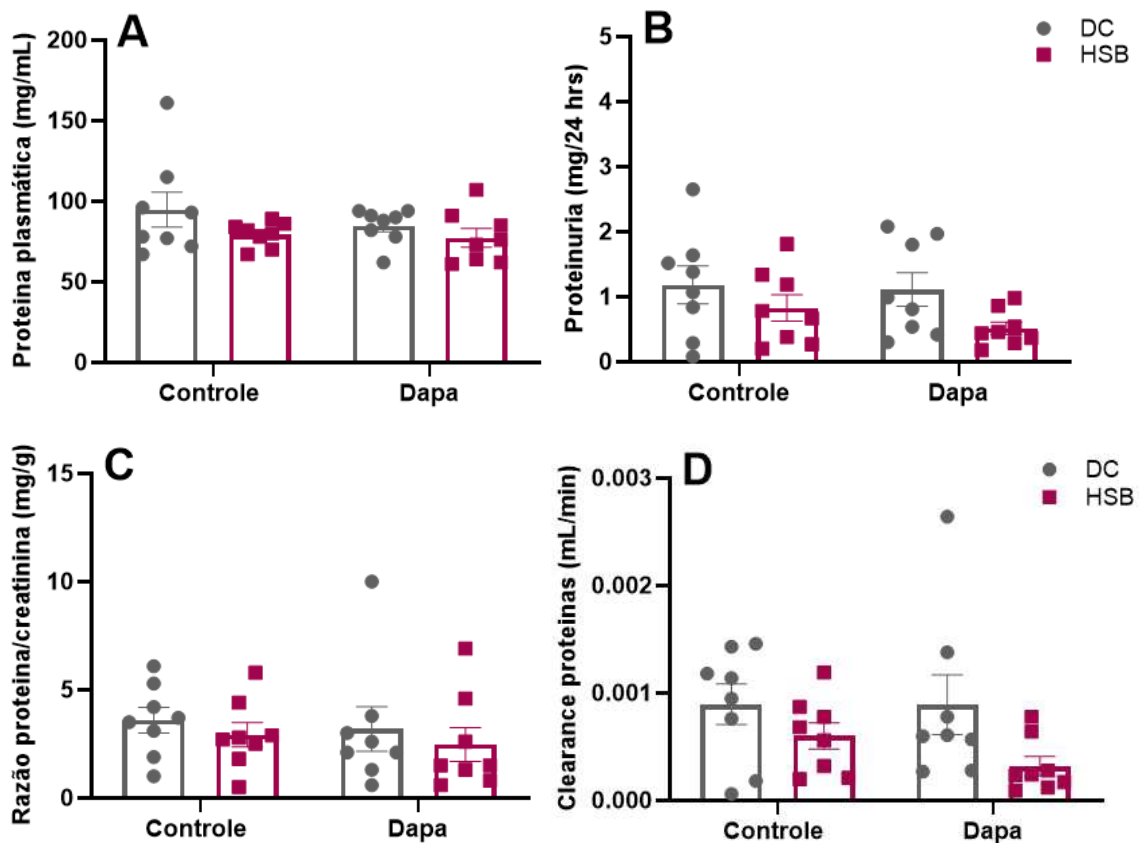
significativas em quaisquer um dos parâmetros entre os grupos DC+veículo e DC+DAPA. Por outro lado, em fêmeas não observamos nenhuma mudança em relação à presença de proteína na urina, sem mudanças nas concentrações plasmáticas e sem alterações na RPC (FIGURA 28), indicando que possivelmente não existe gênese de proteinúria e comprometimento renal induzido pela dieta ou pelo tratamento com dapagliflozina.

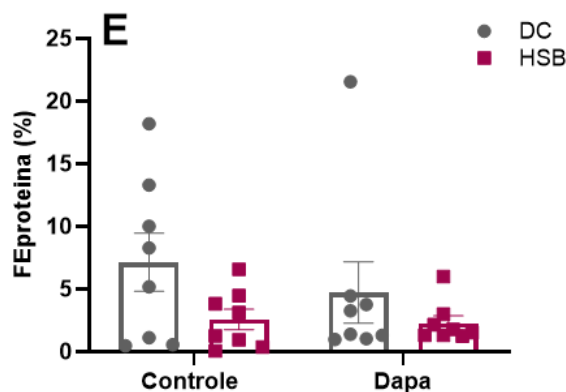
Esses dados em conjunto indicam que a dieta HSB promove o desenvolvimento de proteinúria associada a disfunção da reabsorção de proteínas em camundongos machos. Além disso, esse processo parece ser mediado por SGLT2. Como é bem estabelecido uma correlação entre disfunção na reabsorção de proteínas e lesão no parênquima renal, principalmente lesão tubular, o nosso próximo passo foi investigar as possíveis alterações no parênquima renal frente a dieta HSB e tratamento com DAPA.





**Figura 27** - Efeitos da dieta HSB na proteinúria em machos. (A) Concentração plasmática de proteínas (mg/dL) (B) Massa de proteína na urina 24 horas (mg/24 hrs) (C) Razão da massa de proteína urinária pela creatinina urinária (mg/g) (D) Clearance de proteínas (mL/min) (E) FE de proteínas (%). \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$  \*\*\*\* $p < 0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias,  $n = 8$ /grupo. # $p < 0,05$ ; ## $p < 0,01$ ; #### $p < 0,0001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n = 8$ /grupo.





**Figura 28** - Efeitos da dieta HSB na proteinúria em fêmeas. (A) Concentração plasmática de proteínas (mg/dL) (B) Massa de proteína na urina 24 horas (mg/24 hrs) (C) Razão da massa de proteína urinária pela creatinina urinária (mg/g) (D) *Clearance* de proteínas (mL/min) (E) FE de proteínas (%).

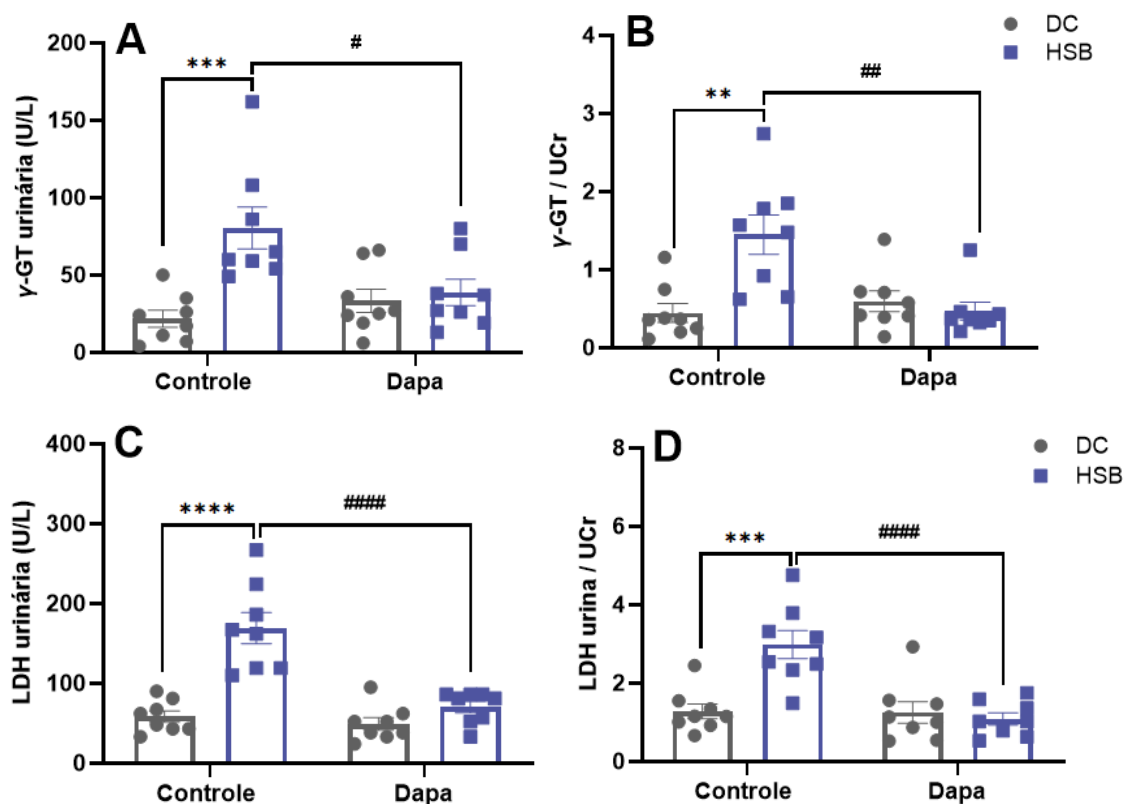
#### 4.10 Inibição de SGLT2 via tratamento com dapagliflozina atenua aumento dos marcadores de lesão tubular renal em camundongo machos

A disfunção na reabsorção de proteínas nos túbulos renais é um processo que pode levar a lesões renais significativas (CHRISTENSEN; GBUREK, 2004). A presença de proteínas na urina é um indicativo de que os túbulos renais estão danificados ou sobrecarregados (MAKHAMMAJANOV et al., 2024; HEYMAN et al., 2022). Para avaliar a extensão da lesão tubular, inicialmente, é essencial analisar marcadores específicos de lesão tubular. Esses marcadores são substâncias liberadas nas células tubulares renais danificadas e podem ser detectadas na urina. Diante disso, avaliamos a presença na urina das enzimas  $\gamma$ -glutamil transferase ( $\gamma$ -GT) e Lactato Desidrogenase (LDH) de camundongos machos e fêmeas.

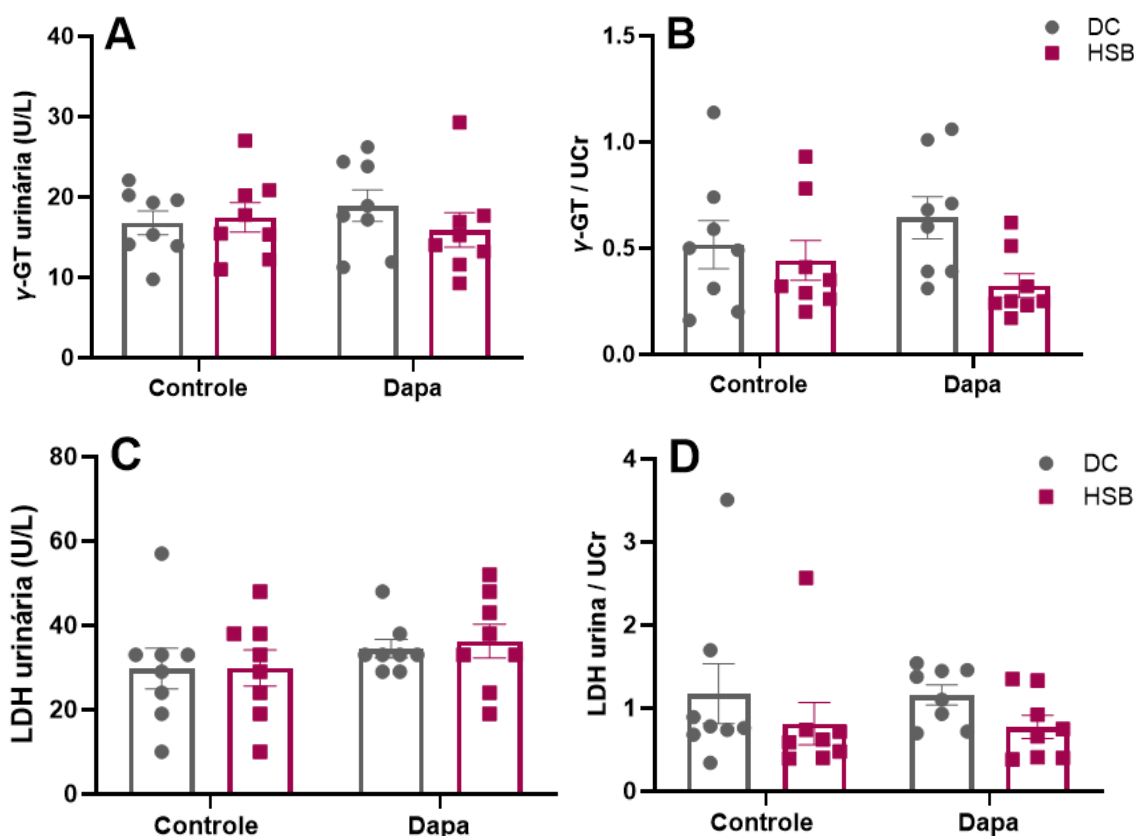
Em machos, foi possível observar um aumento significativo (~114%) na atividade da enzima  $\gamma$ -GT na urina dos animais do grupo HSB+veículo ( $p=0,0006$ ), e o tratamento com DAPA foi eficaz em reverter esse efeito (grupo HSB+DAPA,  $p=0,0175$ ). Além disso, a atividade de LDH também estava aumentada em urina de machos do grupo HSB+veículo comparando-se com o grupo DC+veículo ( $p<0,0001$ ). O tratamento com DAPA atenuou esse efeito induzido pelo consumo da dieta HSB ( $p<0,0001$ ). Para excluir quaisquer influências de variações do fluxo urinário, foram determinadas as razões  $\gamma$ -GT/Cr (razão  $\gamma$ -GT:creatinina urinária) e LDH/Cr (razão LDH:creatinina urinária). As razões  $\gamma$ -GT/Cr e LDH/Cr estavam aumentadas ~105%; ~80%, respectivamente, nos machos do grupo HSB+veículo em comparação ao grupo DC+veículo ( $p=0,0010$ ;  $p=0,0003$ ). O tratamento com DAPA diminuiu

significativamente esses marcadores (grupo HSB+DAPA,  $\gamma$ -GT/Cr  $p=0,0013$ ; LDH/Cr  $p<0,0001$ ) (FIGURA 29).

Com relação às fêmeas, não foi possível observar nenhuma mudança significativa em marcadores de lesão tubular comparando-se os diferentes grupos experimentais (FIGURA 30), indicando que em fêmeas 12 semanas de consumo da dieta hiperpalatável não foram suficientes em desencadear dano renal, corroborando com os demais resultados funcionais encontrados neste trabalho. Devido ao efeito protetor de DAPA sobre os biomarcadores urinários de lesão renal em machos, o próximo passo foi estudar o possível efeito na estrutura do parênquima renal potencialmente modificado pela ingestão de dieta HSB.



**Figura 29** - Marcadores de lesão tubular em machos. (A)  $\gamma$ -GT urinária (U/L) (B) Relação  $\gamma$ -GT pela creatinina urinária (UCr) (C) LDH urinária (D) Relação LDH/UCr. \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$  \*\*\*\* $p<0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias,  $n=8$ /grupo. # $p<0,05$ ; ## $p<0,01$ ; #### $p<0,0001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias, seguido pelo pós teste de Tukey,  $n=8$ /grupo.



**Figura 30** - Marcadores de lesão tubular em fêmeas. (A)  $\gamma$ -GT urinária (U/L) (B) Relação  $\gamma$ -GT pela creatinina urinária (UCr) (C) LDH urinária (D) Relação LDH/UCr.

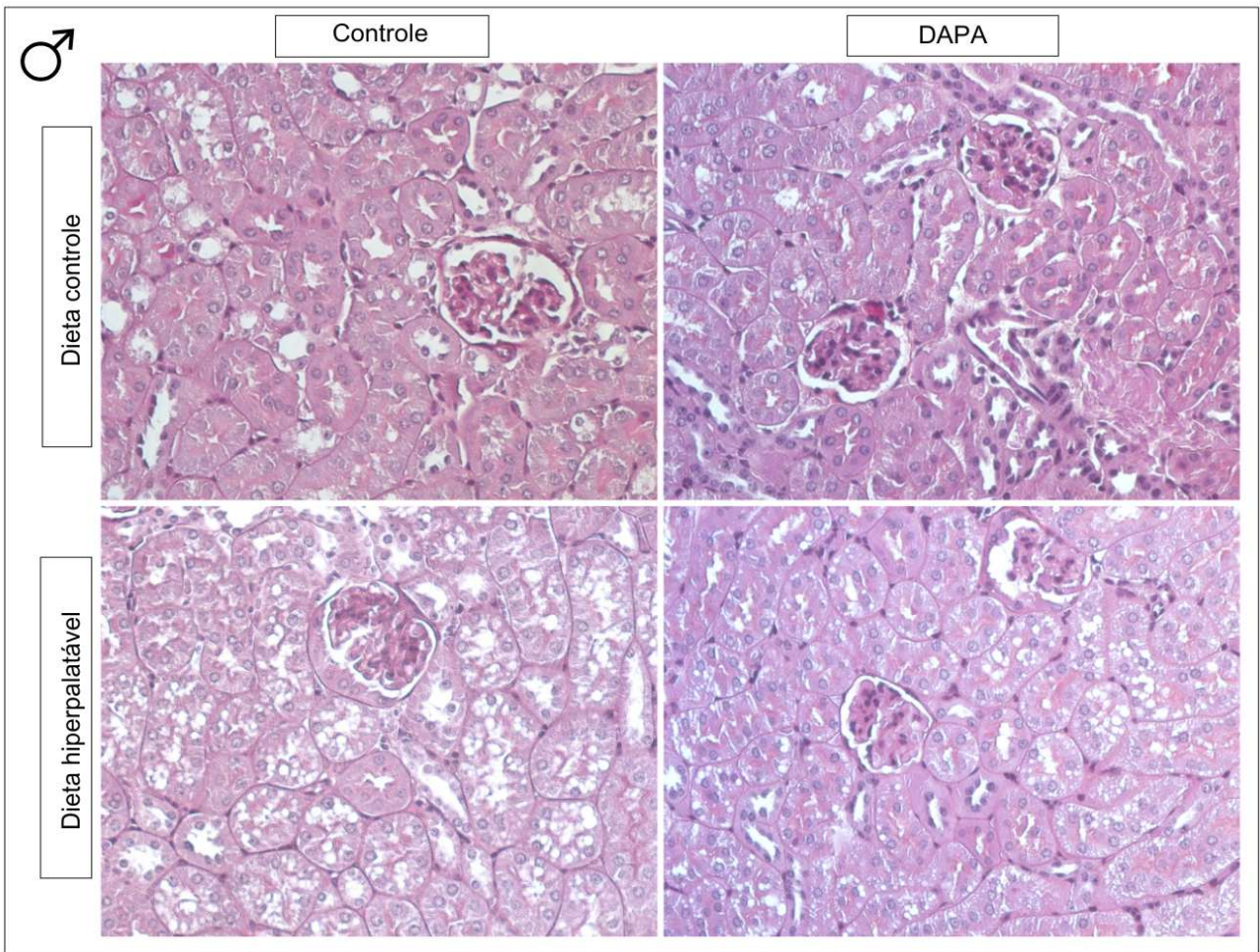
#### 4.11 HSB promoveu alterações histológicas e morfométricas nos rins de machos que foram atenuadas com tratamento com DAPA

Para avaliar o possível efeito protetor de DAPA sobre os efeitos da obesidade induzida por dieta HSB e da resistência à glicose na histopatologia renal, realizamos coloração periódica com ácido-Schiff (PAS) em cortes renais de camundongos machos e fêmeas (FIGURAS 31 e 33), e posteriormente, a análise histomorfométrica como descrito em detalhes em Materiais e Métodos.

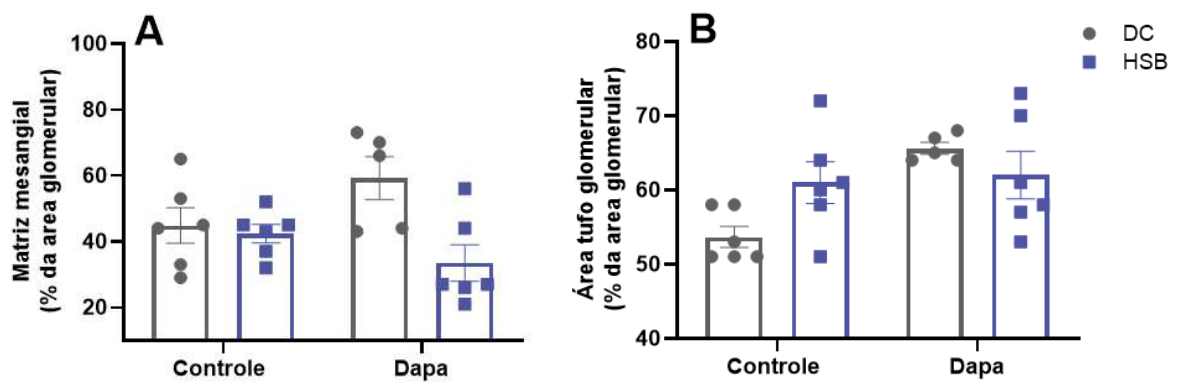
Inicialmente, verificamos os parâmetros histomorfométricos associados à estrutura glomerular. Cada estrutura foi analisada separadamente, contudo não foi observada nenhuma diferença estatística em relação ao tamanho da área glomerular total (DC vs HSB  $p = 0,3039$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,4181$ ), área do tufo glomerular (DC vs HSB  $p = 0,8992$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,5131$ ), área da cápsula de bowman (DC vs HSB  $p = 0,1482$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,9796$ ) e da matriz mesangial (DC vs HSB  $p = 0,9851$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,6084$ ) (FIGURA 32). Com relação à estrutura tubular, nós avaliamos o número de células epiteliais tubulares, o número de células intersticiais e a presença de vacuolização. Em machos, foi possível observar que a

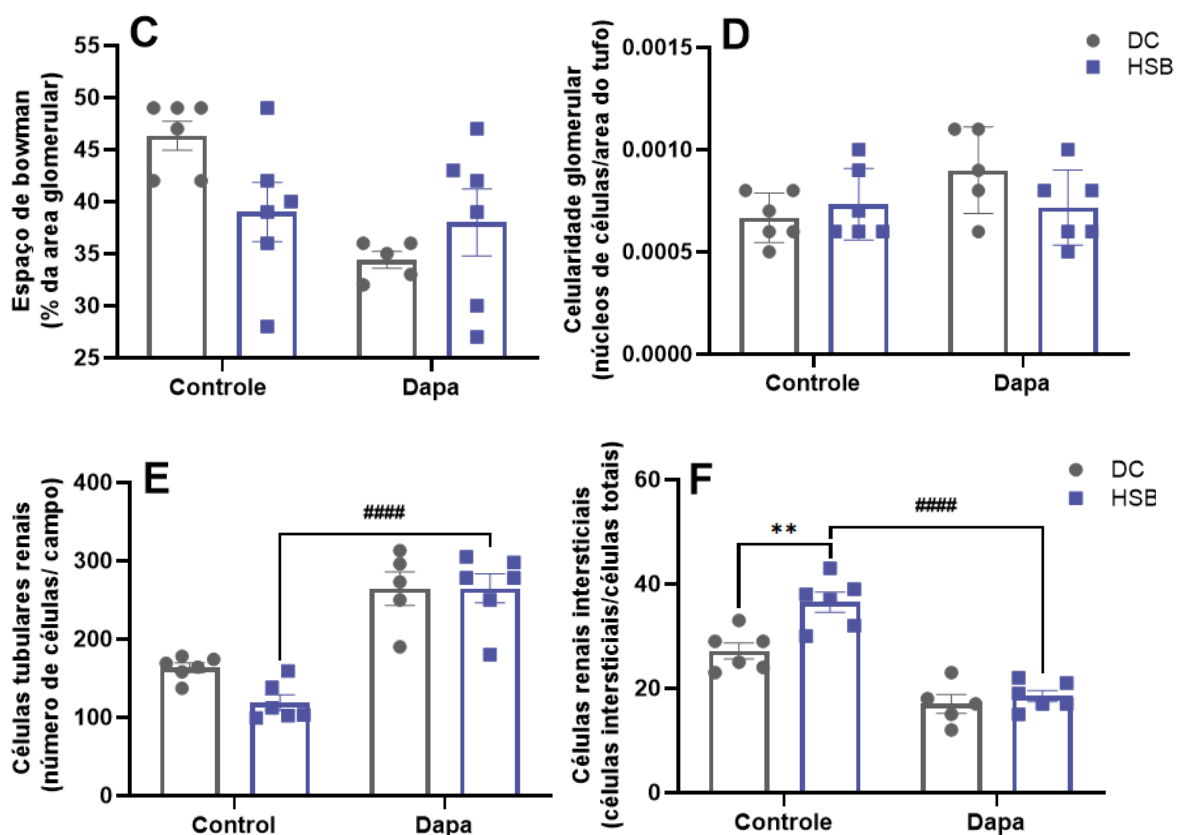
dieta HSB promoveu uma redução das células tubulares e aumento da presença de vacuolização no tecido dos animais do grupo HSB+veículo em comparação com o grupo DC+veículo (FIGURA 32). Interessantemente, o tratamento com DAPA foi capaz de reverter esses efeitos (comparação entre grupo HSB+DAPA e HSB+veículo,  $p < 0,0001$ ).

O aumento de células intersticiais nos rins é uma característica associada a várias condições patológicas, principalmente as que envolvem inflamação, fibrose e resposta ao dano renal crônico (CASTROP, 2019; FARIAS et al., 2023). Diante disso, essas células também foram quantificadas. Em machos, observamos um aumento dessas células em animais do grupo HSB+veículo quando comparado com grupo DC+veículo ( $p = 0,0028$ ). Além disso, foi observado um efeito benéfico do tratamento, sendo este capaz de reduzir o número dessas células no rim de animais que receberam DAPA (grupo HSB+DAPA,  $p < 0,0001$ ) (FIGURA 32). Diferentemente dos camundongos machos, não foi possível observar nenhuma alteração de estrutura do parênquima renal em camundongos fêmeas (FIGURAS 33 e 34), corroborando com a ausência de disfunção glomerular e tubular, assim como, de desenvolvimento de proteinúria nos camundongos fêmeas.

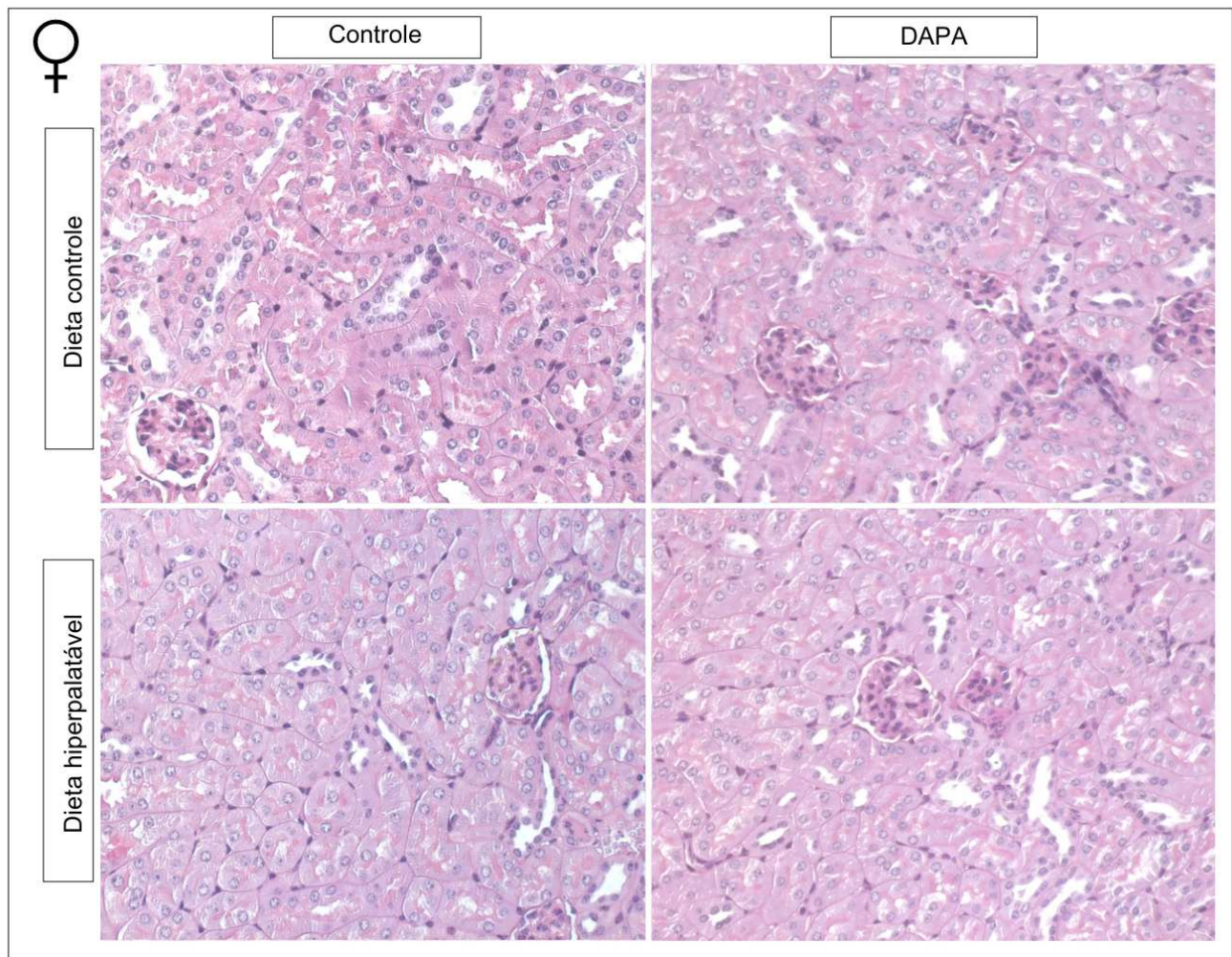


**Figura 31** - Cortes histológicos dos rins de machos corados com PAS. (A) Histologia renal ao final da 12ª semana após coloração com PAS.

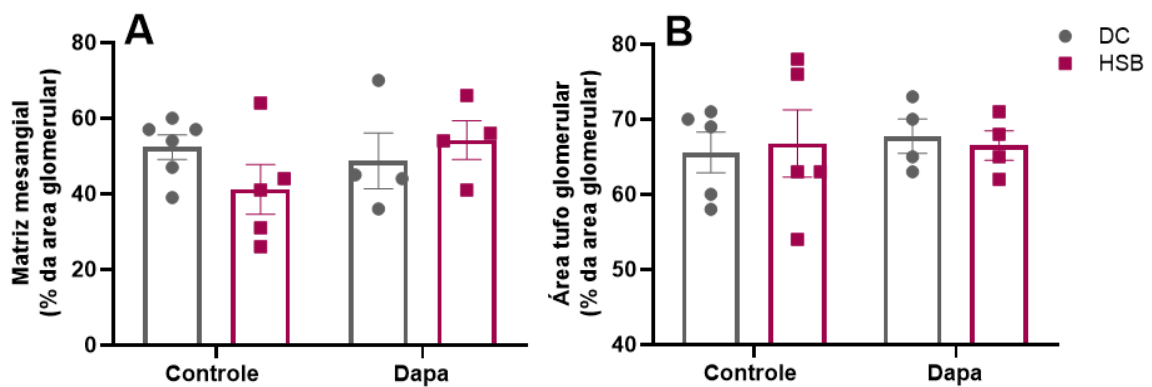


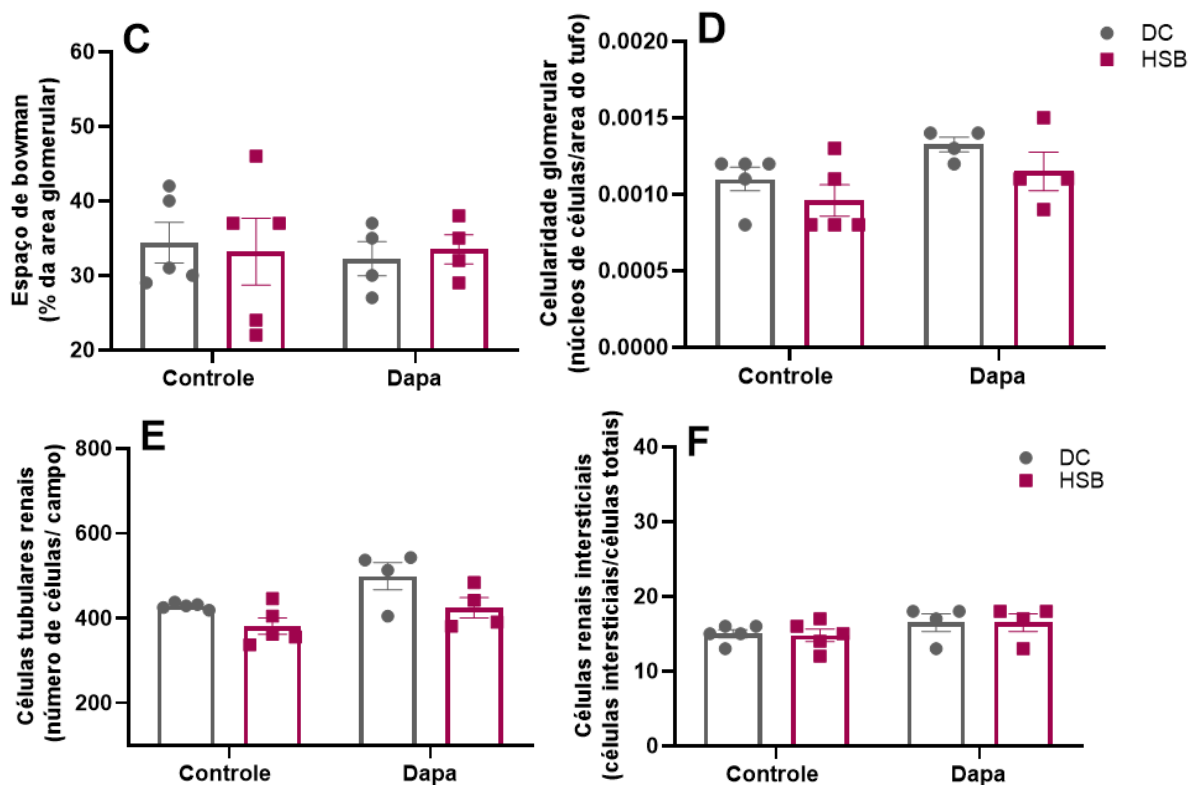


**Figura 32** - Quantificação histológica de machos. (A-D) Parâmetros de estrutura glomerular. (A) Depósito de matriz mesangial (B) Área do tufo glomerular (C) Área do espaço de bowman (D) Celularidade glomerular (E) Quantificação de células tubulares (F) Quantificação de células renais intersticiais. \*\* $p < 0,01$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias. #### $p < 0,0001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias. (DC,  $n = 6$ ; HSB,  $n = 6$ ; DC+DAPA,  $n = 5$ ; HSB+DAPA,  $n = 6$ ).



**Figura 33** - Cortes histológicas dos rins de fêmeas corados com PAS. (A) Histologia renal ao final da 12ª semana após coloração com PAS



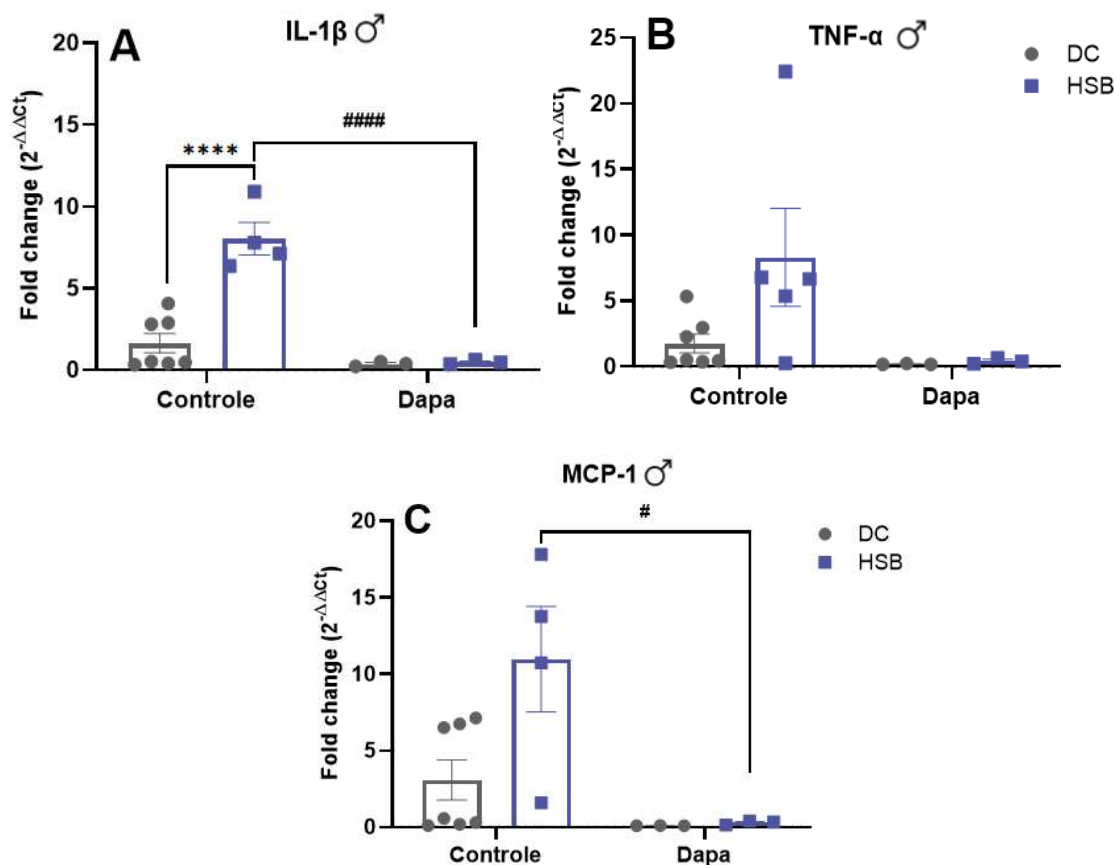


**Figura 34** - Quantificação histológica de fêmeas. (A-D) Parâmetros de estrutura glomerular. (A) Depósito de matriz mesangial (B) Área do tufo glomerular (C) Área do espaço de bowman (D) Celularidade glomerular (E) Quantificação de células tubulares (F) Quantificação de células renais intersticiais. (DC, n = 5; HSB, n = 5; DC+DAPA, n = 4; HSB+DAPA, n = 4).

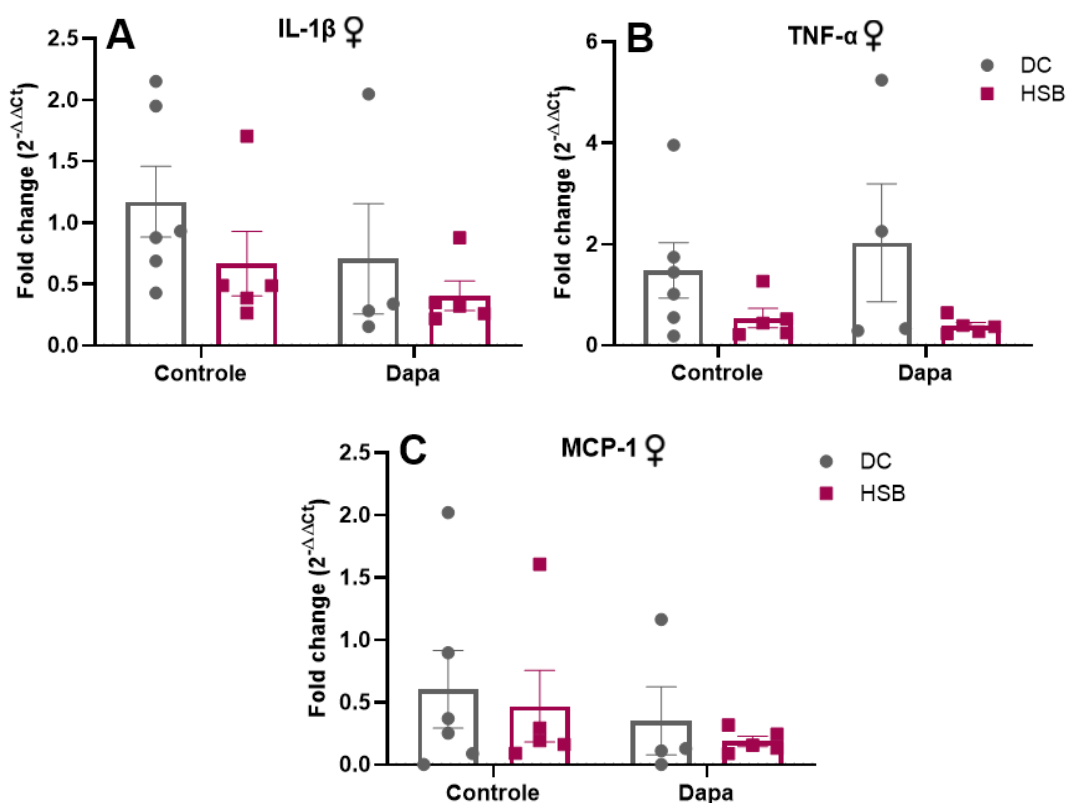
#### 4.12 HSB causa inflamação renal em machos e DAPA é capaz de diminuir a inflamação

A inflamação renal é um achado característico da obesidade e da síndrome metabólica (WAHBA; MAK, 2007). Sabendo que disfunção e lesão tubular associada ao desenvolvimento de proteinúria é associada a inflamação renal (EDDY, 2004), o próximo passo foi avaliar o nível de mRNA de citocinas pró-inflamatórias no tecido renal. Avaliamos por meio da técnica de PCR em tempo real (qRT-PCR) os níveis de mRNA de interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1). Houve aumento significativo de IL-1 $\beta$  no tecido renal de camundongos machos que consumiram a dieta HSB (grupo HSB+veículo,  $p < 0,0001$ ) e esse aumento foi significativamente menor em camundongos machos tratados com DAPA (grupo HSB+DAPA,  $p < 0,0001$ ). MCP-1 foi significativamente reduzida no grupo tratado com DAPA (grupo HSB+DAPA,  $< 0,05$ ). Em relação à citocina TNF- $\alpha$ , não foram observadas diferenças significativas em machos das diferentes condições experimentais (FIGURA 35).

Por outro lado, não foi possível observar diferenças significativas nos níveis de citocinas comparando-se o efeito da dieta e o efeito do tratamento em fêmeas (FIGURA 36). IL-1 $\beta$  (DC vs HSB  $p = 0,7617$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,9890$ ), TNF- $\alpha$  (DC vs HSB  $p = 0,8060$ ); (HSB vs HSB  $p > 0,9999$ ), MCP-1 (DC vs HSB  $p = 0,9994$ ); (HSB vs HSB  $p = 0,9744$ ). Nesse momento, nossos dados indicam que a dieta HSB promove disfunção glomerular e tubular associada ao desenvolvimento de proteinúria de origem tubular em machos. Esse efeito cursa com o desenvolvimento de lesão túbulo-intersticial e inflamação renal. Neste contexto, a inibição de SGLT2 via tratamento com DAPA promove efeito renoprotetor em todos os parâmetros analisados. Entretanto, o mecanismo proposto ainda precisa ser elucidado.



**Figura 35** - Citocinas inflamatórias no tecido renal de machos. (A) qRT-PCR de IL-1 $\beta$  (B) TNF- $\alpha$  (C) MCP-1 \*\*\*\* $p < 0,0001$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias,  $n = 7,4$ /grupo. # $p < 0,05$  ##### $p < 0,0001$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias,  $n = 4,3$ /grupo.

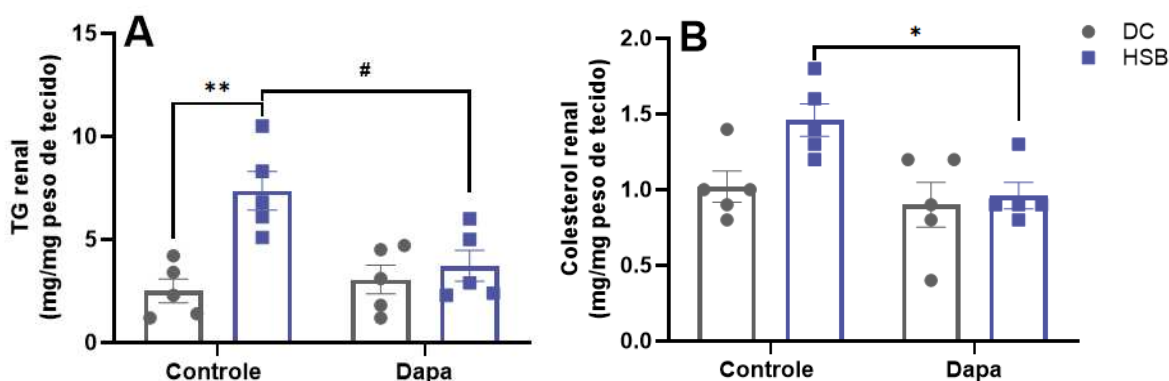


**Figura 36** - Citocinas inflamatórias no tecido renal de fêmeas. (A) qRT-PCR de IL-1 $\beta$  (B) TNF- $\alpha$  (C) MCP-1 n=6,5,4/grupo.

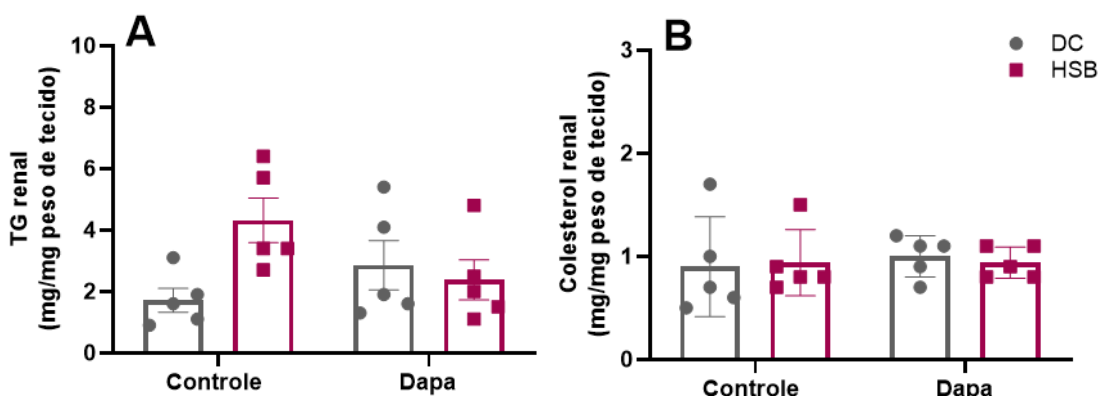
#### 4.13 HSB causa acúmulo de triglicerídeos no rim em machos e DAPA é capaz de reduzir o acúmulo

Sabendo que o aumento do conteúdo intracelular lipídico é um dos achados de lesão renal na obesidade (BOBULESCU, 2010; GAI et al., 2019) e diferentes trabalhos mostram o efeito da lipotoxicidade sobre as células epiteliais tubulares (WANG; ZHANG; GUO, 2021), foi realizada a extração de lipídeos do tecido renal para examinar o conteúdo de triglicerídeos (TG) e colesterol no rim de acordo como detalhado na seção de Materiais e Métodos.

Em machos, observamos que a dieta HSB levou ao acúmulo de TG (DC+veículo vs HSB+veículo  $p = 0,001$ ) mas não de colesterol no tecido renal (DC+veículo vs HSB+veículo  $p = 0,06$ ), apesar da tendência de aumento. O tratamento com DAPA foi capaz de reduzir o acúmulo de TG (HSB+veículo vs HSB+DAPA  $p = 0,01$ ) e colesterol (HSB+veículo vs HSB+DAPA,  $p = 0,03$ ) no rim dos animais que consumiram a dieta HSB (FIGURA 37). Por outro lado, não houve alterações significativas nos níveis renais de TG e colesterol entre os diferentes grupos experimentais em camundongos fêmeas (FIGURA 38).



**Figura 37** - HSB induz aumento de triglicerídeos no rim em machos. (A) Quantidade de triglicerídeos e (B) Colesterol total no rim relativo ao peso renal usado na extração. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  DC vs HSB (efeito da dieta) como indicado pelo ANOVA de duas vias,  $n = 5$ /grupo. # $p < 0,05$  HSB vs HSB (efeito do tratamento) como indicado pelo ANOVA de duas vias,  $n = 5$ /grupo.



**Figura 38** - HSB não induz aumento de triglicerídeos no rim em fêmeas. (A) Quantidade de triglicerídeos e (B) Colesterol total no rim relativo ao peso renal usado na extração,  $n = 5$ /grupo.

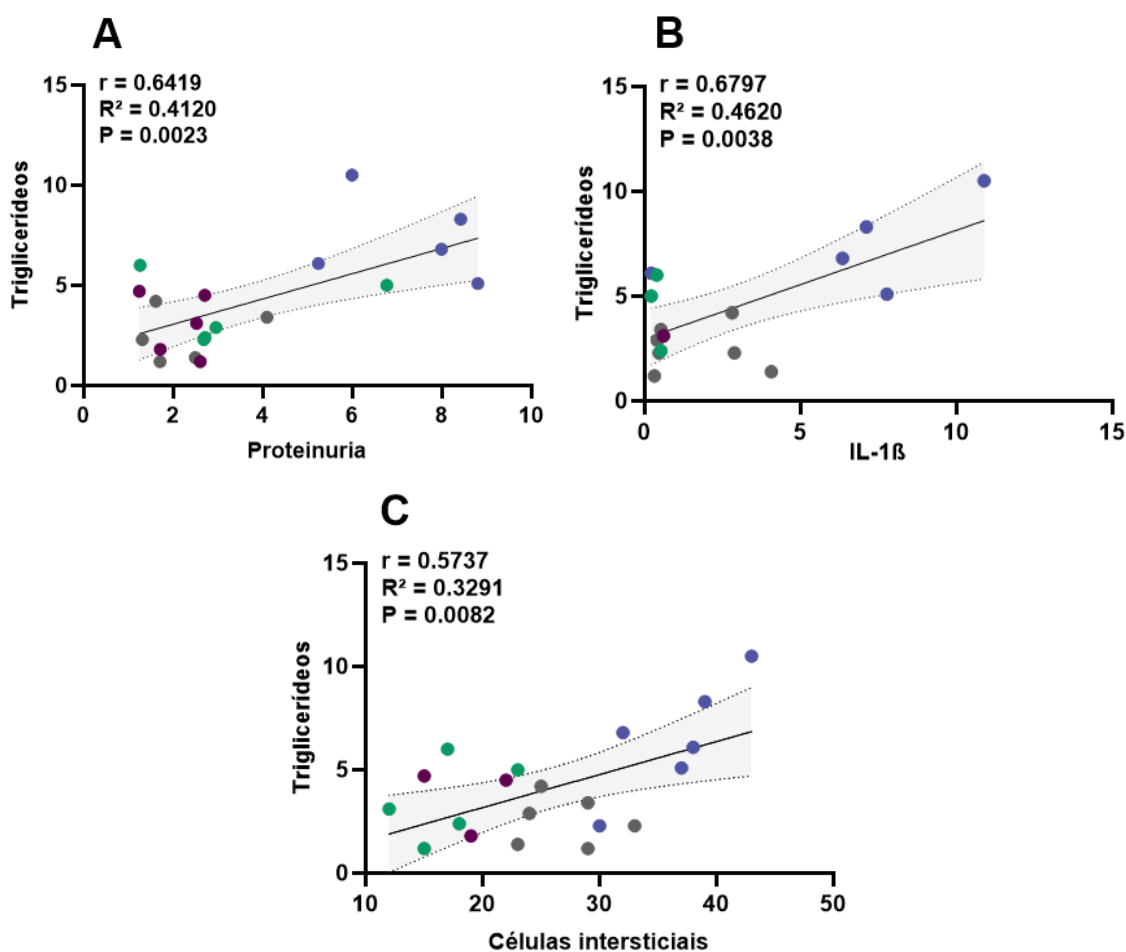
#### 4.14 Efeito da lipotoxicidade na inflamação e proteinúria

A análise da acumulação de lipídios nos rins, especificamente TGs, tem ganhado atenção crescente devido à sua associação com a disfunção renal e doenças metabólicas. Para explorar essa relação, foi realizado o *re-plot* dos dados em gráficos de correlação com base nos níveis de TGs nos rins, permitindo uma visualização clara de como o acúmulo desses lipídios podem estar associados a outros parâmetros renais e sistêmicos. Este gráfico permite identificar associações significativas entre os níveis de TGs renais e outras variáveis.

Encontramos uma correlação positiva significativa entre o aumento dos triglicerídeos nos rins com proteinúria ( $r = 0,6419$ ;  $R^2 = 0,4120$ ;  $p = 0,0023$ ), aumento de IL-1 $\beta$  ( $r = 0,6797$ ;  $R^2 = 0,4620$ ;  $p = 0,0038$ ) e células intersticiais ( $r = 0,5737$ ;  $R^2 = 0,3291$ ;  $p = 0,0082$ ), em

machos que consumiram a dieta HSB (FIGURA 39). O aumento de triglicerídeos nos rins está fortemente associado à proteinúria, servindo como um marcador precoce de dano renal. Além disso, uma correlação positiva foi identificada entre os TGs renais e citocinas inflamatórias, sugerindo que o acúmulo de lipídios pode exacerbar a inflamação, contribuindo para a progressão da doença renal. A correlação entre o aumento de TGs nos rins e as alterações histológicas foi evidente, com níveis mais altos de lipídios associados a um maior número de células intersticiais nos rins.

Uma vez que em todo nosso estudo observamos que as alterações estavam presentes predominantemente em machos, essa análise específica em fêmeas não foi conduzida. A decisão de não realizar essa análise em fêmeas foi baseada na ausência de alterações significativas observadas nos parâmetros bioquímicos e histológicos.



**Figura 39** - Correlação positiva de Pearson em machos. (A) Correlação de Pearson entre triglicerídeos e proteinúria em machos. (B) Correlação de Pearson entre triglicerídeos e IL-1 $\beta$  em machos. (C) Correlação de Pearson entre triglicerídeos e células intersticiais em machos.

## 5. DISCUSSÃO

A obesidade é uma condição de saúde caracterizada pelo excesso de gordura corporal e está associada ao maior risco de desenvolver DRC. A relação entre obesidade e doença renal é complexa e multifatorial, envolvendo alterações hemodinâmicas, metabólicas e inflamatórias, e o mecanismo completo ainda não é conhecido. Considerando as consequências do consumo crônico de uma dieta rica em açúcar e gordura nos rins, nós investigamos, em modelo animal, as consequências renais deste consumo e a influência do sexo sob essas alterações, e o possível efeito protetor do medicamento Dapagliflozina. Com isso, nosso objetivo foi avaliar as possíveis alterações sobre a morfologia e função renal em modelo experimental de obesidade (machos e fêmeas) induzida pela ingestão crônica de dieta hiperpalatável, assim como o impacto da inibição de SGLT2 nesse processo. Então, comparamos animais C57Bl/6 que consumiram DC e HSB. Em ambos os sexos, a HSB leva à ao aumento de peso corpóreo e de adiposidade, mas apenas em machos foi possível observar alterações metabólicas induzidas pela obesidade, como o aumento da glicemia em jejum e tolerância à glicose prejudicada. Associado a isso, apenas em machos foi visto alterações morfológicas e bioquímicas renais, indicando que o fenótipo de obesidade e as alterações metabólicas desencadeadas pela dieta levaram ao comprometimento dos rins de machos.

O primeiro passo do trabalho foi induzir e caracterizar a obesidade e as alterações metabólicas do modelo escolhido. Embora existam diversos modelos animais de obesidade induzida por dieta (DA SILVA et al., 2020; KANASAKI; KOYA, 2011), no nosso estudo utilizamos o modelo de obesidade induzida por dieta rica em açúcar e manteiga (*High sugar and butter diet - HSB*). Nesse modelo, machos e fêmeas apresentaram obesidade, com ganho de peso gradual ao longo das 12 semanas de estudo, sendo possível observar as alterações pelas quais a ingestão de dieta desbalanceada pode afetar diversos órgãos, principalmente os rins. Entre as várias linhagens, os camundongos C57BL/6J são os mais amplamente usados para obesidade induzida por dieta rica em gordura (*High fat diet - HFD*) porque eles exibem anormalidades semelhantes à síndrome metabólica humana (KANASAKI; KOYA, 2011). A dieta HSB contém um conteúdo alto de gordura e carboidratos (fornecendo 84% do total de energia, 48% e 36% respectivamente). Com esse tipo de dieta, um maior ganho de peso é observado poucas semanas após o início da dieta (MAIOLI et al., 2016; MOREIRA-JÚNIOR et al., 2023; RIBEIRO et al., 2023).

Camundongos machos com obesidade induzida por HFD apresentam alterações renais similares a pacientes com DRC e síndrome metabólica (DM2, RI, dislipidemia e hipertensão) (WANG et al., 2018; GLASTRAS et al., 2016; CHENG et al., 2019). Já é

amplamente descrito diferenças de sexo em complicações induzidas pela obesidade, como DM2. Camundongos fêmeas são protegidas contra alterações metabólicas induzidas por HFD e conseqüentemente a danos renais, e a desregulação do metabolismo do estrogênio têm sido associada a essa susceptibilidade. Alguns trabalhos já têm mostrado que a remoção dos ovários em camundongos fêmeas elimina a proteção ao ganho de peso e alterações metabólicas, desenvolvendo um fenótipo igual de camundongos machos e a suplementação com estrogênio restaura essa proteção (STUBBINS et al., 2012; PETTERSSON et al., 2012). Uma vez que a obesidade leva ao desenvolvimento de síndrome metabólica que é fortemente considerado um risco de desenvolvimento de DRC, camundongos fêmeas conseqüentemente também são protegidas do dano renal (ROZA et al., 2016). Fêmeas ovariectomizadas após consumo de HFD apresentam hiperglicemia, RI, e danos renais, evidenciados como glomerulomegalia, hiperfiltração glomerular e aumento da excreção urinária de albumina (RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2021).

Para induzir anormalidades renais, é necessário na maioria dos casos um longo tempo de consumo de dieta HFD, que em geral é visto na literatura entre 12 e 16 semanas (SUN et al., 2020; LUO et al., 2020; CHAN; LIN, 2023). Contudo, estudos presentes na literatura demonstraram que camundongos falham em imitar completamente a progressão da doença humana por não atingirem completamente os níveis de insuficiência renal. Estima-se que 24 a 30 semanas são necessárias para gerar doenças renais em um modelo de camundongo (AZUSHIMA; GURLEY; COFFMAN, 2018) e outros falham em demonstrar mudanças patológicas nos rins independente do tempo de exposição a HFD (CHEFF et al., 2023). Podemos destacar que por se tratar de um modelo que depende do consumo de dieta, as condições experimentais como o ambiente de criação incluindo estresse, temperatura, espaço, podem influenciar nos resultados. Embora o modelo C57Bl/6 apresente falhas, os estudos têm ajudado os pesquisadores a entender a fisiopatologia da doença renal associada a obesidade e DM2.

Neste estudo, como esperado, machos e fêmeas ganharam significativamente mais peso em comparação ao grupo que recebeu a dieta controle. O ganho de peso induzido pela dieta HSB em machos começou a ser observado na 5ª semana e continuou até a 12ª semana. E em fêmeas, o aumento de peso é observado a partir da 6ª semana e também se mantém até a 12ª semana. Este ganho foi associado com o aumento do depósito de todas as gorduras brancas estudadas, em ambos os sexos. Estudos demonstram que a ingestão excessiva de gordura dietética pode levar ao acúmulo de tecido adiposo ao redor dos órgãos abdominais, incluindo as gorduras perirrenais, mesentéricas e epididimais nos machos e perigonadais nas

fêmeas (GLASTRAS et al., 2016; STUBBINS et al., 2012). É importante destacar que o aumento dos depósitos de gordura visceral está intimamente ligado ao desenvolvimento de albuminúria em humanos (TAMBA et al., 2010; HANAI et al., 2010; BOUCHI et al., 2016; FOSTER et al., 201; LIU et al., 2024).

Em relação ao tratamento, não foi encontrada diferença significativa de peso entre os grupos tratados com DAPA e os controles. Em machos, é possível observar que a partir da 8ª semana onde começou o tratamento inicia-se uma queda do peso mas não foi considerada estatisticamente significativa. Essa ausência de diferença pode ser atribuída a fatores como a duração relativamente curta do tratamento ou a dose administrada. Além disso, variações individuais no metabolismo e na resposta ao medicamento podem ter contribuído para esses resultados inesperados. Apesar das expectativas baseadas em pesquisas anteriores que sugeriram a perda de peso como um efeito potencial da DAPA, nossos resultados não corroboraram esses achados (WANG et al., 2018; MA et al., 2019; LIN et al., 2024). Vale destacar que alguns trabalhos também não mostram esse efeito benéfico de DAPA no peso corporal (FUKUSHIMA et al., 2020; CAI et al., 2023). Variações individuais no metabolismo e na resposta ao medicamento podem ter contribuído para esses resultados distintos.

Ademais, o aumento de peso corpóreo em machos não foi associado a hiperfagia. Aqui, verificamos que não houve diferença no consumo médio de ração em gramas por caixa, também não foram observadas mudanças na estimativa de consumo de Kcal em machos comparado ao grupo que consumiu DC. Já em fêmeas, observamos um aumento nos dois parâmetros analisados, o grupo HSB consumiu mais ração ao longo das 12 semanas e conseqüentemente maior quantidade de Kcal foram ingeridas. É importante notar que mesmo não sendo observada diferenças de consumo, machos HSB apresentam aumento de peso e alterações metabólicas mais proeminentes que as fêmeas, sugerindo que a composição da dieta afeta diretamente a fisiologia, independente da quantidade consumida. Em alguns estudos com dieta HFD é comum observar um consumo similar de calorias quando comparado com a DC (STUBBINS et al., 2012; CHOI et al., 2015). A maior densidade energética de dietas ricas em lipídios quando comparada a carboidratos e proteínas é devido à diferença na quantidade de energia fornecida por grama de cada macronutriente. Pequenas quantidades de alimentos ricos em gordura podem fornecer uma quantidade substancial de calorias, contribuindo para uma maior ingestão calórica total (CHOI et al., 2015). O peso corporal é mantido em equilíbrio quando a quantidade de calorias consumidas corresponde ao gasto calórico diário. Choi et al. (2015) mostrou em seu estudo através da calorimetria indireta que camundongos que consumiram HFD tiveram menor gasto energético do que os

camundongos alimentados com DC, sugerindo que o aumento do peso observado é devido ao desequilíbrio no balanço energético. Apesar disso também poder ser verdade em nossos animais, não avaliamos esse parâmetro.

Vale ressaltar que em machos e fêmeas o tratamento com DAPA não alterou o consumo de dieta HSB. Embora a dapagliflozina ajude a eliminar calorias através da glicose excretada, a perda de peso pode não ser sempre significativa, especialmente em condições de alta ingestão calórica proporcionada pela HFD. Alguns estudos indicam que, apesar do tratamento com DAPA, a compensação calórica pelo aumento do consumo alimentar pode ocorrer, neutralizando os efeitos de perda de peso (DEVENNY et al., 2012; JANEŽ; FIORETTO, 2021). Em contrapartida, nossos resultados não mostraram alterações significativas do consumo de ração após o tratamento com DAPA em machos e fêmeas, não houve hiperfagia compensatória. E esse resultado corrobora com outros trabalhos e estudos clínicos onde a perda de peso obtida com a inibição de SGLT2 não foi associada a um aumento significativo na ingestão de alimentos (JANEŽ; FIORETTO, 2021; KOSUGI et al., 2019). A redução de peso corporal durante o tratamento com SGLT2 é considerada modesta, embora ainda sim ofereça benefícios.

Outro resultado que deve ser destacado em relação ao tratamento com DAPA, é a redução dos depósitos de gordura mesentérica e perirenal em machos. Esses tecidos estão localizados ao redor de órgãos importantes e ligados ao desenvolvimento de complicações metabólicas, como RI e inflamação crônica (HAMMOUD et al., 2021; CHAIT; DEN HARTIGH, 2020). Essa redução desses depósitos de gordura é benéfica e pode contribuir para melhorias na saúde metabólica geral e na função renal, reforçando o potencial terapêutico da DAPA além do controle glicêmico. Este estudo é relevante ao demonstrar que a DAPA, por si só, sem a associação com outros medicamentos como a metformina, pode reduzir significativamente os depósitos de gordura perirrenal (CUATRECASAS et al., 2024). Este estudo isolado sobre a DAPA, revela seu potencial exclusivo na mobilização e redução da gordura perirrenal em camundongos machos. Este achado é particularmente relevante, pois a gordura perirrenal está intimamente ligada a disfunções renais e riscos cardiovasculares, indicando que a dapagliflozina pode oferecer benefícios adicionais significativos para a saúde metabólica e a prevenção de complicações renais e cardiovasculares.

Em modelos animais de obesidade induzida por dieta, além do aumento de peso, ocorrem diversas alterações metabólicas significativas. Hiperglicemia, perfil lipídico alterado, inflamação crônica e RI são esperados (GLASTRAS et al., 2016; SUN et al., 2020; MAIOLI et al., 2016). Em nosso trabalho, apesar de o fenótipo de obesidade já ter sido observado em

poucas semanas (5<sup>a</sup> semana em machos e 6<sup>a</sup> semana em fêmeas), avaliamos possíveis alterações metabólicas apenas ao final dos experimentos, na 12<sup>a</sup> semana, antecedendo a eutanásia. Em machos, foi possível observar um aumento da glicemia em jejum do grupo HSB quando comparado ao grupo DC, além disso, observamos também uma tolerância à glicose prejudicada neste modelo, corroborando com os outros estudos da literatura de HFD. Optamos por não realizar o perfil lipídico sérico em machos neste estudo, uma vez que dados anteriores obtidos pelo nosso grupo já demonstraram os efeitos da dieta HSB sobre os níveis lipídicos séricos (RIBEIRO et al., 2023). A dieta HSB causa um aumento significativo nos níveis de colesterol total e triglicerídeos (MAIOLI et al., 2016). Já em fêmeas, analisamos o perfil lipídico uma vez que não é descrito na literatura essas alterações após consumo de dieta HSB. As fêmeas HSB apresentaram aumento nas concentrações de colesterol total no plasma e nos níveis circulantes de triglicerídeos quando comparado ao grupo DC. Vale ressaltar que em estudos com HFD, é demonstrado que os níveis de colesterol e TG em fêmeas são aumentados após o consumo (PETTERSSON et al., 2012; KELEHER et al., 2018). Em nosso estudo, não observamos alterações significativas na glicemia em jejum e na tolerância à glicose em fêmeas submetidas à dieta HSB. Esses achados sugerem que, apesar da dieta rica em açúcar e manteiga, as fêmeas mantiveram uma regulação glicêmica eficiente. Tal resultado pode ser atribuído a diferenças hormonais e metabólicas entre os sexos, que influenciam a resposta ao excesso calórico e ao tipo de dieta (RIANT et al., 2009; LITWAK et al., 2014; BRYZGALOVA et al., 2008). Stubbins et al. (2016) sugere em seu trabalho que camundongos machos são mais suscetíveis à obesidade e à tolerância à glicose prejudicada devido a um aumento na adiposidade abdominal secundária à hipertrofia dos adipócitos. Além disso, o estrogênio tem um papel significativo na alteração de genes que regulam a adipogênese, lipogênese e lipólise e, portanto, pode ser um jogador importante na prevenção da obesidade e suas comorbidades. Estes dados indicam a importância de considerar as diferenças sexuais nas pesquisas sobre obesidade e doenças metabólicas.

Em nosso estudo, o tratamento com DAPA demonstrou uma melhoria significativa nos parâmetros metabólicos em machos submetidos à dieta HSB. DAPA, um inibidor seletivo do SGLT2, promove a excreção de glicose pela urina, reduzindo assim os níveis de glicose no sangue. Nos machos tratados, observamos uma melhora na glicemia de jejum e na tolerância à glicose, indicando uma melhor regulação glicêmica. Esses achados reforçam o potencial terapêutico da dapagliflozina para mitigar os efeitos adversos da obesidade induzida por dieta, especialmente em indivíduos do sexo masculino, que podem ser mais suscetíveis às disfunções metabólicas associadas. Alguns autores também mostram um efeito protetor de

DAPA no perfil lipídico, sendo capaz de diminuir os níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol de animais que consumiram uma dieta rica em gordura (WANG et al., 2018; JAIKUMKAO et al., 2021). Apesar disso também poder ser encontrado nos nossos animais, não avaliamos esse parâmetro. Em contrapartida, nas fêmeas submetidas ao tratamento com DAPA, não foram observadas melhorias significativas nos parâmetros metabólicos avaliados. Apesar do mecanismo de ação da DAPA potencialmente melhorar a regulação glicêmica, as fêmeas não apresentaram mudanças significativas na glicemia de jejum e na tolerância à glicose. É possível que a eficácia da DAPA seja concentração-dependente, e que a concentração utilizada no estudo não tenha sido suficiente para induzir melhorias em um grupo que já apresentava níveis glicêmicos dentro da normalidade. Esses achados sugerem que o impacto da DAPA pode ser mais evidente em situações de hiperglicemia, e que a resposta ao medicamento pode variar dependendo do estado metabólico inicial dos indivíduos.

Ainda há uma escassez de informações na literatura sobre os efeitos da DAPA em fêmeas, especialmente em relação a estudos que envolvem modelos animais de obesidade induzida por dieta. A maior parte das pesquisas sobre a eficácia e os mecanismos de ação da DAPA tem se concentrado em populações masculinas ou mistas, deixando uma lacuna significativa no conhecimento específico sobre as respostas metabólicas em fêmeas. Estudos adicionais são essenciais para elucidar se as diferenças hormonais, metabólicas ou mesmo fatores de dosagem influenciam a eficácia do tratamento com DAPA nas fêmeas. Withaar et al. (2021) mostraram que DAPA melhorou em camundongos fêmeas a sensibilidade à insulina, a tolerância à glicose e reduziu significativamente os níveis de glicose em jejum em comparação aos camundongos não tratados, mas diferentemente do nosso estudo, eles observaram um aumento da glicemia após consumo de HFD. Essa lacuna no conhecimento ressalta a importância de realizar pesquisas mais inclusivas e abrangentes, que considerem as diferenças sexuais, para desenvolver intervenções terapêuticas mais eficazes.

Depois da confirmação de alterações sistêmicas, fomos avaliar qual era o comportamento renal tanto em machos quanto em fêmeas que receberam HSB, além do possível efeito protetor de DAPA nestes grupos. Neste estudo, apenas os camundongos machos desenvolveram uma nefropatia induzida pela obesidade com algumas características já conhecidas em modelo de HFD (proteinúria, acúmulo de lipídios e inflamação renal).

Embora machos e fêmeas HSB não tenham apresentado maior peso renal em valores absolutos, em camundongos machos observamos uma relação peso renal por peso corpóreo diminuída em animais HSB quando comparados ao grupo DC. Esse achado indica que, em

relação ao tamanho total do corpo, os rins dos machos HSB são relativamente menores. Vários fatores podem contribuir para essa redução relativa no peso dos rins. É interessante notar que essa relação peso do rim/peso corporal reduzida em machos sob dieta HSB, corrobora com um estudo que mostra essa relação significativamente diminuída em ratos que consumiram dieta rica em gordura e frutose (THONGNAK et al., 2020). Em geral, dietas ricas em gordura têm sido associadas a um aumento no peso renal em modelos animais, em busca de compensar o ganho de peso e a consequente maior demanda metabólica (WANG et al., 2018; GLASTRAS et al., 2016). Em nosso trabalho não observamos essa hipertrofia renal, em contrapartida, essas diferenças podem ser atribuídas à composição dietética e nos mecanismos metabólicos envolvidos na resposta renal a dietas específicas.

Em fêmeas não encontramos diferenças em nenhuma das análises morfométricas do rim, possivelmente por não apresentarem mudanças metabólicas significativas e consequentemente sem dano renal após consumo de HSB. Estes dados já são similares aos encontrados na literatura, onde fêmeas que consumiram HFD não apresentam hipertrofia renal, mas fêmeas ovariectomizadas sim (SUCEDARAM et al., 2021). Já em relação ao tratamento com DAPA, alguns trabalhos têm mostrado que, apesar da melhora em parâmetros glicêmicos e metabólicos, a dapagliflozina não consegue reduzir de maneira consistente o tamanho aumentado dos rins em modelos de obesidade e diabetes. A hipertrofia renal, frequentemente resultante de uma sobrecarga metabólica e hemodinâmica nos rins, pode ser influenciada por uma gama complexa de fatores que vão além do controle glicêmico (JAIKUMKAO et al., 2021; WANG et al., 2018). E em nosso trabalho também não observamos um efeito benéfico de DAPA em machos e fêmeas em relação a estes parâmetros antropométricos. Em outros estudos, no entanto, é possível observar um efeito benéfico de DAPA na hipertrofia renal desencadeada por HFD (THONGNAK et al., 2020). Essa variação nos achados pode ser atribuída a diferenças nos modelos experimentais, nas condições dos estudos e nas doses administradas.

Em nosso estudo, observamos que, apesar dos machos HSB manterem um consumo de água normal, houve uma diminuição significativa no volume urinário. Este fenômeno pode ser atribuído a várias alterações fisiológicas e metabólicas que influenciam a função renal e a concentração da urina. O presente estudo observa um fenômeno intrigante: a redução do volume urinário acompanhada por um balanço de água diminuído, sem alterações significativas na osmolaridade plasmática e urinária. Este achado sugere mecanismos adaptativos específicos. A redução do volume urinário pode ser interpretada como uma resposta compensatória dos rins. Quando o volume de líquido corporal é reduzido, os rins

aumentam a reabsorção de água nos túbulos renais para manter a osmolaridade plasmática dentro de uma faixa estreita. Essa adaptação preserva a concentração de solutos no sangue enquanto minimiza a perda de água pela urina. Além disso, observamos uma diminuição do fluxo urinário e do *clearance* de creatinina, indicando uma menor taxa de filtração glomerular. Esses achados em conjunto sugerem que os rins estão filtrando menos sangue, resultando em uma menor produção de urina. Um fator que pode estar associado a diminuição do volume urinário é o dano renal, onde a redução da capacidade de filtração e a alteração na função tubular podem contribuir para a retenção de fluidos e diminuição do volume urinário (GILLHAM, 2007). Se os rins forem forçados a economizar água e produzir urina mais concentrada para manter a osmolaridade plasmática, eles podem incorrer em maior demanda metabólica (CLARK et al., 2011; HEBERT et al., 2003).

Em fêmeas, não foram observadas alterações na ingestão de água, no volume urinário ou no balanço hídrico. Isso sugere que a quantidade de água ingerida está sendo excretada de forma consistente (TOBIAS; BALLARD; MOHIUDDIN, 2019). Em contrapartida, diferentemente dos machos, foi observado no grupo HSB uma diminuição da osmolaridade urinária associado a um menor *clearance* osmolar e de água livre, sem mudanças no fluxo urinário e no *clearance* de creatinina. Uma osmolaridade urinária reduzida indica que a urina está mais diluída. Esse fenômeno ocorre quando os rins têm dificuldade em secretar solutos de maneira eficiente para o filtrado urinário. Em condições normais, os rins mantêm a osmolaridade urinária alta ao secretar solutos como sódio, ureia e outros, enquanto reabsorvem água para concentrar a urina (SANDS; LAYTON, 2009). Quando a capacidade de secreção de solutos é comprometida, a urina se torna menos concentrada, resultando em uma osmolaridade urinária reduzida. E o *clearance* de água livre reduzido também aponta para uma redução na habilidade dos rins de excretar água livre de solutos. Esses dados apontam para uma maior retenção de água e soluto no corpo. Apesar de não ter sido avaliado neste trabalho, alguns estudos têm demonstrado que dietas ricas em gorduras podem levar à hiperinsulinemia e RI (SUN et al., 2020), condições que estão associadas com retenção de sódio e água pelos rins (DA SILVA et al., 2020; HORITA et al., 2011).

Em machos, observamos um restabelecimento do volume urinário e do balanço de água em animais HSB após receberem o tratamento com DAPA. O uso da droga promoveu um aumento na produção de urina. Isso ocorre porque a dapagliflozina aumenta a quantidade de glicose e sódio que é excretada pelos rins, o que, por sua vez, promove uma maior diurese. Esse efeito diurético pode ajudar a corrigir desequilíbrios no volume urinário que foram alterados devido a outras condições, como sobrecarga de fluidos ou retenção hídrica. Esse

efeito pode ser particularmente benéfico em condições como na insuficiência renal e na hipertensão. Além disso, a capacidade de restabelecer o balanço de água pode melhorar a função renal e reduzir sintomas como edema (HEERSPINK et al., 2016; WANNER et al., 2016; SINGH et al., 2023; JAIKUMKAO et al., 2021).

A função glomerular desempenha um papel essencial na manutenção da homeostase corporal, sendo crucial para a filtração do sangue e a excreção de resíduos metabólicos (HALL, 2011). A avaliação da função glomerular é, portanto, um componente fundamental na prática clínica para o diagnóstico e monitoramento de doenças renais (INKER; TITAN, 2021). Os principais marcadores utilizados na avaliação da função glomerular incluem a creatinina sérica, uréia plasmática e o *clearance* de creatinina (GOUNDEN; BHATT; JIALAL, 2018). Em machos, foi possível observar neste estudo que o consumo da dieta HSB levou à uma diminuição do *clearance* de creatinina, sem mudanças nas concentrações plasmáticas e urinárias dessa substância e também sem mudanças na ureia plasmática. A redução do *clearance* de creatinina sugere uma diminuição na TFG, que está associada a muitas consequências fisiológicas e clínicas, incluindo complicações bioquímicas e sintomas urêmicos (INKER; TITAN, 2021). Se a creatinina plasmática ainda estiver normal, isso pode ocorrer em estágios iniciais de doença renal, quando a função renal está comprometida, mas o corpo ainda consegue manter níveis normais de creatinina no sangue. A creatinina sérica é um indicador tardio de comprometimento renal - a função renal é reduzida em 50% antes que um aumento na creatinina sérica seja observado (GOUNDEN; BHATT; JIALAL, 2018). Além disso, uma diminuição na diurese pode refletir uma diminuição na depuração de creatinina (LEGRAND; PAYEN, 2011), e isso foi observado em nosso trabalho, onde machos HSB apresentaram um volume urinário reduzido.

Os resultados obtidos indicaram que as fêmeas HSB não apresentaram mudanças significativas nos principais marcadores de função glomerular avaliados. A creatinina sérica manteve-se dentro dos valores normais de referência, sugerindo que a capacidade dos rins de filtrar e excretar creatinina permanece intacta. De forma similar, os níveis de uréia plasmática não mostraram variações relevantes, indicando que o metabolismo proteico e a excreção de seus resíduos pelos rins estão funcionando adequadamente. O *clearance* de creatinina também não apresentou reduções significativas. Este resultado sugere que a eficiência dos glomérulos na filtração do sangue em fêmeas permanece consistente, sem evidências de declínio na capacidade filtrante renal.

Os túbulos renais desempenham um papel vital na reabsorção de eletrólitos, água e manutenção do equilíbrio ácido-base. Eletrólitos - sódio, potássio, cloreto, magnésio, fosfato,

bem como glicose podem ser medidos na urina (GOUNDEN; BHATT; JIALAL, 2018). Em nosso estudo, camundongos machos HSB, não apresentaram mudanças significativas no *clearance* e na FE dos eletrólitos, como cloreto, sódio e potássio. Este dado é interessante, pois pode indicar uma resistência inicial dos rins às alterações metabólicas e hemodinâmicas induzidas pela dieta hiperpalatável. DAPA é amplamente utilizado para melhorar o controle glicêmico em pacientes com DM2. Este medicamento atua principalmente nos rins, promovendo a excreção de glicose na urina (TORIMOTO et al., 2017). Em nossos estudos com camundongos machos submetidos à dieta HSB, observamos que o tratamento com DAPA resultou em um aumento significativo no *clearance* e na FE de potássio e de glicose. O *clearance* de glicose é uma medida da eficiência com que os rins conseguem excretar glicose do plasma para a urina. Sob condições normais, a glicose filtrada nos glomérulos é quase completamente reabsorvida nos túbulos proximais, ~97, resultando em uma excreção urinária mínima (KALRA; SINGH; NAGRALE, 2016; VALLON, 2011). No entanto, ao inibir o SGLT2, a dapagliflozina reduz a reabsorção tubular de glicose, aumentando assim a excreção urinária de glicose e o *clearance* de glicose (PADDA; MAHTANI; PARMAR, 2022). A FE de glicose é a proporção da glicose filtrada que é excretada na urina. O tratamento com dapagliflozina impede essa reabsorção eficiente, elevando a FE de glicose. Estes resultados são consistentes com o mecanismo de ação da dapagliflozina, que promove a excreção renal de glicose, ajudando a reduzir os níveis plasmáticos de glicose (TORIMOTO et al., 2017; WANG et al., 2018; FARIAS et al., 2023). Esse aumento na excreção de glicose é uma evidência direta da eficácia do tratamento em alterar a dinâmica renal de glicose em camundongos obesos (LIST; WHALEY, 2011). Este efeito pode ser benéfico para o controle glicêmico e a gestão do peso corporal, além de potencialmente oferecer efeitos cardioprotetores e nefroprotetores ao reduzir a carga de glicose no sangue (JANEŽ; FIORETTO, 2021).

Em fêmeas, os achados do presente estudo mostram que o consumo de HSB não resultou em alterações significativas no *clearance* e na FE de eletrólitos e nos níveis de glicose. Esses resultados sugerem que a função glomerular, a regulação eletrolítica e o metabolismo da glicose permaneceram estáveis, indicando uma capacidade adaptativa dos mecanismos renais e metabólicos frente à dieta HSB. A ausência de mudanças nos níveis de glicose sugere que a dieta HSB não induziu alterações significativas no metabolismo da glicose em fêmeas, corroborando com os dados da literatura, onde as fêmeas apresentam ganho de peso após consumo de dietas ricas em gordura mas não possuem distúrbios metabólicos relacionados à glicemia e insulina (PETTERSSON et al., 2012).

A manipulação renal de proteínas envolve várias funções dos rins, principalmente filtração e reabsorção tubular. A reabsorção de proteínas ocorre nos túbulos contorcidos proximais. Essa reabsorção nos túbulos contorcidos proximais tem um transporte máximo que, quando atingido, podemos observar a presença de proteína na urina (HAIDER; ASLAM, 2023). Diante disso, avaliamos no nosso trabalho a presença de proteinúria e alterações plasmáticas de proteínas em machos e fêmeas após consumo crônico de dieta HSB.

Em machos, foi possível observar um aumento na excreção de massa de proteína na urina 24 horas de animais HSB, associado ao aumento do *clearance* e da FE de proteínas. Também houve um aumento da razão entre proteína/creatinina. A creatinina é utilizada como um marcador de referência devido à sua taxa de excreção constante, o que ajuda a corrigir variações no volume urinário. Em contrapartida, não foram observadas mudanças nas concentrações plasmáticas. A proteinúria patológica pode resultar de dois mecanismos principais (ou uma combinação dos dois): (i) permeabilidade excessiva da barreira glomerular para proteína ou (ii) reabsorção prejudicada de proteína no túbulo proximal. Embora haja uma associação muito forte entre proteinúria e doença glomerular, há uma sobreposição considerável com doença não glomerular que também pode causar grande proteinúria e albuminúria (BÖKENKAMP, 2020). Em nosso estudo, não observamos alterações de função glomerular, o que destaca uma função normal na filtração de proteínas, mas evidencia um possível defeito na reabsorção tubular de proteínas de baixo peso molecular. A perda de proteínas de baixo peso molecular, pode ocorrer sem uma alteração significativa nos níveis de outras proteínas plasmáticas. A perda seletiva de proteínas pode ser observada em algumas doenças renais e pode servir como um indicador de doença renal precoce (HAIDER; ASLAM, 2023).

Em fêmeas, diferentemente dos machos, não observamos mudanças significativas na excreção de proteínas e nas suas concentrações plasmáticas. A ausência de aumento na excreção de proteínas sugere que a barreira de filtração glomerular e a reabsorção tubular nas fêmeas manteve sua integridade funcional, mesmo após a intervenção dietética. É importante enfatizar que os resultados deste estudo indicaram que, em fêmeas, não houve mudanças significativas nos níveis de glicose plasmática após o consumo da dieta HSB. Essa estabilidade glicêmica é um achado relevante, considerando os potenciais efeitos da dieta rica em açúcar e gordura sobre o metabolismo da glicose. Estes dados sugerem que a estabilidade glicêmica é crucial para a preservação da função renal, evitando os efeitos deletérios da hiperglicemia crônica, como o aumento da permeabilidade glomerular e a excreção de proteínas (KUMAR et al., 2023; WU et al., 2023). Os achados ressaltam a importância de

considerar as diferenças sexuais na resposta metabólica e renal frente às intervenções dietéticas e contribuem para um entendimento mais aprofundado dos mecanismos de proteção renal em fêmeas.

No presente estudo, observamos que a administração de DAPA resultou em uma diminuição significativa da proteinúria em machos. Uma vez que este medicamento atua bloqueando o SGLT2, observa-se uma redução dos níveis de glicose no sangue, prevenindo a hiperglicemia crônica, que é um fator de risco para danos renais. Além disso, promove uma natriurese (excreção de sódio) leve, o que pode levar a uma redução da pressão arterial intraglomerular (PADDA; MAHTANI; PARMAR, 2022; PROVENZANO et al., 2021). Acredita-se que a diminuição na microalbuminúria mediada por iSGLT2 é consequência da diminuição dos altos níveis de produtos finais de glicação avançada devido à regulação do açúcar no sangue, diminuição do estresse oxidativo e a diminuição na pressão intraglomerular, o que leva à redução do estresse sobre a barreira de filtração glomerular, impedindo a perda de proteínas na urina (ŞAHINER; İNAN, 2022).

A GGT é uma enzima de borda em escova, que está localizada principalmente no túbulo proximal metabolicamente ativo. Devido ao alto peso molecular, a GGT e outras enzimas urinárias não conseguem atravessar a barreira glomerular. Portanto, seu nível urinário é principalmente devido à lesão tubular em vez da glomerular (LIPPI et al., 2018; DIERICKX, 1981). Alguns estudos já têm relatado uma relação entre um aumento da atividade da enzima LDH e doença renal, principalmente a DRD. Além disso, níveis elevados de LDH foram associados à microalbuminúria e a um risco aumentado de DRET. LDH tem um valor potencial considerável na triagem de doença renal, e na detecção de lesão renal secundária à hipertensão, diabetes mellitus e artrite reumatoide (TANG et al., 2024).

Diante disso, no presente estudo, os níveis de GGT e LDH na urina foram medidos para avaliar a extensão da lesão renal. Em machos, foi possível observar que nos animais HSB houve um aumento da atividade das enzimas GGT e LDH na urina 24 horas, sugerindo lesão tubular renal e necrose celular. Também foi possível observar um aumento da razão entre esses marcadores com a creatinina, destacando a gravidade do dano renal induzido e a necessidade de intervenções terapêuticas para prevenir a progressão da lesão renal. Farias et al. (2023), mostraram em seu trabalho um aumento da atividade de GGT e LDH na urina de ratos em estágio inicial da DRD, induzida por STZ. Esses resultados também corroboram com os nossos achados anteriores, onde foi observado proteinúria possivelmente de origem tubular. Em contrapartida, em fêmeas não foi observado nenhuma alteração significativa

nestes marcadores avaliados. Essas alterações indicam uma susceptibilidade maior dos machos a danos renais induzidos pela dieta, comparativamente às fêmeas.

A dapagliflozina mostrou-se eficaz na redução dos níveis de LDH e GGT urinários em machos, sugerindo uma proteção significativa contra a lesão renal. Já é descrito na literatura um efeito dos iSGLT2 em reduzir os níveis de enzimas hepáticas em humanos, incluindo alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), além de GGT (SHAO et al., 2020; LEITER et al., 2016). Dado que a GGT também é expressa nos túbulos renais, a redução da GGT hepática pela dapagliflozina pode refletir efeitos sistêmicos que beneficiam também a função renal. Pode-se também dizer que a GGT, que aumenta em caso de inflamação, regride devido ao efeito anti-inflamatório do iSGLT2 (ŞAHINER; İNAN, 2022).

Os túbulos proximais dos rins são particularmente vulneráveis ao estresse oxidativo, inflamação e apoptose celular, levando a uma liberação aumentada de LDH. DAPA demonstra efeitos significativos na redução dos níveis de LDH urinária através da redução de hiperglicemia, que alivia o estresse glicêmico sobre as células epiteliais dos túbulos proximais, resultando em menor necrose celular. Diminui a geração de ROS, protegendo as células dos túbulos proximais contra o dano oxidativo e, diminui as citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a proteção celular e consequente diminuição de LDH. Estes efeitos combinados protegem as células dos túbulos proximais contra a necrose e a lesão (ELEFTHERIADIS et al., 2020).

Em nosso estudo, fêmeas que receberam dieta HSB também não apresentaram mudanças significativas na excreção de GGT e LDH, indicando que 12 semanas não foi suficiente para causar um dano tubular significativo, corroborando com os demais dados anteriores apresentados.

A análise histológica dos rins é fundamental na avaliação da estrutura e função renal, permitindo a detecção de alterações morfológicas associadas a condições patológicas. Comprometimento na função renal pode resultar em alterações histológicas, fornecendo informações sobre a gravidade e a natureza da lesão renal. A análise histológica revelou lesão renal grave em machos alimentados por 12 semanas com dieta HSB. Conforme mostrado na Figura 31, a coloração PAS demonstrou lesão tubular notável em camundongos alimentados com HSB. A área tubular de camundongos alimentados com HSB, especialmente o túbulo contorcido proximal, mostrou grave vacuolização. A análise quantitativa mostrou ausência de alterações glomerulares, juntamente com a diminuição das células tubulares e o aumento das células intersticiais, fornecendo informações importantes sobre o tipo e a localização do dano

renal. A redução no número de células tubulares é um indicativo de dano tubular renal, podendo ser causada por necrose ou apoptose desencadeado por alterações metabólicas (ZHANG et al., 2020; LI et al., 2017), e o aumento de células intersticiais é frequentemente associado a processos inflamatórios e fibrogênicos (CASTROP, 2019; EDDY, 1996), corroborando com os resultados de aumento de LDH e GGT em machos HSB, descrito anteriormente.

Sun et al. (2020), mostraram alterações histológicas tubulares em camundongos machos após consumo de dieta HFD durante 16 semanas. Os autores identificaram a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativos como eventos patogênicos chave no desenvolvimento de lesão renal. Outros trabalhos demonstram alterações histológicas glomerulares após consumo crônico de dieta HFD, caracterizadas como glomeruloesclerose e expansão da matriz mesangial (GLASTRAS et al., 2016; WANG et al., 2018). Vale ressaltar que os efeitos de dietas específicas na função renal frequentemente revelam variações nas alterações estruturais observadas, com alguns trabalhos demonstrando predominância de lesões tubulares enquanto outros destacam alterações glomerulares. Essas diferenças podem estar relacionadas ao tipo de dieta administrada e à duração da exposição. Glastras et al. (2016), por exemplo, observaram que o consumo de dieta HFD durante 32 semanas leva a alterações estruturais glomerulares e tubulares, evidenciando dilatação e vacuolização tubular.

Em fêmeas submetidas a dieta HSB, a análise histológica revelou a ausência de alterações estruturais significativas nos rins. Este achado é consistente com os resultados bioquímicos observados anteriormente, sugerindo uma correlação positiva entre as medidas bioquímicas e os achados histológicos. A arquitetura dos glomérulos permaneceu preservada, os túbulos renais mostraram uma estrutura normal, sem sinais de vacuolização e perda de células tubulares. Mais uma vez em nosso estudo observamos que a preservação estrutural e funcional pode refletir diferenças sexuais na resposta ao tratamento ou dieta, com fêmeas mostrando uma resistência maior a lesões renais comparadas aos machos, apontando um papel hormonal importante (RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2021).

Em mais uma análise, foi observado o efeito protetor da dapagliflozina nas alterações estruturais dos rins de machos HSB, corroborando suas propriedades renoprotetoras. Machos HSB tratados com dapagliflozina apresentaram uma redução significativa na vacuolização, o que é um indicador visual importante de melhora na integridade estrutural renal. Além disso, após a quantificação foi possível considerar uma regeneração das células tubulares em animais tratados, associado a uma diminuição das células intersticiais, indicando um efeito protetor de DAPA sobre a fibrose, inflamação e

estresse oxidativo induzido pela dieta HSB. Shibusawa et al. (2019) já demonstraram em seu estudo que dapagliflozina regula a apoptose mediada por estresse do retículo endoplasmático (RE) modulando o influxo de glicose nas células tubulares renais, regulando assim as condições metabólicas que causam estresse do RE nas células. Outros estudos já mostraram um efeito benéfico de DAPA nas alterações estruturais renais induzidas por dieta HFD. Em ratos alimentados com HFD tratados com DAPA, a estrutura geral do rim foi resgatada e as áreas glomerulares positivas coradas com PAS foram significativamente diminuídas (JAIKUMKAO et al., 2021), associada à uma diminuição da albuminúria (WANG et al., 2018).

O alto consumo de gordura na dieta contribui para a obesidade, que induz um estado permanente de inflamação por meio da geração de tecido adiposo branco que secreta adipocinas e citocinas pró-inflamatórias, como TNF $\alpha$ , IL-6 e MCP-1 (LEE; SHIN; CHOUE, 2010; CATA-PRETA et al., 2012). Vários estudos indicaram que o alto consumo de gordura causa superprodução de ácidos graxos livres circulantes e inflamação sistêmica (TAN; NORHAIZAN, 2019). A obesidade gera um impacto geral em vários órgãos e tecidos (URANGA; KELLER, 2019). A inflamação crônica, estresse oxidativo, hipóxia, senescência e disfunção mitocondrial são fatores críticos na patogênese de várias doenças metabólicas e renais (STENVINKEL et al., 2021). Citocinas são proteínas pequenas que desempenham papel essencial na comunicação celular, regulando a resposta imunológica e inflamatória (VIDAL et al., 2013). Entre as citocinas inflamatórias mais estudadas estão, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  (HIRANO, 2021). Estas citocinas são produzidas principalmente por macrófagos e células dendríticas em resposta a estímulos patogênicos e metabólicos (ARANGO DUQUE; DESCOTEAUX, 2014).

O tecido adiposo perirenal (TAPR), localizado ao redor dos rins, desempenha um papel importante na proteção e suporte dos órgãos renais. No entanto, o acúmulo excessivo desse tecido pode ter implicações negativas para a saúde renal, contribuindo para a disfunção metabólica e inflamação local (GRIGORAS et al., 2021). Quando comparado a outros tecidos adiposos viscerais típicos, o TAPR é mais ativo no metabolismo energético, síntese e secreção de várias adipocinas e citocinas inflamatórias. O TAPR manifesta um fenótipo imunorregulador em resposta a várias citocinas inflamatórias como IL-1 $\beta$ , interferon (IFN) e TNF- $\alpha$  (HAMMOUD et al., 2021). Durante nosso estudo, foi observado um aumento significativo no TAPR, especialmente em machos HSB. O excesso de TAPR pode facilitar a lipotoxicidade, onde os lipídios acumulados causam dano celular nos rins GRIGORAS et al.,

2021). Então para determinar se a dieta HSB induziu inflamação renal e se DAPA poderia atenuar essa inflamação, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , MCP-1 foram medidos.

Em machos, observamos um aumento significativo de RNAm de IL-1 $\beta$  no tecido renal do grupo que consumiu a dieta HSB, enquanto os níveis de TNF- $\alpha$  e MCP-1 permaneceram inalterados. Já é descrito na literatura que citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e MCP-1, estão envolvidas no desenvolvimento de doenças renais (LIN; HSU, 2020). O aumento de IL-1 $\beta$  sem mudanças concomitantes em TNF- $\alpha$  e MCP-1 sugere um perfil inflamatório específico, possivelmente direcionado por mecanismos alternativos de inflamação nos rins.

Esse perfil inflamatório pode indicar que, em resposta à dieta HSB, os rins de machos sofrem um tipo específico de inflamação, que não envolve todos os mediadores inflamatórios clássicos. A ausência de mudanças nos níveis de TNF- $\alpha$  e MCP-1 observada no estudo pode ser explicada pela interdependência desses dois mediadores inflamatórios. Como o TNF- $\alpha$  é um estímulo primário para a expressão de MCP-1, a falta de aumento de TNF- $\alpha$  pode ter impedido a elevação de MCP-1 nos rins (LIN; HSU, 2020). Isso sugere que, embora o aumento de IL-1 $\beta$  tenha sido observado, a via inflamatória específica mediada por TNF- $\alpha$  e MCP-1 não foi predominantemente ativada, resultando em um perfil inflamatório diferente do esperado.

Diferentemente dos nossos resultados, Wang et al. (2018) em seu trabalho mostraram que camundongos submetidos a dieta ocidental durante 26 semanas apresentaram um perfil inflamatório significativo relacionado ao aumento de TNF- $\alpha$ , MCP-1 e IL-1 $\beta$ . Devemos destacar, que na literatura científica, os estudos sobre a expressão de citocinas inflamatórias em resposta a dietas ricas em gorduras e/ou açúcares, como a dieta HSB, apresentam resultados variados. Enquanto alguns estudos relatam um aumento generalizado de várias citocinas inflamatórias, outros mostram alterações mais específicas, dependendo da dieta utilizada e da duração da exposição (WANG et al., 2018; SUCEDARAM et al., 2021; SUN et al., 2020).

Fibrose renal e inflamação são características marcantes das doenças renais. Várias citocinas contribuem para a progressão das doenças renais; portanto, muitos medicamentos que atuam em citocinas são estudados para a melhora da doença (LIN; HSU, 2020). Diante disso, buscamos avaliar se DAPA seria capaz de atenuar a inflamação em camundongos que consumiram dieta HSB. Em machos, IL-1 $\beta$  foi significativamente reduzido no grupo que consumiu a dieta HSB e recebeu o tratamento com DAPA. Além disso, mesmo sem observar

mudanças de MCP-1 no grupo HSB comparando com o grupo DC, o tratamento com DAPA foi capaz de regular negativamente os níveis de RNAm desta citocina no grupo HSB, mostrando um efeito benéfico na inflamação.

Cai et al. (2023) em seu estudo mostrou que a dapagliflozina atenuou a inflamação renal em camundongos diabéticos, regulando negativamente uma variedade de citocinas inflamatórias, incluindo TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CD30L, IL-3, IL-15 e CXCL13. Eles demonstraram que altas concentrações de glicose induziram moléculas inflamatórias em células tubulares proximais renais e macrófagos, o que poderia ser aliviado pelo tratamento com dapagliflozina independente das concentrações de glicose, sugerindo um mecanismo pelo qual os iSGLT2 agem. Além disso, DAPA pode aumentar a utilização de gordura e o escurecimento do tecido adiposo e melhorar o estresse oxidativo local, inibindo assim o acúmulo de gordura (HAN et al., 2021). O efeito benéfico em reduzir as citocinas inflamatórias no tecido renal pode estar relacionado a diminuição dos tecidos adiposos viscerais, como o TAPR. Em nosso estudo, observamos um efeito positivo de DAPA em diminuir a adiposidade.

Em fêmeas HSB, não observamos aumento significativo nas citocinas inflamatórias. Este achado é consistente com os resultados bioquímicos e histológicos, que também não mostraram alterações significativas, indicando uma preservação da integridade renal mesmo diante do ganho de peso e adiposidade. A ausência de elevações em citocinas inflamatórias como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , e MCP-1 reflete uma resposta inflamatória atenuada, corroborando com a manutenção da homeostase renal. Da mesma forma, a análise histológica dos rins não revelou alterações estruturais significativas nas fêmeas, como vacuolização ou dano celular. A integridade glomerular e tubular foi preservada, o que está em linha com a ausência de marcadores inflamatórios elevados.

Uma das descobertas mais reveladoras deste estudo foi o acúmulo de lipídios, particularmente triglicerídeos, nos rins, evidenciado ao final do experimento. Em machos, foi possível observar um aumento significativo de triglicerídeos no tecido renal do grupo HSB. O acúmulo lipídico ectópico no rim promove respostas mal-adaptativas das células renais às forças mecânicas da hiperfiltração, levando à depleção de podócitos, proteinúria e fibrose intersticial (D'AGATI et al., 2016). Este acúmulo sugere um papel crucial da lipotoxicidade no desenvolvimento de disfunção renal. A lipotoxicidade, caracterizada pelo acúmulo excessivo de lipídios em células não adiposas (DUMESIC et al., 2020), pode levar à disfunção celular e à indução de estresse oxidativo e inflamatório, mesmo que de forma subclínica (MANN; SUNDARESAN; SHISHODIA, 2024).

Foi observado um efeito positivo de DAPA no acúmulo de triglicerídeos no rim de machos HSB. Esse efeito pode ser atribuído à capacidade da dapagliflozina de promover melhorias metabólicas adaptativas envolvendo fluxos de glicose, respostas hormonais e mudança de combustível (HAN et al., 2021), além de sua função primária de reduzir a reabsorção de glicose nos túbulos renais. Em experimentos com animais, DAPA diminuiu significativamente o acúmulo de gordura ectópica, a inflamação e o estresse oxidativo no rim de camundongos alimentados com uma dieta ocidental (WANG et al., 2018). Além disso, em pacientes com DM2, terapia com iSGLT2 reduz a deposição de gordura ectópica e melhora a função do tecido adiposo e a qualidade de vida relacionada ao peso, no entanto, o mecanismo subjacente permanece incerto (SHEU et al., 2020). É mais provável que o potencial terapêutico do iSGLT2 esteja na ativação da lipólise e na redução dos depósitos adiposos viscerais e ectópicos, o que por sua vez promove efeitos metabólicos sistêmicos, contrastando a lipotoxicidade e reduzindo a carga inflamatória (DI VINCENZO et al., 2024).

Em machos, a correlação entre o aumento de lipídios renais e as lesões observadas sugere que a lipotoxicidade pode ser um fator-chave na progressão do dano renal induzido por dietas ricas em gordura e açúcar. Isso ressalta a importância de considerar os efeitos da acumulação lipídica como um mecanismo central na patogênese das lesões renais em ambos os sexos, embora suas manifestações possam diferir. Esses resultados destacam a necessidade de abordagens terapêuticas diferenciadas para prevenir e tratar a lipotoxicidade renal, levando em consideração as diferenças sexuais na resposta à dieta e ao estresse metabólico.

## 6. CONCLUSÃO

Ao longo da pesquisa, identificamos um padrão distinto de respostas em machos, revelando uma complexa interação entre dieta, ganho de peso e função renal. Em fêmeas, observamos que, apesar do ganho de peso, não houve alterações significativas. A ausência de alterações histológicas significativas, como danos glomerulares ou tubulares, e a falta de aumento nas citocinas inflamatórias reforçam a preservação da integridade renal nas fêmeas submetidas à dieta HSB. Por outro lado, em machos, a dieta HSB induziu uma série de mudanças negativas, incluindo aumento de citocinas inflamatórias e danos estruturais. Esses achados destacam a susceptibilidade dos machos ao estresse induzido pela dieta, contrastando com a aparente resiliência observada nas fêmeas. E por fim, a dapagliflozina mostrou ser um agente terapêutico eficaz na mitigação dos efeitos adversos de uma dieta HSB em machos, evidenciando sua capacidade de reduzir a inflamação, proteger a estrutura renal e preservar a função renal. Esses resultados destacam a potencial aplicação da dapagliflozina não apenas no controle da glicemia, mas também como uma estratégia para prevenir e tratar a disfunção renal associada a dietas ricas em gorduras e açúcares.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABDALLA, M. A. Anatomical features in the kidney involved in water conservation through urine concentration in dromedaries (*Camelus dromedarius*). *Heliyon*, v. 6, n. 1, 2020. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e03139.
- ABDUL-GHANI, Muhammad A.; NORTON, Luke; DEFRONZO, Ralph A. Renal sodium-glucose cotransporter inhibition in the management of type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, v. 309, n. 11, p. F889-F900, 2015. doi: 10.1152/ajprenal.00267.2015.
- ABDUL-GHANI, Muhammad A.; NORTON, Luke; DEFRONZO, Ralph A. Role of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT 2) inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Endocrine reviews*, v. 32, n. 4, p. 515-531, 2011. doi: 10.1210/er.2010-0029.
- ALGHAMDI, Tamadher A. et al. Janus kinase 2 regulates transcription factor EB expression and autophagy completion in glomerular podocytes. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 28, n. 9, p. 2641-2653, 2017. doi: 10.1681/ASN.2016111208.
- AMMIRATI, Adriano Luiz. Chronic kidney disease. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 66, n. Suppl 1, p. s03-s09, 2020. doi: 10.1590/1806-9282.66.S1.3.
- AMORIM, Rayne Gomes et al. Doença renal do diabetes: cross-linking entre hiperglicemia, desequilíbrio redox e inflamação. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 112, p. 577-587, 2019. doi: 10.5935/abc.20190077.
- ANDERS, Hans-Joachim et al. Glomerulonephritis: immunopathogenesis and immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, v. 23, n. 7, p. 453-471, 2023. doi: 10.1038/s41577-022-00816-y.
- ANITHA, Anuba Paulvarnan et al. An exploration of the experience of dapagliflozin in clinical practice. *Future Science OA*, v. 8, n. 8, p. FSO816, 2022. doi: 10.2144/fsoa-2022-0038.
- ARANGO DUQUE, Guillermo; DESCOTEAUX, Albert. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Frontiers in immunology*, v. 5, p. 491, 2014. doi: 10.3389/fimmu.2014.00491.
- ARIF, Ehtesham; NIHALANI, Deepak. Glomerular filtration barrier assembly: an insight. *Postdoc journal: a journal of postdoctoral research and postdoctoral affairs*, v. 1, n. 4, p. 33, 2013.
- ASANUMA, Katsuhiko et al. The role of podocytes in proteinuria. *Nephrology*, v. 12, p. S15-S20, 2007. doi: 10.1111/j.1440-1797.2007.00876.x.

ASANUMA, Katsuhiko; MUNDEL, Peter. The role of podocytes in glomerular pathobiology. *Journal of Clinical and Experimental Nephrology*, v. 7, p. 255-259, 2003. doi: 10.1007/s10157-003-0259-6.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. Diretrizes brasileiras de obesidade. 4. ed. São Paulo: ABESO, 2016.

AZUSHIMA, Kengo; GURLEY, Susan B.; COFFMAN, Thomas M. Modelling diabetic nephropathy in mice. *Nature Reviews Nephrology*, v. 14, n. 1, p. 48-56, 2018. doi: 10.1038/nrneph.2017.142.

BARUTTA, Federica; BELLINI, Stefania; GRUDEN, Gabriella. Mechanisms of podocyte injury and implications for diabetic nephropathy. *Clinical Science*, v. 136, n. 7, p. 493-520, 2022. doi: 10.1042/CS20210625.

BELOSLUDTSEV, Konstantin N. et al. Chronic treatment with dapagliflozin protects against mitochondrial dysfunction in the liver of C57BL/6NCrl mice with high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Mitochondrion*, v. 59, p. 246-254, 2021. doi: 10.1016/j.mito.2021.06.008.

BioRender (2020). Kidney Reabsorption and Secretion. <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/all/t-5ed97d2cbd5bcf00adc11fb3-kidney-reabsorption-and-secretion>.

BIRN, Henrik; CHRISTENSEN, E. I. Renal albumin absorption in physiology and pathology. *Kidney international*, v. 69, n. 3, p. 440-449, 2006. doi: 10.1038/sj.ki.5000141.

BLONDE, Lawrence et al. Gaps and barriers in the control of blood glucose in people with type 2 diabetes. *Diabetes and Vascular Disease Research*, v. 14, n. 3, p. 172-183, 2017. doi: 10.1177/1479164116679775.

BOBULESCU, Ion Alexandru. Renal lipid metabolism and lipotoxicity. *Current opinion in nephrology and hypertension*, v. 19, n. 4, p. 393-402, 2010. doi: 10.1097/MNH.0b013e32833aa4ac.

BÖKENKAMP, Arend. Proteinuria—take a closer look!. *Pediatric Nephrology*, v. 35, n. 4, p. 533-541, 2020. doi: 10.1007/s00467-019-04454-w.

BONNER, Yan et al. Diabetic kidney disease. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, v. 47, n. 4, p. 645-659, 2020. doi: 10.1016/j.pop.2020.08.004.

BÖRGESON, Emma; SHARMA, Kumar. Obesity, immunomodulation and chronic kidney disease. *Current opinion in pharmacology*, v. 13, n. 4, p. 618-624, 2013. doi: 10.1016/j.coph.2013.05.011.

BOUCHI, Ryotaro et al. Reduction of visceral fat by liraglutide is associated with ameliorations of hepatic steatosis, albuminuria, and micro-inflammation in type 2 diabetic

patients with insulin treatment: a randomized control trial. *Endocrine journal*, v. 64, n. 3, p. 269-281, 2017. doi: 10.1507/endocrj.EJ16-0449.

BRYZGALOVA, Galyna et al. Mechanisms of antidiabetogenic and body weight-lowering effects of estrogen in high-fat diet-fed mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 295, n. 4, p. E904-E912, 2008. doi: 10.1152/ajpendo.90248.2008.

CAI, Anxiang et al. Dapagliflozin alleviates renal inflammation and protects against diabetic kidney diseases, both dependent and independent of blood glucose levels. *Frontiers in Immunology*, v. 14, p. 1205834, 2023. doi: 10.3389/fimmu.2023.1205834.

CASTROP, H.; SCHIEBL, I. M. Novel routes of albumin passage across the glomerular filtration barrier. *Acta Physiologica*, v. 219, n. 3, p. 546-555, 2017. doi: 10.1111/apha.12760.

CASTROP, Hayo. The role of renal interstitial cells in proximal tubular regeneration. *Nephron*, v. 141, n. 4, p. 265-272, 2019. doi: 10.1159/000496278.

CATTA-PRETA, Mariana et al. Modulation of cytokines, resistin, and distribution of adipose tissue in C57BL/6 mice by different high-fat diets. *Nutrition*, v. 28, n. 2, p. 212-219, 2012. doi: 10.1016/j.nut.2011.05.011.

CHAIT, Alan; DEN HARTIGH, Laura J. Adipose tissue distribution, inflammation and its metabolic consequences, including diabetes and cardiovascular disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*, v. 7, p. 522637, 2020. doi: 10.3389/fcvm.2020.00022.

CHAN, Chun-Wai; LIN, Bi-Fong. Folate Deficiency Enhanced Inflammation and Exacerbated Renal Fibrosis in High-Fat High-Fructose Diet-Fed Mice. *Nutrients*, v. 15, n. 16, p. 3616, 2023. doi: 10.3390/nu15163616.

CHEFF, Véronique et al. High fat diet is protective against kidney injury in hypertensive-diabetic mice, but leads to liver injury. *PLoS One*, v. 18, n. 2, p. e0281123, 2023. doi: 10.1371/journal.pone.0281123.

CHENG, Kang et al. Resveratrol protects against renal damage via attenuation of inflammation and oxidative stress in high-fat-diet-induced obese mice. *Inflammation*, v. 42, p. 937-945, 2019. doi: 10.1007/s10753-018-0948-7.

CHOI, Myung-Sook et al. High-fat diet decreases energy expenditure and expression of genes controlling lipid metabolism, mitochondrial function and skeletal system development in the adipose tissue, along with increased expression of extracellular matrix remodelling-and inflammation-related genes. *British Journal of Nutrition*, v. 113, n. 6, p. 867-877, 2015. doi: 10.1017/S0007114515000100.

CHRISTENSEN, Erik I.; GBUREK, Jakub. Protein reabsorption in renal proximal tubule—function and dysfunction in kidney pathophysiology. *Pediatric nephrology*, v. 19, p. 714-721, 2004. doi: 10.1007/s00467-004-1494-0.

CHRISTENSEN, Erik I.; GBUREK, Jakub. Protein reabsorption in renal proximal tubule—function and dysfunction in kidney pathophysiology. *Pediatric nephrology*, v. 19, p. 714-721, 2004. doi: 10.1007/s00467-004-1494-0.

CLARK, William F. et al. Urine volume and change in estimated GFR in a community-based cohort study. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, v. 6, n. 11, p. 2634-2641, 2011. doi: 10.2215/CJN.01990211.

COMPER, Wayne D.; VUCHKOVA, Julijana; MCCARTHY, Kevin J. New insights into proteinuria/albuminuria. *Frontiers in Physiology*, v. 13, p. 991756, 2022. doi: 10.3389/fphys.2022.991756.

COSTANTINO, Valeria Victoria et al. Molecular mechanisms of hypertensive nephropathy: renoprotective effect of losartan through Hsp70. *Cells*, v. 10, n. 11, p. 3146, 2021. doi: 10.3390/cells10113146.

COSTANZO, L. S. *Fisiologia*, 3 ed. Rio de Janeiro-RJ: Elsevier, 2007.

CUATRECASAS, Guillem et al. Dapagliflozin added to metformin reduces perirenal fat layer in type 2 diabetic patients with obesity. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 10832, 2024. doi: 10.1038/s41598-024-61590-6.

CUSUMANO, Ana Maria; TZANNO-MARTINS, Carmen; ROSA-DIEZ, Guillermo Javier. The glomerular filtration rate: from the diagnosis of kidney function to a public health tool. *Frontiers in medicine*, v. 8, p. 769335, 2021. doi: 10.3389/fmed.2021.769335.

DA SILVA, Alexandre A. et al. Role of hyperinsulinemia and insulin resistance in hypertension: metabolic syndrome revisited. *Canadian Journal of Cardiology*, v. 36, n. 5, p. 671-682, 2020.

DA SILVA, Telma Melo et al. Uso de modelos animais na indução da obesidade e alterações fisiológicas. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 9, p. 66278-66286, 2020. doi: 10.34117/bjdv6n9-165.

DAEHN, Ilse S.; DUFFIELD, Jeremy S. The glomerular filtration barrier: a structural target for novel kidney therapies. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 20, n. 10, p. 770-788, 2021. doi: 10.1038/s41573-021-00242-0.

D'AGATI, Vivette D. et al. Obesity-related glomerulopathy: clinical and pathologic characteristics and pathogenesis. *Nature Reviews Nephrology*, v. 12, n. 8, p. 453-471, 2016. doi: 10.1038/nrneph.2016.75.

DCCT/EDIC RESEARCH GROUP et al. Effect of intensive diabetes treatment on albuminuria in type 1 diabetes: long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial and Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study. *The lancet Diabetes & endocrinology*, v. 2, n. 10, p. 793-800, 2014.

DE BARROS PERUCHETTI, Diogo et al. High glucose reduces megalin-mediated albumin endocytosis in renal proximal tubule cells through protein kinase B O-GlcNAcylation. *Journal of Biological Chemistry*, v. 293, n. 29, p. 11388-11400, 2018.

DE MACEDO, Isabel Cristina; DE FREITAS, Joice Soares; DA SILVA TORRES, Iraci Lucena. The influence of palatable diets in reward system activation: a mini review. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, v. 2016, n. 1, p. 7238679, 2016. doi: 10.1155/2016/7238679.

DE OLIVEIRA CARLOS, Lígia et al. The prevalence of hyperpalatable food intake among individuals with food addiction seeking bariatric surgery. *Eating Behaviors*, v. 52, p. 101841, 2024. doi: 10.1016/j.eatbeh.2023.101841.

DE VRIES, Aiko PJ et al. Fatty kidney: emerging role of ectopic lipid in obesity-related renal disease. *The lancet Diabetes & endocrinology*, v. 2, n. 5, p. 417-426, 2014. doi: 10.1016/S2213-8587(14)70065-8.

DEEN, William M. et al. What determines glomerular capillary permeability?. *The Journal of clinical investigation*, v. 114, n. 10, p. 1412-1414, 2004. doi: 10.1172/JCI23577.

DEVENNY, James J. et al. Weight loss induced by chronic dapagliflozin treatment is attenuated by compensatory hyperphagia in diet-induced obese (DIO) rats. *Obesity*, v. 20, n. 8, p. 1645-1652, 2012. doi: 10.1038/oby.2012.59.

DHONDUP, Tsering; QIAN, Qi. Acid-base and electrolyte disorders in patients with and without chronic kidney disease: an update. *Kidney Diseases*, v. 3, n. 4, p. 136-148, 2017. doi: 10.1159/000479968.

DI VINCENZO, A. et al. Treatment with dapagliflozin increases FGF-21 gene expression and reduces triglycerides content in myocardial tissue of genetically obese mice. *Journal of Endocrinological Investigation*, p. 1-10, 2024.

DICKEN, Samuel J.; BATTERHAM, Rachel L. Ultra-processed Food and Obesity: What Is the Evidence?. *Current Nutrition Reports*, v. 13, n. 1, p. 23-38, 2024. doi: 10.1007/s13668-024-00517-z.

DIERICKX, Paul J. Urinary gamma-glutamyl transferase as an indicator of acute nephrotoxicity in rats. *Archives of Toxicology*, v. 47, p. 209-215, 1981. doi: 10.1007/BF00368681.

DUMESIC, Daniel A. et al. Endocrine–metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: An evolutionary perspective. *Current opinion in endocrine and metabolic research*, v. 12, p. 41-48, 2020. doi: 10.1016/j.coemr.2020.02.013.

DWYER, B. K. et al. Urinalysis vs urine protein–creatinine ratio to predict significant proteinuria in pregnancy. *Journal of Perinatology*, v. 28, n. 7, p. 461-467, 2008. doi: 10.1038/jp.2008.4.

EBEFORS, Kerstin et al. Modeling the glomerular filtration barrier and intercellular crosstalk. *Frontiers in Physiology*, v. 12, p. 689083, 2021. doi: 10.3389/fphys.2021.689083.

EDDY, Allison A. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 7, n. 12, p. 2495-2508, 1996. doi: 10.1681/ASN.V7122495.

EDDY, Allison A. Proteinuria and interstitial injury. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 19, n. 2, p. 277-281, 2004. doi: 10.1093/ndt/gfg533.

ELEFTHERIADIS, Theodoros et al. A unifying model of glucotoxicity in human renal proximal tubular epithelial cells and the effect of the SGLT2 inhibitor dapagliflozin. *International urology and nephrology*, v. 52, p. 1179-1189, 2020. doi: 10.1007/s11255-020-02481-3.

ELKAZAZ, Shima K. et al. Role of sodium glucose cotransporter type 2 inhibitors dapagliflozin on diabetic nephropathy in rats; Inflammation, angiogenesis and apoptosis. *Life Sciences*, v. 280, p. 119018, 2021. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119018.

EMPA-KIDNEY COLLABORATIVE GROUP. Empagliflozin in patients with chronic kidney disease. *New England Journal of Medicine*, v. 388, n. 2, p. 117-127, 2023. doi: 10.1056/NEJMoa2204233.

FARIAS, Raysa S. et al. Inhibition of SGLT2 co-transporter by dapagliflozin ameliorates tubular proteinuria and tubule-interstitial injury at the early stage of diabetic kidney disease. *European Journal of Pharmacology*, v. 942, p. 175521, 2023. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175521.

FERAILLE, Eric et al. Renal water transport in health and disease. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, v. 474, n. 8, p. 841-852, 2022. doi: 10.1007/s00424-022-02712-9.

FERRANNINI, Ele et al. Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic control by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Diabetes care*, v. 33, n. 10, p. 2217-2224, 2010. doi: 10.2337/dc10-0612.

FILLER, Guido; YASIN, Abeer; MEDEIROS, Mara. Methods of assessing renal function. *Pediatric nephrology*, v. 29, p. 183-192, 2014. doi: 10.1007/s00467-013-2426-7.

FOLCH, Jordi; LEES, Mark; STANLEY, GH Sloane. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FORBES, Josephine M.; COOPER, Mark E. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*, v. 93, n. 1, p. 137-188, 2013. doi: 10.1152/physrev.00045.2011.

FOSTER, Meredith C. et al. Association of subcutaneous and visceral adiposity with albuminuria: the Framingham Heart Study. *Obesity*, v. 19, n. 6, p. 1284-1289, 2011. doi: 10.1038/oby.2010.308.

FUKUSHIMA, Kazuhiko et al. Sodium glucose co-transporter 2 inhibitor ameliorates autophagic flux impairment on renal proximal tubular cells in obesity mice. *International journal of molecular sciences*, v. 21, n. 11, p. 4054, 2020. doi: 10.3390/ijms21114054.

GAI, Zhibo et al. Lipid accumulation and chronic kidney disease. *Nutrients*, v. 11, n. 4, p. 722, 2019. doi: 10.3390/nu11040722.

GENUTH, Saul et al. Implications of the United kingdom prospective diabetes study. *Diabetes care*, v. 26, p. S28, 2003.

GHEZZI, Chiara; LOO, Donald DF; WRIGHT, Ernest M. Physiology of renal glucose handling via SGLT1, SGLT2 and GLUT2. *Diabetologia*, v. 61, p. 2087-2097, 2018. doi: 10.1007/s00125-018-4656-5.

GILLHAM, Michael. Chapter 33 - Acute Renal Failure and Renal Support, 2007, Pages 481-494, ISBN 9780750675727. doi: 10.1016/B978-075067572-7.50036-9.

GLASTRAS, Sarah J. et al. Mouse models of diabetes, obesity and related kidney disease. *PloS one*, v. 11, n. 8, p. e0162131, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0162131.

GOUNDEN, Verena; BHATT, Harshil; JIALAL, Ishwarlal. Renal function tests. 2018. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

GRIFFIN, Karen A.; KRAMER, Holly; BIDANI, Anil K. Adverse renal consequences of obesity. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, v. 294, n. 4, p. F685-F696, 2008. doi: 10.1152/ajprenal.00324.2007.

GRIGORAŞ, Adriana et al. Perirenal adipose tissue—current knowledge and future opportunities. *Journal of clinical medicine*, v. 10, n. 6, p. 1291, 2021. doi: 10.3390/jcm10061291.

HAIDER, Mobeen Z.; ASLAM, Ahsan. Proteinuria. In: *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing, 2023.

HALL, J. E. (2011) *Guyton & Hall: Tratado de Fisiologia Médica* (\*), 12<sup>a</sup> ed., Ed. Elsevier, Rio de Janeiro, RJ. ISBN: 978-85-352-3735-1.

HAMMOUD, Safaa H. et al. Perirenal adipose tissue inflammation: novel insights linking metabolic dysfunction to renal diseases. *Frontiers in Endocrinology*, v. 12, p. 707126, 2021. doi: 10.3389/fendo.2021.707126.

HAN, Tuo et al. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitor dapagliflozin depressed adiposity and ameliorated hepatic steatosis in high-fat diet induced obese mice. *Adipocyte*, v. 10, n. 1, p. 446-455, 2021. doi: 10.1080/21623945.2021.1979277.

HANAI, Ko et al. Involvement of visceral fat in the pathogenesis of albuminuria in patients with type 2 diabetes with early stage of nephropathy. *Clinical and experimental nephrology*, v. 14, p. 132-136, 2010. doi: 10.1007/s10157-009-0245-8.

HANDY, Rachel M.; HOLLOWAY, Graham P. Insights into the development of insulin resistance: Unraveling the interaction of physical inactivity, lipid metabolism and mitochondrial biology. *Frontiers in Physiology*, v. 14, p. 1151389, 2023. doi: 10.3389/fphys.2023.1151389.

HEBERT, Lee A. et al. High urine volume and low urine osmolality are risk factors for faster progression of renal disease. *American journal of kidney diseases*, v. 41, n. 5, p. 962-971, 2003. doi: 10.1016/s0272-6386(03)00193-8.

HEERSPINK, Hiddo JL et al. Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease. *New England Journal of Medicine*, v. 383, n. 15, p. 1436-1446, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2024816.

HEERSPINK, Hiddo JL et al. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors in the treatment of diabetes mellitus: cardiovascular and kidney effects, potential mechanisms, and clinical applications. *Circulation*, v. 134, n. 10, p. 752-772, 2016. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021887.

HENEGAR, Jeffrey R. et al. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 12, n. 6, p. 1211-1217, 2001. doi: 10.1681/ASN.V1261211.

HEYMAN, Samuel N. et al. Diabetic proteinuria revisited: updated physiologic perspectives. *Cells*, v. 11, n. 18, p. 2917, 2022. doi: 10.3390/cells11182917.

HINNEN, Deborah. Glucuretic effects and renal safety of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, v. 6, n. 3, p. 92-102, 2015. doi: 10.1177/2042018815575273.

HIRANO, Toshio. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *International immunology*, v. 33, n. 3, p. 127-148, 2021. doi: 10.1093/intimm/dxaa078.

HORITA, Shoko et al. Insulin resistance, obesity, hypertension, and renal sodium transport. *International journal of hypertension*, v. 2011, n. 1, p. 391762, 2011. doi: 10.4061/2011/391762.

HORITA, Shoko et al. The role of renal proximal tubule transport in the regulation of blood pressure. *Kidney research and clinical practice*, v. 36, n. 1, p. 12, 2017. doi: 10.23876/j.krcp.2017.36.1.12.

IMAMAH, Nur Fithriyanti; LIN, Hung-Ru. Palliative care in patients with end-stage renal disease: a meta synthesis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 18, n. 20, p. 10651, 2021. doi: 10.3390/ijerph182010651.

INKER, Lesley A.; TITAN, Silvia. Measurement and estimation of GFR for use in clinical practice: core curriculum 2021. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 78, n. 5, p. 736-749, 2021. doi: 10.1053/j.ajkd.2021.04.016.

JAIKUMKAO, Krit et al. Dapagliflozin ameliorates pancreatic injury and activates kidney autophagy by modulating the AMPK/mTOR signaling pathway in obese rats. *Journal of Cellular Physiology*, v. 236, n. 9, p. 6424-6440, 2021. doi: 10.1002/jcp.30316.

JAIKUMKAO, Krit et al. Dapagliflozin, a sodium-glucose co-transporter-2 inhibitor, slows the progression of renal complications through the suppression of renal inflammation, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in prediabetic rats. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, v. 20, n. 11, p. 2617-2626, 2018. doi: 10.1111/dom.13441.

JAIKUMKAO, Krit et al. Renal outcomes with sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor, dapagliflozin, in obese insulin-resistant model. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, v. 1864, n. 6, p. 2021-2033, 2018. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.03.017.

JANEŽ, Andrej; FIORETTO, Paola. SGLT2 inhibitors and the clinical implications of associated weight loss in type 2 diabetes: a narrative review. *Diabetes Therapy*, v. 12, p. 2249-2261, 2021. doi: 10.1007/s13300-021-01104-z.

JHAJAY, C. et al. Diabetes and kidney disease: role of oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling*, 2016. doi: 10.1089/ars.2016.6664.

KAHN, Steven E.; HULL, Rebecca L.; UTZSCHNEIDER, Kristina M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, v. 444, n. 7121, p. 840-846, 2006. doi: 10.1038/nature05482.

KALANTAR-ZADEH, Kamyar et al. Chronic kidney disease. *The lancet*, v. 398, n. 10302, p. 786-802, 2021. doi: 10.1016/s0140-6736(21)00519-5.

KALRA, Sanjay; SINGH, Vikram; NAGRALE, Dinesh. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibition and the glomerulus: a review. *Advances in therapy*, v. 33, p. 1502-1518, 2016. doi: 10.1007/s12325-016-0379-5.

KAMIŃSKA, Joanna et al. Diagnostic utility of protein to creatinine ratio (P/C ratio) in spot urine sample within routine clinical practice. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, v. 57, n. 5, p. 345-364, 2020. doi: 10.1080/10408363.2020.1723487.

KANASAKI, Keizo; KOYA, Daisuke. Biology of obesity: lessons from animal models of obesity. *BioMed Research International*, v. 2011, n. 1, p. 197636, 2011. doi: 10.1155/2011/197636.

KATAOKA, Hiroshi; NITTA, Kosaku; HOSHINO, Junichi. Glomerular hyperfiltration and hypertrophy: an evaluation of maximum values in pathological indicators to discriminate “diseased” from “normal”. *Frontiers in Medicine*, v. 10, p. 1179834, 2023. doi: 10.3389/fmed.2023.1179834.

KELEHER, Madeline Rose et al. A high-fat diet alters genome-wide DNA methylation and gene expression in SM/J mice. *BMC genomics*, v. 19, p. 1-13, 2018. doi: 10.1186/s12864-018-5327-0.

KIM, Suyeon et al. The adipose renin-angiotensin system modulates systemic markers of insulin sensitivity and activates the intrarenal renin-angiotensin system. *BioMed Research International*, v. 2006, n. 1, p. 027012, 2006. doi: 10.1155/JBB/2006/27012.

KLEIN, Samuel et al. Why does obesity cause diabetes?. *Cell metabolism*, v. 34, n. 1, p. 11-20, 2022. doi: 10.1016/j.cmet.2021.12.012.

KOSUGI, Rieko et al. Effects of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor (dapagliflozin) on food intake and plasma fibroblast growth factor 21 levels in type 2 diabetes patients. *Endocrine Journal*, v. 66, n. 8, p. 677-682, 2019. doi: 10.1507/endocrj.EJ19-0013.

KRAMER, Holly. Obesity and chronic kidney disease. *Obesity and the Kidney*, v. 151, p. 1-18, 2006. doi: 10.1159/000095315.

KUMAR, Mahendra et al. The bidirectional link between diabetes and kidney disease: mechanisms and management. *Cureus*, v. 15, n. 9, 2023. doi: 10.7759/cureus.45615.

LACKEY, Denise E. et al. The role of dietary fat in obesity-induced insulin resistance. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 311, n. 6, p. E989-E997, 2016. doi: 10.1152/ajpendo.00323.2016.

LEAF, Irina A.; DUFFIELD, Jeremy S. What can target kidney fibrosis?. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 32, n. suppl\_1, p. i89-i97, 2017. doi: 10.1093/ndt/gfw388.

LEATHERBY, Robert J.; THEODOROU, Chloe; DHANDA, Raman. Renal physiology: blood flow, glomerular filtration and plasma clearance. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, v. 22, n. 7, p. 439-442, 2021. doi: 10.1016/j.mpaic.2021.05.003.

LEE, In Seok; SHIN, Gina; CHOUE, Ryowon. Shifts in diet from high fat to high carbohydrate improved levels of adipokines and pro-inflammatory cytokines in mice fed a high-fat diet. *Endocrine journal*, v. 57, n. 1, p. 39-50, 2010. doi: 10.1507/endocrj.K09E-046.

LEGRAND, Matthieu; PAYEN, Didier. Understanding urine output in critically ill patients. *Annals of intensive care*, v. 1, p. 1-8, 2011. doi: 10.1186/2110-5820-1-13.

LEITER, L. A. et al. Effect of canagliflozin on liver function tests in patients with type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*, v. 42, n. 1, p. 25-32, 2016. doi: 10.1016/j.diabet.2015.10.003.

LI, Huicong et al. MicroRNA-25 inhibits high glucose-induced apoptosis in renal tubular epithelial cells via PTEN/AKT pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 96, p. 471-479, 2017. doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.019.

LIN, Baiwei et al. Dapagliflozin attenuates fat accumulation and insulin resistance in obese mice with polycystic ovary syndrome. *European Journal of Pharmacology*, p. 176742, 2024. doi: 10.1016/j.ejphar.2024.176742.

LIN, Tian-Yu; HSU, Yu-Hsiang. IL-20 in acute kidney injury: role in pathogenesis and potential as a therapeutic target. *International journal of molecular sciences*, v. 21, n. 3, p. 1009, 2020. doi: 10.3390/ijms21031009.

LIPPI, Ilaria et al. Clinical utility of urine kidney injury molecule-1 (KIM-1) and gamma-glutamyl transferase (GGT) in the diagnosis of canine acute kidney injury. *Veterinary research communications*, v. 42, p. 95-100, 2018. doi: 10.1007/s11259-018-9711-7.

LIST, James F.; WHALEY, Jean M. Glucose dynamics and mechanistic implications of SGLT2 inhibitors in animals and humans. *Kidney International*, v. 79, p. S20-S27, 2011. doi: 10.1038/ki.2010.512.

LITWAK, Sara A. et al. Estradiol prevents fat accumulation and overcomes leptin resistance in female high-fat diet mice. *Endocrinology*, v. 155, n. 11, p. 4447-4460, 2014. doi: 10.1210/en.2014-1342.

LIU, Bi-Cheng et al. Renal tubule injury: a driving force toward chronic kidney disease. *Kidney international*, v. 93, n. 3, p. 568-579, 2018. doi: 10.1016/j.kint.2017.09.033.

LIU, Yufang et al. Association of visceral adipose tissue with albuminuria and interaction between visceral adiposity and diabetes on albuminuria. *Acta Diabetologica*, v. 61, n. 7, p. 909-916, 2024. doi: 10.1007/s00592-024-02271-8.

LOPES, Tiago Giuliani et al. Markers of renal fibrosis: How do they correlate with podocyte damage in glomerular diseases?. *PLoS One*, v. 14, n. 6, p. e0217585, 2019. doi: 10.1371/journal.pone.0217585.

LUO, Yinli et al. Protective effects of ferroptosis inhibition on high fat diet-induced liver and renal injury in mice. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, v. 13, n. 8, p. 2041, 2020.

MA, Chao et al. Effect of dapagliflozin treatment on the expression of renal sodium transporters/channels on high-fat diet diabetic mice. *Nephron*, v. 142, n. 1, p. 51-60, 2019. doi: 10.1159/000496617.

MA, Chao et al. Effect of dapagliflozin treatment on the expression of renal sodium transporters/channels on high-fat diet diabetic mice. *Nephron*, v. 142, n. 1, p. 51-60, 2019. doi: 10.1159/000496617.

MAIOLI, Tatiani Uceli et al. High sugar and butter (HSB) diet induces obesity and metabolic syndrome with decrease in regulatory T cells in adipose tissue of mice. *Inflammation research*, v. 65, p. 169-178, 2016. doi: 10.1007/s00011-015-0902-1.

MAKHAMMAJANOV, Zhalaliddin et al. Tubular toxicity of proteinuria and the progression of chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 39, n. 4, p. 589-599, abr. 2024. doi: 10.1093/ndt/gfad215.

MANN, Vivek; SUNDARESAN, Alamelu; SHISHODIA, Shishir. Overnutrition and Lipotoxicity: Impaired Efferocytosis and Chronic Inflammation as Precursors to Multifaceted Disease Pathogenesis. *Biology*, v. 13, n. 4, p. 241, 2024. doi: 10.3390/biology13040241.

MARSHALL, Caroline B. Rethinking glomerular basement membrane thickening in diabetic nephropathy: adaptive or pathogenic?. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, v. 311, n. 5, p. F831-F843, 2016. doi: 10.1152/ajprenal.00313.2016.

MARTINS, Ana Rita; MÁŠ, Sebastian. Lipotoxicity and kidney. *Port J Nephrol Hypert*, v. 29, n. 4, p. 306-315, 2015.

MCPHERSON, Kasi C. et al. Impact of obesity as an independent risk factor for the development of renal injury: implications from rat models of obesity. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, v. 316, n. 2, p. F316-F327, 2019. doi: 10.1152/ajprenal.00162.2018.

MEYER, Timothy W. Tubular injury in glomerular disease. *Kidney international*, v. 63, n. 2, p. 774-787, 2003.

MINER, Jeffrey H. Focusing on the glomerular slit diaphragm: podocin enters the picture. *The American journal of pathology*, v. 160, n. 1, p. 3-5, 2002. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64341-6.

MIZOGUCHI, Akira et al. High-fat feeding causes inflammation and insulin resistance in the ventral tegmental area in mice. *Neuroscience*, v. 461, p. 72-79, 2021. doi: 10.1016/j.neuroscience.2021.02.009.

MOREIRA-JÚNIOR, Renato Elias et al. Animal model for high consumption and preference of ethanol and its interplay with high sugar and butter diet, behavior, and neuroimmune system. *Frontiers in Nutrition*, v. 10, p. 1141655, 2023. doi: 10.3389/fnut.2023.1141655.

MULLER, Cynthia R. et al. Post-weaning exposure to high-fat diet induces kidney lipid accumulation and function impairment in adult rats. *Frontiers in nutrition*, v. 6, p. 60, 2019. doi: 10.3389/fnut.2019.00060.

MUNDEL, Peter; SHANKLAND, Stuart J. Podocyte biology and response to injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 13, n. 12, p. 3005-3015, 2002. doi: 10.1097/01.ASN.0000039661.06947.FD.

National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, 2020. Kidney and nephron – Labeled. Disponível em: <https://www.niddk.nih.gov/news/media-library/11236>.

NIELSEN, Rikke; CHRISTENSEN, Erik Ilsø; BIRN, Henrik. Megalin and cubilin in proximal tubule protein reabsorption: from experimental models to human disease. *Kidney international*, v. 89, n. 1, p. 58-67, 2016. doi: 10.1016/j.kint.2015.11.007.

OGOBUIRO, Ifeanyichukwu; TUMA, Faiz. *Physiology, renal*. StatPearls. 2019.

PADDA, Inderbir S.; MAHTANI, Arun U.; PARMAR, Mayur. Sodium-glucose transport protein 2 (SGLT2) inhibitors. 2022. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

PANCHOLIA, A. K. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibition for the reduction of cardiovascular events in high-risk patients with diabetes mellitus. *Indian Heart Journal*, v. 70, n. 6, p. 915-921, 2018. doi: 10.1016/j.ihj.2018.08.022.

PAULA, Rogério Baumgratz de. Obesidade, síndrome metabólica e progressão da lesão renal. *J. Bras. Nefrol.*, v. 28, n. 2 suppl. 1, p. 12-17, 2006.

PEDRO, Patricia Fonseca; TSAKMAKI, Anastasia; BEWICK, Gavin A. The glucose tolerance test in mice. *Animal Models of Diabetes: Methods and Protocols*, p. 207-216, 2020. doi: 10.1007/978-1-0716-0385-7\_14.

PERICO, Norberto; RUGGENENTI, Piero; REMUZZI, Giuseppe. ACE and SGLT2 inhibitors: the future for non-diabetic and diabetic proteinuric renal disease. *Current opinion in pharmacology*, v. 33, p. 34-40, 2017. doi: 10.1016/j.coph.2017.03.006.

PERKOVIC, Vlado et al. Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy. *New England journal of medicine*, v. 380, n. 24, p. 2295-2306, 2019. doi: 10.1056/NEJMoa1811744.

PERUCHETTI, Diogo B. et al. IL-4 receptor  $\alpha$  chain protects the kidney against tubule-interstitial injury induced by albumin overload. *Frontiers in Physiology*, v. 11, p. 172, 2020. doi: 10.3389/fphys.2020.00172.

PERUCHETTI, Diogo B. et al. Megalin-mediated albumin endocytosis in renal proximal tubules is involved in the antiproteinuric effect of angiotensin II type 1 receptor blocker in a subclinical acute kidney injury animal model. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, v. 1865, n. 9, p. 129950, 2021. doi: 10.1016/j.bbagen.2021.129950.

PETTERSSON, Ulrika S. et al. Female mice are protected against high-fat diet induced metabolic syndrome and increase the regulatory T cell population in adipose tissue. 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0046057.

PROVENZANO, Michele et al. Sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors and nephroprotection in diabetic patients: more than a challenge. *Frontiers in Medicine*, v. 8, p. 654557, 2021. doi: 10.3389/fmed.2021.654557.

RAJKUMAR, Premraj; PLUZNICK, Jennifer L. Acid-base regulation in the renal proximal tubules: using novel pH sensors to maintain homeostasis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, v. 315, n. 5, p. F1187-F1190, 2018. doi: 10.1152/ajprenal.00185.2018.

RAO, Akhilesh; PANDYA, Vishwam; WHALEY-CONNELL, Adam. Obesity and insulin resistance in resistant hypertension: implications for the kidney. *Advances in chronic kidney disease*, v. 22, n. 3, p. 211-217, 2015. doi: 10.1053/j.ackd.2014.12.004.

RAVINDRAN, Sreenithya; MUNUSAMY, Shankar. Renoprotective mechanisms of sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors against the progression of diabetic kidney disease. *Journal of cellular physiology*, v. 237, n. 2, p. 1182-1205, 2022. doi: 10.1002/jcp.30621.

REISER, Jochen; ALTINTAS, Mehmet M. Podocytes. *F1000Research*, v. 5, 2016. doi: 10.12688/f1000research.7255.1.

RIANT, Elodie et al. Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology*, v. 150, n. 5, p. 2109-2117, 2009. doi: 10.1210/en.2008-0971.

RIBEIRO, Roberta et al. Chronic hyperpalatable diet induces impairment of hippocampal-dependent memories and alters glutamatergic and fractalkine axis signaling. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, p. 16358, 2023. doi: 10.1038/s41598-023-42955-9.

RIZZATO, Ana Carolina; SILVA, Vanessa Resende Souza; DE BRITO SOYER, Aline. *Saúde. CEP*, v. 16011, n. 025, p. 025, 2020. doi: 10.5902/2236583463362.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Ana Elena et al. Obesity and metabolic syndrome induce hyperfiltration, glomerulomegaly, and albuminuria in obese ovariectomized female mice and obese male mice. *Menopause*, v. 28, n. 11, p. 1296-1306, 2021. doi: 10.1097/gme.0000000000001842.

ROMIEU, Isabelle et al. Energy balance and obesity: what are the main drivers?. *Cancer causes & control*, v. 28, p. 247-258, 2017. doi: 10.1007/s10552-017-0869-z.

ROWNTREE, Leonard G. The water balance of the body. *Physiological Reviews*, v. 2, n. 1, p. 116-169, 1922. doi: 10.1152/physrev.1922.2.1.116.

ROZA, Noemi AV et al. Effect of long-term high-fat diet intake on peripheral insulin sensibility, blood pressure, and renal function in female rats. *Food & nutrition research*, v. 60, n. 1, p. 28536, 2016. doi: 10.3402/fnr.v60.28536.

RUBENSTEIN, David A; YIN, Wei; FRAME, Mary D. Chapter 13 - Flow through the kidney. In *Biomedical Engineering, Biofluid Mechanics (Third Edition)*, Academic Press, 2022, Pages 473-513. doi: 10.1016/B978-0-12-818034-1.00013-X.

RUIZ-ORTEGA, Marta et al. Targeting the progression of chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*, v. 16, n. 5, p. 269-288, 2020. doi: 10.1038/s41581-019-0248-y.

SAFAEI, Mahmood et al. A systematic literature review on obesity: Understanding the causes & consequences of obesity and reviewing various machine learning approaches used to predict obesity. *Computers in biology and medicine*, v. 136, p. 104754, 2021. doi: 10.1016/j.compbiomed.2021.104754.

ŞAHINER, Enes; İNAN, Osman. Short-Term Effect of Sodium Glucose Co-Transporter 2 Inhibitors on Routine Laboratory Examinations. *Journal of Contemporary Medicine*, v. 12, n. 4, p. 553-558, 2022. doi: 10.16899/jcm.1121335.

SALEH, Sohair et al. Dapagliflozin ameliorates glycemic state, lipid profile and renal functions in type 2 diabetic rats. *Benha medical journal*, v. 37, n. 3, p. 636-652, 2020. doi: 10.21608/bmfj.2020.105371.

SALMEN, Teodor et al. The Safety Profile of Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors and Glucagon-like Peptide 1 Receptor Agonists in the Standard of Care Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Life*, v. 13, n. 3, p. 839, 2023. doi: 10.3390/life13030839.

SANDS, Jeff M.; LAYTON, Harold E. The physiology of urinary concentration: an update. In: *Seminars in nephrology*. WB Saunders, 2009. p. 178-195. doi: 10.1016/j.semnephrol.2009.03.008.

SANDS, Jeff M.; LAYTON, Harold E. The physiology of urinary concentration: an update. In: *Seminars in nephrology*. WB Saunders, 2009. p. 178-195. doi: 10.1016/j.semnephrol.2009.03.008.

SCERBO, Diego et al. Kidney triglyceride accumulation in the fasted mouse is dependent upon serum free fatty acids [S]. *Journal of lipid research*, v. 58, n. 6, p. 1132-1142, 2017. doi: 10.1194/jlr.M074427.

SHANKLAND, S. J. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney international*, v. 69, n. 12, p. 2131-2147, 2006. doi: 10.1038/sj.ki.5000410.

SHAO, Shih-Chieh et al. SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes with non-alcoholic fatty liver diseases: an umbrella review of systematic reviews. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, v. 8, n. 2, p. e001956, 2020. doi: 10.1136/bmjdr-2020-001956.

SHEU, Wayne Huey-Herng et al. Use of SGLT-2 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus and abdominal obesity: an Asian perspective and expert recommendations. *Diabetes & metabolism journal*, v. 44, n. 1, p. 11, 2020. doi: 10.4093/dmj.2019.0208.

SHIBUSAWA, Ryo et al. Dapagliflozin rescues endoplasmic reticulum stress-mediated cell death. *Scientific reports*, v. 9, n. 1, p. 9887, 2019. doi: 10.1038/s41598-019-46402-6.

SHIN, Seok Joon et al. Effect of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor, dapagliflozin, on renal renin-angiotensin system in an animal model of type 2 diabetes. *PloS one*, v. 11, n. 11, p. e0165703, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0165703.

SIMOES E SILVA, Ana Cristina et al. 2020 update on the renin–angiotensin–aldosterone system in pediatric kidney disease and its interactions with coronavirus. *Pediatric Nephrology*, v. 36, p. 1407-1426, 2021. doi: 10.1007/s00467-020-04759-1.

SINGH, Prabhat et al. Role of Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitors in Chronic Kidney Disease, Congestive Heart Failure and Stroke—A Review and Clinical Guide for Healthcare Professionals. *Journal of Clinical Medicine*, v. 12, n. 19, p. 6202, 2023. doi: 10.3390/jcm12196202.

STASI, Alessandra et al. Obesity-related chronic kidney disease: principal mechanisms and new approaches in nutritional management. *Frontiers in nutrition*, v. 9, p. 925619, 2022. doi: 10.3389/fnut.2022.925619.

STENVINKEL, Peter et al. Chronic inflammation in chronic kidney disease progression: role of Nrf2. *Kidney international reports*, v. 6, n. 7, p. 1775-1787, 2021. doi: 10.1016/j.ekir.2021.04.023.

STUBBINS, Renee E. et al. Estrogen modulates abdominal adiposity and protects female mice from obesity and impaired glucose tolerance. *European journal of nutrition*, v. 51, p. 861-870, 2012. doi: 10.1007/s00394-011-0266-4.

SU, Licong et al. Epidemiology and outcomes of post-AKI proteinuria. *Clinical Kidney Journal*, v. 16, n. 11, p. 2262-2270, 2023. doi: 10.1093/ckj/sfad129.

SUCEDARAM, Yamuna et al. Exposure to high-fat style diet induced renal and liver structural changes, lipid accumulation and inflammation in intact and ovariectomized female rats. *Journal of Inflammation Research*, p. 689-710, 2021. doi: 10.2147/JIR.S299083.

SUN, Yue et al. High-fat diet promotes renal injury by inducing oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Cell death & disease*, v. 11, n. 10, p. 914, 2020. doi: 10.1038/s41419-020-03122-4.

TAMBA, Sachiko et al. Relationship between visceral fat accumulation and urinary albumin-creatinine ratio in middle-aged Japanese men. *Atherosclerosis*, v. 211, n. 2, p. 601-605, 2010. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.02.037.

TAN, Bee Ling; NORHAIZAN, Mohd Esa. Effect of high-fat diets on oxidative stress, cellular inflammatory response and cognitive function. *Nutrients*, v. 11, n. 11, p. 2579, 2019. doi: 10.3390/nu11112579.

TANG, Linqiao et al. Association between lactate dehydrogenase and the risk of diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, v. 15, p. 1369968, 2024. doi: 10.3389/fendo.2024.1369968.

THONGNAK, Laongdao et al. Effects of dapagliflozin and statins attenuate renal injury and liver steatosis in high-fat/high-fructose diet-induced insulin resistant rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 396, p. 114997, 2020. doi: 10.1016/j.taap.2020.114997.

TOBIAS, Abraham; BALLARD, Brian D.; MOHIUDDIN, Shamim S. Physiology, water balance. 2019. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

TORIMOTO, Keiichi et al. Early effects of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in type 2 diabetes: study based on continuous glucose monitoring. *Diabetology & metabolic syndrome*, v. 9, p. 1-7, 2017. doi: 10.1186/s13098-017-0258-5.

UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS) GROUP et al. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *The lancet*, v. 352, n. 9131, p. 837-853, 1998.

UPADHYAY, Ashish. SGLT2-Inhibitors and Kidney Protection: Mechanisms Beyond Tubulo-Glomerular Feedback. *Kidney360*, p. 10.34067, 2024. doi: 10.34067/KID.0000000000000425.

URANGA, Romina María; KELLER, Jeffrey Neil. The complex interactions between obesity, metabolism and the brain. *Frontiers in neuroscience*, v. 13, p. 513, 2019. doi: 10.3389/fnins.2019.00513.

VALLON, Volker. Molecular determinants of renal glucose reabsorption. Focus on “Glucose transport by human renal Na<sup>+</sup>/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2”. *American*

Journal of Physiology-Cell Physiology, v. 300, n. 1, p. C6-C8, 2011. doi: 10.1152/ajpccell.00444.2010.

VALLON, Volker; NAKAGAWA, Takahiko. Renal tubular handling of glucose and fructose in health and disease. *Comprehensive Physiology*, v. 12, n. 1, p. 2995, 2021. doi: 10.1002/cphy.c210030.

VAN BUREN, Peter N.; TOTO, Robert. Hypertension in diabetic nephropathy: epidemiology, mechanisms, and management. *Advances in chronic kidney disease*, v. 18, n. 1, p. 28-41, 2011. doi: 10.1053/j.ackd.2010.10.003.

VARGHESE, Ron T.; JIALAL, Ishwarlal. Diabetic nephropathy. In: *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing, 2024.

VARGHESE, Ron T.; JIALAL, Ishwarlal; DOERR, Chaddie. Diabetic nephropathy (nursing). In: *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing, 2023.

VENKATACHALAM, MANJERI A.; RENNKE, HELMUT G. The structural and molecular basis of glomerular filtration. *Circulation research*, v. 43, n. 3, p. 337-347, 1978.

VIDAL, Pía M. et al. The role of “anti-inflammatory” cytokines in axon regeneration. *Cytokine & growth factor reviews*, v. 24, n. 1, p. 1-12, 2013. doi: 10.1016/j.cytogfr.2012.08.008.

VIGITEL BRASIL 2021 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2021 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2021. ISBN 978-65-5993-195-8.

VIRTUE, Sam; VIDAL-PUIG, Antonio. GTTs and ITTs in mice: simple tests, complex answers. *Nature Metabolism*, v. 3, n. 7, p. 883-886, 2021. doi: 10.1038/s42255-021-00414-7.

WAHBA, Ihab M.; MAK, Robert H. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome: mechanistic links to chronic kidney disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, v. 2, n. 3, p. 550-562, 2007. doi: 10.2215/CJN.04071206.

WANG, Dong et al. The sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor dapagliflozin prevents renal and liver disease in western diet induced obesity mice. *International journal of molecular sciences*, v. 19, n. 1, p. 137, 2018. doi: 10.3390/ijms19010137.

WANG, Hua; ZHANG, Shu; GUO, Jia. Lipotoxic proximal tubular injury: a primary event in diabetic kidney disease. *Frontiers in Medicine*, v. 8, p. 751529, 2021. doi: 10.3389/fmed.2021.751529.

WANNER, Christoph et al. Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*, v. 375, n. 4, p. 323-334, 2016. doi: 10.1056/NEJMoa1515920.

WEBSTER, Angela C. et al. Chronic kidney disease. *The lancet*, v. 389, n. 10075, p. 1238-1252, 2017. doi: 10.1016/s0140-6736(16)32064-5.

WITHAAR, Coenraad et al. The effects of liraglutide and dapagliflozin on cardiac function and structure in a multi-hit mouse model of heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiovascular Research*, v. 117, n. 9, p. 2108-2124, 2021. doi: 10.1093/cvr/cvaa256.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Obesity and overweight*. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.

WU, Tong et al. The mechanism of hyperglycemia-induced renal cell injury in diabetic nephropathy disease: an update. *Life*, v. 13, n. 2, p. 539, 2023. doi: 10.3390/life13020539.

YANG, Huijuan et al. Therapeutic efficacy of dapagliflozin on diabetic kidney disease in rats. *International Immunopharmacology*, v. 113, p. 109272, 2022. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109272.

YANG, Yang; XU, Gaosi. Update on pathogenesis of glomerular hyperfiltration in early diabetic kidney disease. *Frontiers in Endocrinology*, v. 13, p. 872918, 2022. doi: 10.3389/fendo.2022.872918.

YAU, Kevin et al. Obesity and the kidney: mechanistic links and therapeutic advances. *Nature Reviews Endocrinology*, p. 1-15, 2024. doi: 10.1038/s41574-024-00951-7.

YE, Chaojie et al. Causal associations of obesity with chronic kidney disease and arterial stiffness: a Mendelian randomization study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 107, n. 2, p. e825-e835, 2022. doi: 10.1210/clinem/dgab633.

YUAN, Erdong et al. Aged oolong tea reduces high-fat diet-induced fat accumulation and dyslipidemia by regulating the AMPK/ACC signaling pathway. *Nutrients*, v. 10, n. 2, p. 187, 2018. doi: 10.3390/nu10020187.

ZEENI, Nadine et al. Cafeteria diet-fed mice is a pertinent model of obesity-induced organ damage: a potential role of inflammation. *Inflammation Research*, v. 64, p. 501-512, 2015. doi: 10.1007/s00011-015-0831-z.

ZEISBERG, Michael; KALLURI, Raghu. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 1. Common and organ-specific mechanisms associated with tissue fibrosis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 304, n. 3, p. C216-C225, 2013. doi: 10.1152/ajpcell.00328.2012.

ZHANG, Jing et al. Resveratrol decreases high glucose-induced apoptosis in renal tubular cells via suppressing endoplasmic reticulum stress. *Molecular Medicine Reports*, v. 22, n. 5, p. 4367-4375, 2020. doi: 10.3892/mmr.2020.11511.

ZHAO, Shuwu; LI, Yiming; SU, Chen. Assessment of common risk factors of diabetes and chronic kidney disease: a Mendelian randomization study. *Frontiers in Endocrinology*, v. 14, p. 1265719, 2023. doi: 10.3389/fendo.2023.1265719.

ZOJA, Carlamaria; ABBATE, Mauro; REMUZZI, Giuseppe. Progression of renal injury toward interstitial inflammation and glomerular sclerosis is dependent on abnormal protein filtration. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 30, n. 5, p. 706-712, 2015. doi: 10.1093/ndt/gfu261.

## ANEXO A – APROVAÇÃO CEUA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**CEUA**

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

### **CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação da função renal em camundongos após tratamento crônico com dieta de cafeteria.", protocolo do CEUA: 71/2023 sob a responsabilidade de Luciene Bruno Vieira que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - 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 da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 08/05/2023.