



André Sena Machado

**Resposta do Sistema nervoso central a hormônios de
saciedade: um estudo de imagens de ressonância
magnética**

Tese de Doutorado

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Doutor pelo Programa de Pós-
Graduação em Psicologia (Psicologia Clínica) do
Departamento de Psicologia da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Jesus Landeira-Fernandez

Co-orientador: Prof. Eelco Van Duinkerken

Rio de Janeiro,
Março de 2022



André Sena Machado

**Resposta do Sistema nervoso central a hormônios de
saciedade: um estudo de imagens de ressonância
magnética**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Doutor pelo Programa de
Pós-Graduação em Psicologia (Psicologia Clínica)
da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão
Examinadora abaixo.

Prof. Jesus Landeira-Fernandez

Orientador
Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Prof. Eelco Van Duinkerken

(Co-orientador)
Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer

Prof. Daniel Correa Mograbi

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Prof. Luis Flávio Chaves Anunciação

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Profa. Fernanda Palhano Xavier de Fontes

UFRN

Prof. Sergio Luis Schmidt

UNIRIO

Rio de Janeiro, 31 de março de 2022.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem a autorização da universidade, do autor e do orientador.

André Sena Machado

Graduou-se em Psicologia na UNESA (Universidade Estácio de Sá) em 2015. Posteriormente concluiu Mestrado em Psicologia Clínica na Linha de Neurociências na PUC-Rio em 2017 onde defendeu dissertação intitulada “Avaliação da resposta de congelamento e estrutura fatorial do protocolo empregado para a criação seletiva das linhagens de ratos Cariocas alto- e baixo-congelamento condicionado”. Participou de diversos congressos, palestras e cursos na área de Psicologia Clínica e Neurociências.

Ficha Catalográfica

Machado, André Sena

Resposta do Sistema nervoso central a hormônios de saciedade : um estudo de imagens de ressonância magnética / André Sena Machado ; orientador: Jesus Landeira-Fernandez ; coorientador: Eelco Van Duinkerken. – 2022.

103 f. : il. color. ; 30 cm

Tese (doutorado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Psicologia, 2022.

Inclui bibliografia

1. Psicologia – Teses. 2. Diabetes tipo 2. 3. Peptídeo como glucagon-1. 4. GLP-1. 5. Conectividade. 6. Redes do estado de repouso. I. Landeira-Fernandez, Jesus. II. Duinkerken, Eelco Van. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Psicologia. IV. Título.

CDD: 150

Dedico esse trabalho a meus pais, Rogério e Ivanise, vocês estiveram lá nos momentos bons e nos momentos difíceis, sonharam comigo, choraram comigo. Sem vocês nada disso seria possível.

Agradecimentos

Ao meu Orientador, Professor J. Landeira-Fernandez, seu estímulo e apoio me permitiram ir mais longe do que eu havia sonhado.

A meu co-orientador, Eelco Van Duinkerken, sua ajuda e apoio foram indispensáveis nesse processo, e palavras não são capazes de expressar minha gratidão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À PUC-Rio e a CAPES, que sempre se mostraram ambientes ímpares para a condução de pesquisas acadêmicas.

Sou muito grato a meu amigo Matheus Bezerra-Karounis, que sempre me apoiou nesse processo, sua atuação no seu papel de representante dos alunos de pós-graduação do departamento de Psicologia foi diferenciada, e tenho certeza de que nesta época marcada pela pandemia não havia pessoa mais apta para esta função. É uma honra poder tê-lo como amigo.

Ao Professor Daniel Mograbi, que teve papel essencial na minha entrada na área de pesquisa em neuroimagem, obrigado por acreditar em mim e por disponibilizar a infraestrutura do seu laboratório, você foi uma parte importante em todo este processo.

A todos os membros do Mograbilab, sempre solícitos quando precisei de ajuda. Foi sempre um prazer os momentos que compartilhamos no laboratório.

Sou muito grato a todo grupo de pesquisa holandês que me permitiu a honra de analisar seus dados e participar dessa pesquisa incrível.

Um agradecimento especial a todos os participantes, sem os quais esta pesquisa não teria sido possível.

A todos os funcionários do departamento de Psicologia, em especial, Marcelina que sempre me ofereceu todo apoio necessário a cada passo da jornada.

A minha amada, Isabel Garbayo, você sempre esteve ao meu lado e acompanhou toda minha trajetória e sabe melhor do que ninguém o valor de ter chegado até aqui.

A meus pais, e parentes, que sempre foram solícitos e compreensivos, sem hesitar em fazer sacrifícios nem nunca faltando com auxílio quando foi preciso. Um agradecimento especial a minha avó Iracema, que orou muito por mim e à minha irmã Anelisa que prestou todo auxílio possível em tantas questões, você é uma irmã maravilhosa.

Agradeço a Lucia, amiga de longa data, por ajudar na revisão do português.

Por fim, um agradecimento especial a todos que me apoiaram, muitos para citar, mas vocês sabem quem são.

Resumo

Machado, André Sena; Landeira-Fernandez, Jesus. **Resposta do Sistema nervoso central a hormônios de saciedade: um estudo de imagens de ressonância magnética**. Rio de Janeiro, 2022. 103p. Tese de Doutorado – Departamento de psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

O agonista do receptor do peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), melhora o controle glicêmico, reduz o apetite e o peso corporal, sendo usado para o tratamento de diabetes tipo 2 (DM2). Também se mostrou associado a alterações nas respostas cerebrais, relacionadas a estímulos alimentares. Entretanto, seus efeitos na conectividade funcional intrínseca do cérebro não são conhecidos. Com objetivo de melhor entender o papel do GLP-1 na conectividade intrínseca do cérebro em pacientes DM2, dados de ressonância magnética funcional (RMf) de redes do estado de repouso relevantes para o comportamento alimentar foram analisados em dois estudos. Em ambos, todas as imagens foram adquiridas após um jejum noturno (8-12 horas). O estudo 1 teve como meta investigar o efeito agudo do bloqueio de GLP-1 na conectividade funcional. Foram adquiridas imagens de RMf durante o estado de repouso, em dois dias separados, de 20 pacientes DM2 sem complicações e 20 controles saudáveis, primeiro sob infusão de solução salina e, posteriormente, sob a infusão de antagonista do receptor de GLP-1. Já o estudo 2 teve como objetivo investigar, em pacientes DM2, se haveria diferenças na conectividade intrínseca, quando comparados os tratamentos com agonista do GLP-1 liraglutida e com insulina glargina. Os mesmos pacientes DM2, participantes do estudo 1, foram tratados, em ordem aleatória, por 12 semanas com liraglutida e por 12 semanas com insulina glargina. Os dados de RMf em estado de repouso foram coletados antes do início do tratamento, após 10 dias e após 12 semanas. As análises de neuroimagem foram corrigidas para múltiplas comparações com o Family-wise error, as correlações foram feitas com coeficiente de correlação de Pearson. Os resultados do estudo 1 mostraram que, durante a infusão da solução salina, pacientes DM2 apresentaram maior conectividade comparados a controles na ínsula esquerda e opérculo, relacionada à maior perda de peso, mediada pelo agonista de GLP-1 após 10 dias e 12 semanas. Além disso, a conectividade foi maior em

pacientes DM2 versus controles no polo frontal, córtex frontal medial, no giro cingulado anterior e no giro paracingulado, a qual se correlacionou com menor perda de peso, mediada por agonista de GLP-1, após 10 dias (todos $P_{FWE} < 0,05$). Não houve efeito da infusão do antagonista do receptor de GLP-1 ou do tratamento com agonista de GLP-1, na conectividade (todos $P_{FWE} > 0,05$). Em conclusão, a conectividade basal em estado de repouso mostrou estar relacionada à mudança de peso, mediada pelo agonista do GLP-1, com maior conectividade frontal correlacionando com menos perda de peso durante o tratamento com agonista do GLP-1, enquanto maior conectividade na ínsula esquerda, correlacionou com maior perda de peso, mediada pelo GLP-1, indicando relação entre a conectividade intrínseca dessas redes e o efeito de perda de peso do tratamento com GLP-1.

Palavras-chave

Diabetes tipo 2; peptídeo como glucagon-1; GLP-1; conectividade; redes do estado de repouso.

Abstract

Machado, André Sena; Landeira-Fernandez, Jesus (Advisor). **Central Nervous System Response to satiety hormones: a study of magnetic resonance imaging**. Rio de Janeiro, 2022. 103p. Tese de Doutorado – Departamento de psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonist is used for the treatment of type 2 diabetes (DM2) as it improves glycemic control, reduces appetite and body weight. It is also related to altered brain responses to food stimuli, but its effects on intrinsic brain connectivity are unknown. With the goal of better understanding GLP-1's role in the intrinsic brain connectivity of DM2 patients, functional resonance imaging (fMRI) data of resting-state networks relevant for eating behavior was analyzed in two studies. In both, all images were acquired after an overnight fast (8-12 hours). Study 1 aimed to investigate the acute effect of GLP-1 blockade on functional connectivity. On two separate days, fMRI data was acquired from 20 DM2 patients and 20 healthy controls, first under saline infusion and thereafter under GLP-1 antagonist infusion. Study 2 aimed to investigate, in DM2 patients, if there were any between treatment differences in intrinsic connectivity when comparing GLP-1 receptor agonist liraglutide with insulin glargine. The same DM2 participants in study 1 were thus treated in random order for 12 weeks with liraglutide and insulin glargine, fMRI data was collected at the start of treatment, after 10 days and after 12 weeks. Study 1 results showed that, during saline infusion, DM2 patients had greater connectivity compared to controls in the left insula and operculum, which related to greater GLP-1 mediated weight-loss after 10 days and 12 weeks. Also, connectivity was greater in DM2 patients versus controls in the frontal pole, frontal medial cortex, anterior cingulate and paracingulate giry, which related to less GLP-1 mediated weight-loss after 10 days (all $P_{FWE} < 0.05$). There was no effect on connectivity for GLP-1 antagonist, and no long-term differences between treatments (all $P_{FWE} < 0.05$). In conclusion, baseline resting-state connectivity was shown to be related to GLP-1 mediated weight-change, with greater frontal connectivity relating to less weight loss during GLP-1 treatment, while higher left insula connectivity correlated to greater weight loss

during GLP-1 treatment, indicating a relationship between baseline intrinsic connectivity in these regions and weight loss during GLP-1 treatment.

Keywords

Type 2 diabetes; glucagon-like peptide-1; GLP-1; connectivity; resting state networks.

Sumário

1. Introdução	16
1.1. Diabetes Mellitus Tipo 2 e obesidade – Apresentação clínica ..	18
1.1.1. Regulação glicêmica, uma breve perspectiva dos hormônios peptídicos e seu papel na ontogênese da diabetes	19
1.2. Neuroimagem	20
1.2.1. Usando imagens de ressonância magnética funcional para entender ação do GLP-1 no cérebro de pacientes com diabetes tipo 2.....	21
1.2.2. Redes do estado de repouso – Obesidade e DM2	22
1.3. As redes alvo de investigação	24
1.3.1. Rede Córtex cingulado anterior e órbito-frontal	27
1.3.2. Rede dos Gânglios Basais e Tálamo.....	30
1.3.3. Rede de Saliência.....	32
1.3.4. Rede Executiva Central	34
1.3.5. Rede Modo Padrão.....	36
1.4. Investigando o papel do GLP-1 no SNC, o projeto maior e a origem dos dados	37
1.5. Hipóteses	39
2. Objetivos	41
3. Materiais e métodos.....	42
4. Resultados	49
5. Discussão	59
6. Conclusão.....	63
7. Contribuições	64
8. Referências bibliográficas	65
9. Apêndice	77

Lista de figuras

Figura 1. Esquema mostrando o relacionamento entre a ativação das redes executiva central, modo padrão e de saliência.	26
Figura 2. Rede do córtex cingulado anterior e órbita-frontal (ACC-OFC)	27
Figura 3. Rede dos gânglios basais bilaterais e tálamo (BG).....	30
Figura 4. Rede de Saliência	32
Figura 5. Rede Executiva Central (<i>Central Executive Network</i> , CEN)	34
Figura 6. Rede Modo Padrão (<i>Default Mode Network</i> , DMN)	36
Figura 7. Esquema apresentando desenho experimental do estudo 1 ...	43
Figura 8. Fluxograma do desenho experimental do estudo 2	44
Figura 9. Fluxograma mostrando da criação de imagens delta	48
Figura 10. Vista esquemática das análises de voxels	52
Figura 11. Gráfico de barras mostrando diferenças entre os grupos na linha de base	54
Figura 12. Gráfico de dispersão das correlações.	57

Lista de tabelas

Tabela 1. Características clínicas e correção de movimento de pacientes e controles	51
Tabela 2. Coordenadas, localização e intensidades dos voxels de maior intensidade para cada cluster.....	53
Tabela 3. Características clínicas de pacientes obesos com DM2 antes e durante o tratamento	56

Lista de abreviações

ACC	Córtex Cingulado Anterior
ACC-OFC	Rede Córtex cingulado anterior e córtex órbito-frontal
BG	Rede Gânglios Basais
CEN	Rede Executiva Central
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMN	Default Mode Network (rede modo padrão)
GLP-1	Peptídeo similar ao glucagon tipo 1
HbA1c	Hemoglobina glicada
ICA	Análise de componentes Independentes
IMC	Índice de Massa Corporal
NaCl	Cloreto de sódio (solução salina 0.9%)
OFC	Córtex órbito-frontal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCC	Córtex Cingulado Posterior
RM	Ressonância Magnética
RMf	Ressonância Magnética Funcional
sACC	Córtex cingulado anterior subgenua
SNC	Sistema Nervoso Central
TEPT	Transtorno de estresse pós-traumático
TDAH	Transtorno de Déficit de atenção e hiperatividade
NAcc	Núcleo accumbens

Se você pode mudar sua mente, você pode mudar sua vida.

William James

1 Introdução

Obesidade e diabetes mellitus tipo 2 (DM2) são condições complexas. Apesar dos grandes avanços em nossa compreensão geral de suas bases metabólicas e fisiológicas, o papel do cérebro em ambas condições é pouco compreendido. Em ambos os casos, o sistema nervoso central (SNC) desempenha um papel importante na gênese da doença, pois regula a ingestão alimentar e o balanço energético, porém a natureza exata de sua contribuição não é clara, dificultando a formulação de intervenções comportamentais e farmacológicas eficazes em modular os hábitos de consumo alimentar (Alonge et al., 2021).

Além de iniciar o comportamento alimentar para manter a homeostase nutricional do corpo, o SNC também regula a alimentação hedônica, em grande parte, através de uma intrincada interação entre circuitos de recompensa e processos inibitórios. Estes, se desregulados (e.g. através de maior sensibilidade as propriedades recompensadoras do alimento, ou menor capacidade de inibir a alimentação hedônica), podem contribuir para obesidade (e conseqüentemente DM2), modulando padrões desadaptativos em diversos processos ligados a alimentação, como: antecipar a comida, selecionar o tipo e quantidade de alimento ingerido, sensação de prazer e saciedade provocada por se nutrir, entre outros (Alonso-alonso et al., 2015; Moreno-Lopez et al., 2016; Murray et al., 2014; Val-Laillet et al., 2015; van Opstal et al., 2019; Verdejo-Román et al., 2017; Volkow et al., 2008, 2011; Volkow & Wise, 2005; G. J. Wang et al., 2009b; Ziauddeen et al., 2015).

A perspectiva evolutiva e histórica da obesidade é uma janela para entender melhor como chegamos a esse ponto. Em nosso passado distante, especialmente o período pleistoceno, os alimentos eram escassos e o impacto da variação ecológica sobre o suprimento de alimentos era severo; assim, uma pressão comportamental que motiva os indivíduos a comer alimentos, independentemente da homeostase, (como devido ao alimento estar em sua linha de visão ou ser saboroso, ou ambos) confere uma vantagem adaptativa, pois permite que indivíduos comam mais alimentos, antes que eles não estejam mais disponíveis (Wells, 2006, 2012b).

Isso, por si só, não valeria muito, se não fosse a capacidade de usar o excedente de nutrientes para aumentar o peso corporal, pelo acúmulo de adiposidade, o que confere maior flexibilidade na conversão de nutrientes em energia (Wells, 2012b). No entanto, na sociedade moderna há uma oferta contínua de alimentos em muitas partes do mundo. Assim, a vantagem evolutiva de armazenar o excesso de nutrientes para uso posterior tornou-se, em muitos casos, uma desvantagem (Volkow & Wise, 2005; Wells, 2006, 2009, 2012b, 2012a).

Comparados com nossos ancestrais distantes, nosso suprimento de alimentos não é, significativamente, impactado pela variação ecológica, e, para maioria da população urbana, muito menos energia metabólica é gasta em atividades laborais, que irão resultar na aquisição de nutrientes. Além disso, houve uma mudança na composição da nossa dieta, que agora é composta por menos fibras e mais carboidratos e açúcares. De acordo com essa perspectiva, o aumento da obesidade acontece, em parte, devido a uma combinação de fatores genéticos e ambientais, que levam a respostas comportamentais menos apropriadas para essas circunstâncias modernas (Volkow & Wise, 2005; Wells, 2012b, 2012a; Wells & Siervo, 2011).

Ao contrário da adiposidade, não está claro que vantagem evolutiva os genes relacionados a DM2 podem ter conferido aos indivíduos, em nosso passado pré-histórico; no entanto, acredita-se que essa mesma relação dinâmica entre comportamento alimentar, manutenção de peso, genes, fatores ambientais e SNC, também contribua para o desenvolvimento da DM2 (Watve & Yajnik, 2007).

Assim, considerando o papel fundamental que o SNC tem, na regulação alimentar, na manutenção do balanço energético e do peso corporal, o SNC tornou-se um alvo de pesquisa promissor, para aqueles que buscam estudar como as alterações cerebrais se relacionam com o comportamento alimentar e manutenção do peso em distúrbios, como obesidade e DM2. Técnicas de neuroimagem, como ressonância magnética (RM), permitiram a investigação não invasiva da estrutura e atividade do cérebro, e pesquisadores mapearam áreas do cérebro que respondem à avaliação, antecipação e consumo de alimentos. Além disso, muitas alterações na atividade e estrutura do cérebro foram detectadas associadas a ambas as condições (Macpherson et al., 2017; Parsons et al., 2021).

O objetivo desta tese é utilizar dados obtidos previamente em um estudo anterior, parte de um esforço maior para entender o efeito do peptídeo como glucagon-1 (GLP-1) no SNC de participantes obesos e com DM2 (ten Kulve et al., 2016). Neste caso, especificamente, relações entre a conectividade intrínseca de redes do estado de repouso, e alterações no peso corporal promovidas pelo tratamento com agonista do GLP-1, um promissor agente terapêutico no tratamento de DM2.

1.1

Diabetes Mellitus Tipo 2 e Obesidade – Apresentação clínica

O sobrepeso e a obesidade são inferidos pelo índice de massa corporal (IMC), sendo o sobrepeso um IMC superior a 25 kg/m² enquanto a obesidade é definida por um IMC superior a 30 kg/m². As pessoas obesas correm maior risco de hipertensão e geralmente apresentam níveis mais elevados de colesterol no sangue, estando em risco de problemas cardiovasculares, respiratórios, hepáticos e da vesícula biliar, além de ter maior risco de impotência, câncer (10% de todas as mortes de câncer em fumantes são devidas à obesidade) e doenças musculoesqueléticas (como artrite) (Kopelman, 2007; Sun et al., 2022; The World Health Organization, 2017).

A diabetes tipo 2 é uma doença crônica, que afeta o metabolismo da glicose, na qual a insulina, hormônio utilizado para permitir a captação de glicose pelas células, não é suficientemente produzida pelo pâncreas ou pode estar ocorrendo uma intolerância (insensibilidade), que resulta em menor resposta do corpo aos seus efeitos, resultando no acúmulo de glicose no sangue; essas concentrações, acima do normal, podem ter sérias consequências para a saúde do organismo; como nos olhos, rins, nervos, além de aumentar o risco de problemas cardiovasculares. É a principal causa de infecções e amputações de membros inferiores nos países desenvolvidos no mundo (Sun et al., 2022).

Medicamentos que regulam o metabolismo da glicose, como metformina, insulina e agonistas do GLP-1, são capazes de mitigar problemas relacionados a níveis elevados de glicose, enquanto mudanças na dieta e medicamentos que

reduzem o nível de colesterol podem controlar esse problema. Da mesma forma, existe uma vasta gama de medicamentos para lidar com a pressão arterial elevada (Sun et al., 2022).

Embora o excesso de peso e DM2 sejam distintos, acredita-se que o aumento da prevalência de ambas as condições esteja inexoravelmente ligado, pois 90% dos pacientes com DM2 apresentam IMC superior a 23 kg/m² e indivíduos obesos apresentam maior taxa de distúrbios do metabolismo da glicose (a questão central da DM2), com estudos mostrando uma associação entre o acúmulo de gordura abdominal e a resistência à ação da insulina (Kopelman, 2007).

De fato, um dos maiores desafios na área da saúde na era moderna tem sido o crescimento endêmico da prevalência de obesidade e diabetes tipo 2. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos (39% da população global com 18 anos ou mais) estavam acima do peso, dos quais 650 milhões (13%) eram obesos (The World Health Organization, 2017). Em 2021, havia cerca de 537 milhões de adultos vivendo com diagnóstico de diabetes; se as tendências atuais de aumento da prevalência persistirem, esse número chegará a quase 783 milhões até 2045 (Sun et al., 2022).

1.1.1

Regulação glicêmica, uma breve perspectiva dos hormônios peptídicos e seu papel na ontogênese da diabetes

A insulina, produzida pelas células beta do pâncreas tem, como principal função, promover a absorção de glicose na corrente sanguínea pelas células do fígado, lipídicas e ósseas que, por sua vez, vão converter essa glicose em glicogênio ou triglicerídeos (principal componente da gordura corporal). As células betas são especialmente sensíveis ao nível de glicose no sangue, usando níveis baixos como sinal para a produção e liberação de insulina (Sonksen & Sonksen, 2000).

O glucagon, por sua vez, é um hormônio peptídico, produzido nas células alfa do pâncreas, que atua convertendo o glicogênio armazenado no fígado em glicose. Aumentando a concentração de glicose e ácidos graxos na corrente sanguínea, o pâncreas o produz, quando a concentração de glicose no sangue é

considerada baixa (Habegger et al., 2010). A diabetes mellitus, caracterizada pela hiperglicemia (excesso de glicose no sangue), é hoje dividida em dois tipos. O tipo 1 ocorre devido a uma reação autoimune, que ataca as células beta, produtoras de insulina, podendo ocorrer de forma abrupta e repentina, independente de fatores ambientais de risco (Atkinson et al., 2014).

O tipo 2, objeto de estudo da tese, não ocorre devido a um processo autoimune; nele, a destruição de células beta não é tão pronunciada quanto no tipo 1; na DM2, ocorre um acúmulo de amiloides nos sítios pancreáticos, que atrapalha sua anatomia e fisiologia; a patogênese da DM2 não é bem entendida, mas a redução da população de células beta, da função secretória de insulina das células betas sobreviventes e resistência à ação da insulina, em tecidos periféricos, foram identificados como componentes importantes, na formação do quadro crônico (Chatterjee et al., 2017).

O GLP-1 é uma incretina produzida pelas células L nos intestinos e é liberada durante o consumo de alimentos. Os agonistas do receptor de GLP-1 agem imitando os efeitos do GLP-1, aumentando a secreção de insulina e inibindo a liberação de glucagon, em resposta aos níveis de glicose, promovendo a saciedade. Assim, auxiliando no controle dos níveis de glicose e provocando a perda de peso (Gautier et al., 2008).

1.2 Neuroimagem

A literatura contém vários exemplos de anormalidades na estrutura e função do cérebro de pacientes obesos e com DM2. Essas alterações foram detectadas em estudos com imagens geradas por aparelhos de RM, que permitem a investigação estrutural (massa, volume, forma) e funcional (atividade e conectividade) do SNC, de forma não invasiva.

Por exemplo, investigações estruturais em pacientes obesos mostraram diminuição na espessura cortical, de matéria cinzenta, no giro frontal esquerdo, médio e inferior direito (incluindo a ínsula), cerebelo, e no giro pré-central e córtex temporal medial esquerdos, enquanto a espessura cortical era maior no Cúneo esquerdo, giro frontal medial e occipital esquerdos e no corpo caloso (Herrmann et

al., 2019). Também foram evidenciadas reduções de espessura cortical no córtex órbito-frontal (OFC) em indivíduos obesos (Walther et al., 2010).

Investigações funcionais mostraram pacientes com DM2, apresentando maior ativação da ínsula, OFC e gânglio basal, como resposta a imagens de alimentos, comparando a imagens neutras (Macpherson et al., 2017).

Tipicamente, a ressonância magnética funcional tem sido utilizada para dois tipos de investigação, em resposta a um determinado estímulo ou tarefa (conhecida como *task-based*), utilizada, por exemplo, para identificar regiões relacionadas a uma determinada tarefa ou função, ou para investigar a atividade cerebral no 'estado de repouso', que consiste na ausência de estímulos e tarefas específicas, em que o indivíduo é instruído a apenas descansar, enquanto as imagens são adquiridas pelo aparelho (Raichle et al., 2001). Neste trabalho, a segunda abordagem será utilizada.

1.2.1

Usando imagens de ressonância magnética funcional para entender ação do GLP-1 no cérebro de pacientes com diabetes tipo 2

O GLP-1 afeta o SNC de várias maneiras, como o aumento da função no hipocampo, aumento na aquisição e intensidade da aversão gustativa condicionada, da ansiedade, da náusea ou mal-estar visceral, diminuição do valor hedônico do alimento, diminuição do valor motivacional (recompensa) dos alimentos, da quantidade e frequência do consumo alimentar e dos níveis gerais de atividade motora (Bloemendaal et al., 2007; Eren-Yazicioglu et al., 2021; Kinzig et al., 2002, 2003; van Bloemendaal, ten Kulve, et al., 2014; Vrang & Just, 2010).

Acredita-se que o GLP-1 atue no cérebro, promovendo a saciedade e suprimindo a ingestão de alimentos, através dos receptores GLP-1, que foram encontrados no hipotálamo, no hipocampo, no tálamo, no estriado (putâmen e caudado), no córtex parietal, e no globo pálido e medula (Alvarez et al., 2005; Farr et al., 2016; Zheng et al., 2015). A obesidade tem sido associada a uma menor responsividade do SNC, ao consumo de alimentos palatáveis em áreas de recompensa, como o núcleo caudado e o putâmen, e a um aumento da resposta do córtex gustativo (ínsula, opérculo) a estímulos visuais de alimentos e à antecipação do consumo de alimentos palatáveis (Stice et al., 2008).

Além disso, as respostas cerebrais a estímulos visuais de alimentos, na amígdala e na ínsula, foram maiores em pacientes obesos com DM2, em comparação com controles magros (van Bloemendaal, IJzerman, et al., 2014). Juntos, esses resultados mostram que a obesidade está associada a uma resposta embotada ao consumo de alimentos e a uma maior resposta à antecipação de destes, especialmente os palatáveis. Curiosamente, essa ativação cerebral elevada, relacionada a imagens de alimentos, foi diminuída pela infusão de exenatida (agonista dos receptores de GLP-1), enquanto a infusão anterior de um antagonista do receptor GLP-1 bloqueou, em grande parte, esse efeito (van Bloemendaal, IJzerman, et al., 2014).

Em resposta ao consumo de leite achocolatado, a ínsula e OFC mostraram menor ativação em pacientes com DM2, em comparação a controles magros, enquanto nesses controles, mas não em pacientes, o bloqueio dos receptores GLP-1 inibiu a ativação na ínsula bilateral (ten Kulve et al., 2016). Após 10 dias de tratamento com um agonista do receptor GLP-1, comparado ao tratamento com insulina glargina, houve aumento da ativação da ínsula e do núcleo caudado, em resposta ao leite achocolatado. Porém, de forma geral, após 12 semanas de tratamento, essas diferenças desaparecem (ten Kulve et al., 2016) e, essa divergência após 10 dias, sugere um papel fundamental, desempenhado pelo GLP-1, na regulação das respostas do SNC à antecipação e consumo de alimentos palatáveis.

1.2.2

Redes do estado de repouso – Obesidade e DM2

As redes em estado de repouso são as redes neurais, que são mais facilmente observáveis pois, para serem detectadas, basta que o sujeito descanse e não pense em nada específico, quando as imagens de RMf são adquiridas. A conectividade é uma medida indireta da organização cerebral por meio da detecção de grupos de regiões cuja atividade é temporalmente correlacionada, e dentro de redes do estado de repouso (e.g, Rede modo padrão (*Default Mode Network*, DMN), está relacionada a muitos processos cognitivos e demonstrou ser alterada em muitas doenças cerebrais e não cerebrais (Broyd et al., 2009; Damoiseaux & Greicius,

2009; Fox & Greicius, 2010; Gu et al., 2020; Manoliu et al., 2014; V. Menon, 2011; Nomi & Uddin, 2015; Sutcbasi et al., 2020).

Na obesidade, frequentemente se encontra maior conectividade no OFC e menor conectividade na ínsula (Parsons et al., 2021), com um estudo investigando gêmeos idênticos, discordantes no seu peso corporal, mostrando menor conectividade bilateral do putâmen no gêmeo mais pesado, que se correlacionou com maior ingestão de gordura em todos os gêmeos (Doornweerd et al., 2017), outro estudo em pacientes obesos observou maior ativação no putâmen dentro da rede de saliência, que se relacionou com maior lentidão mental (García-García et al., 2013), indicando uma importante relação entre conectividade e regulação do comportamento alimentar.

Na DM2, há diversos exemplos na literatura de pacientes apresentando conectividade reduzida ou alterada, em redes do estado de repouso, associadas ao funcionamento cognitivo, controle motor, processamento visual e emocional, incluindo regiões relacionadas à recompensa e saciedade, com relatos de pacientes DM2 apresentando menor conectividade na DMN, ínsula, no córtex cingulado posterior (PCC), maior conectividade no córtex cingulado anterior (ACC), pré-cúneo e na rede fronto-parietal. De forma geral, o achado mais consistente é conectividade funcional reduzida na DMN, que está associada a uma ampla gama de processos interoceptivos (Macpherson et al., 2017; Musen et al., 2012; Xia et al., 2017).

Apesar de haver uma ampla gama de estudos funcionais, investigando redes do estado de repouso e evidenciando alterações na conectividade funcional de pacientes DM2, a maioria dos estudos investigou a relação entre conectividade e medidas de declínio cognitivo (Chen et al., 2015; Cui et al., 2014; Macpherson et al., 2017; Y. F. Wang et al., 2016a). Ainda há muito a ser entendido a respeito de como alterações na conectividade se relacionam com comportamento alimentar e manutenção do peso corporal, em específico.

1.3

As redes alvo de investigação

Objetivando avaliar a relação entre a resposta ao tratamento com agonista do GLP-1 e conectividade funcional de pacientes DM2, quatro redes associadas à recompensa, saciedade e comportamento alimentar foram selecionadas para estudo. Uma rede frontal associada ao controle cognitivo e de recompensa, envolvendo o córtex cingulado anterior subgenual (sACC) e o córtex orbital frontal (OFC) denominada (ACC-OFC); uma outra associada à saliência, degustação, saciedade e recompensa abrangendo a ínsula e o ACC dorsal denominada rede de saliência; mais uma relacionada à regulação autonômica e digestão que cobre os gânglios da base e o tálamo, denominada BG; e por fim envolvendo atenção, cognição, controle executivo e memória abrangendo áreas fronto parietais no hemisfério direito chamada rede executiva central (*Central Executive Network*, CEN) (Laird et al., 2011; Smith et al., 2009).

A DMN também foi incluída por sua relevância em estudos de redes no estado de repouso, além de frequentemente apresentar alterações, na conectividade, em pacientes DM2 (Liu et al., 2019; Macpherson et al., 2017; Musen et al., 2012). Estudos tem evidenciado um relacionamento importante entre a rede de saliência, rede executiva central e rede modo padrão. A DMN se mostra predominante em processos interoceptivos (como teoria da mente), em contraste com a rede executiva central, que é ativada quando o SNC tem de lidar com tarefas relacionadas ao mundo externo (i.e., requerem atenção) (Buckner et al., 2008; Godwin et al., 2017; V. Menon, 2011; Tan et al., 2022).

Adicionalmente, tem sido evidenciado uma correlação negativa entre a ativação da DMN e da rede executiva central, salientando suas naturezas antagônicas (Greicius et al., 2003). Apesar dos mecanismos por trás da alternância entre essas duas redes não serem totalmente compreendidos, evidências crescentes de estudos de RMf têm sugerido que a rede de saliência tem um papel essencial em modular a mudança entre a cognição interoceptiva da DMN e a cognição exteroceptiva da rede executiva central (Goulden et al., 2014; V. Menon & Uddin, 2010; Molnar-Szakacs & Uddin, 2022; Sridharan et al., 2008).

Com base nesse arcabouço teórico, um modelo tríade foi formulado, que encara o funcionamento das redes executiva central, de saliência e DMN como centrais para explicar certos aspectos normais e patológicos da atividade cerebral (Beaty et al., 2018; Krönke et al., 2020; V. Menon, 2011; Nekovarova et al., 2014; Sha et al., 2019; Supekar et al., 2019).

É teorizado que a principal região responsável por essa função moduladora é o córtex insular anterior, pois, apresenta uma organização microestrutural especificamente adaptada para receber estímulos multissensoriais, tanto internos quanto externos. O seu perfil de ativação temporal apresenta, em uma ampla gama de tarefas, um padrão de respostas mais rápido que outras regiões cerebrais com as quais se comunica, incluindo o ACC, o que permitiria regular a ativação e desativação da rede executiva central e DMN através da triagem dos estímulos (Molnar-Szakacs & Uddin, 2022).

A teoria de Menon postula que: a combinação das propriedades dinâmicas e interdependentes destas três redes centrais podem explicar a grande maioria das doenças mentais, pois o funcionamento orquestrado desta sinfonia teria como propriedade emergente a teoria da mente, e em cada etapa desse processo, desregulações, lesões e disfunções podem ocorrer, as quais dependendo do seu lócus, intensidade e natureza, resultariam em ontogêneses psicopatológicas (B. Menon, 2019).

Dentro do arcabouço teórico do modelo triplo em que a rede de saliência modula a ativação anti-correlata da CEN e DMN, tem se evidenciado que alterações aberrantes no funcionamento dinâmico entre essas redes está associado a várias doenças cerebrais, como esquizofrenia, Alzheimer, Déficit de atenção, Transtorno Obsessivo Compulsivo (TOC), transtornos dissociativos, psicose, autismo, depressão, demência fronto-temporal e transtorno de ansiedade generalizado (Li et al., 2019; Manoliu et al., 2014; B. Menon, 2019; V. Menon, 2011; Nekovarova et al., 2014; Supekar et al., 2019).

Dentro desta perspectiva, até mesmo a obesidade faria parte dessa constelação de aflições, e poderia ser melhor explicada analisando alterações nas conexões entre essas redes centrais para o funcionamento saudável da mente. Um estudo que corrobora essa hipótese demonstrou que indivíduos com vício em comida apresentaram maior conectividade, comparados com controles, entre o tronco cerebral e o giro órbito-frontal, enquanto mulheres com vício em comida,

em contraste com homens na mesma condição, apresentaram maior conectividade na rede de saliência e menor conectividade entre a DMN e a CEN (Ravichandran et al., 2021).

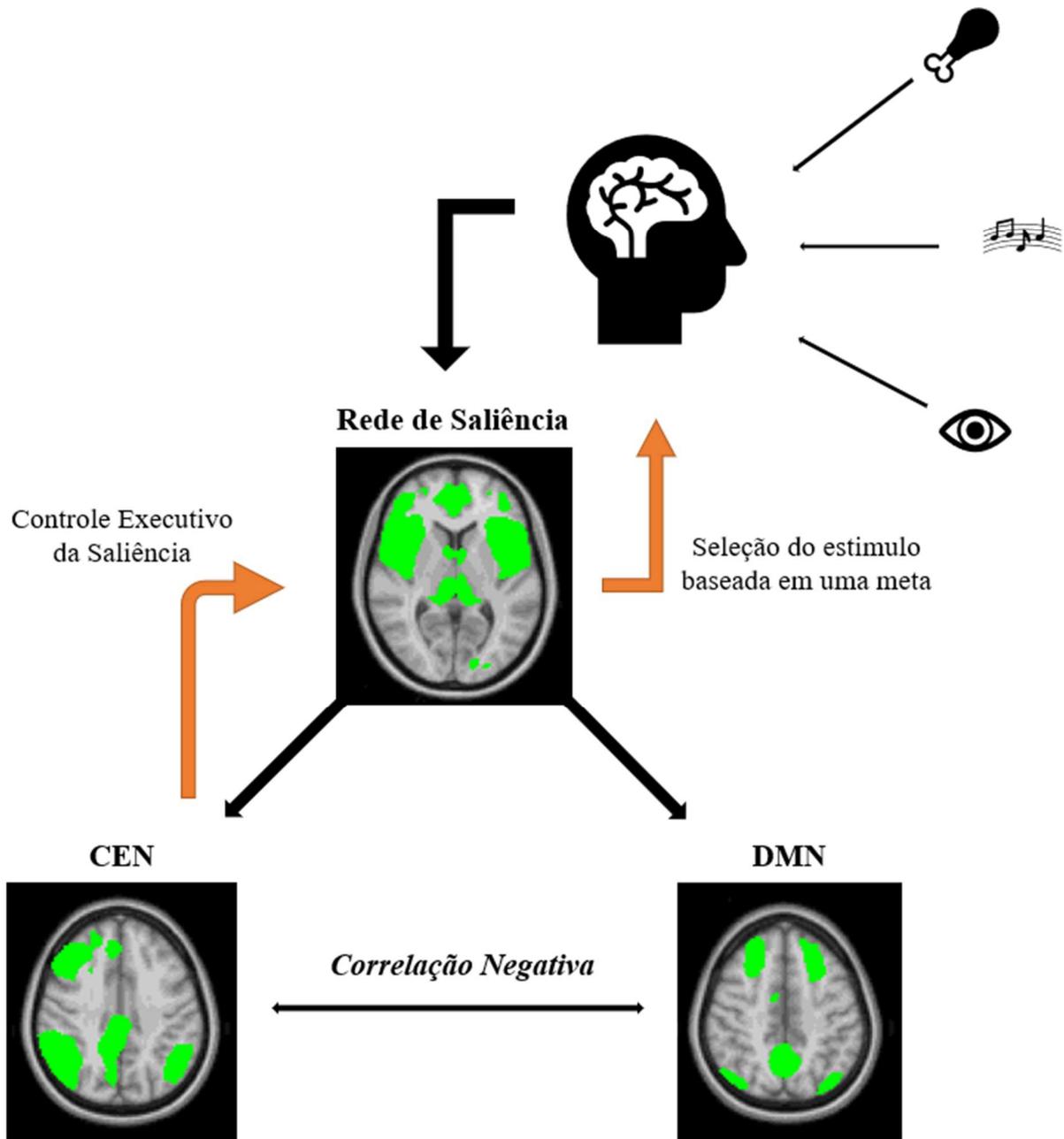


Figura 1. Esquema mostrando o relacionamento entre a ativação das redes executiva central, modo padrão e de saliência. Em preto, o caminho padrão, onde estímulos são captados pelo cérebro, passam pela rede de saliência e, dependendo de pré-disposições autonômicas, elícita a ativação da CEN ou da DMN. Em laranja, o caminho do controle executivo que, quando orientado por uma meta, altera o processo de triagem, de forma a ignorar ou salientar estímulos de acordo com sua relevância para a meta. A lateralidade das regiões apresentadas está invertida.

1.3.1

Rede do Córtex Cingulado Anterior Subgenual e Córtex Órbitofrontal (ACC-OFC)

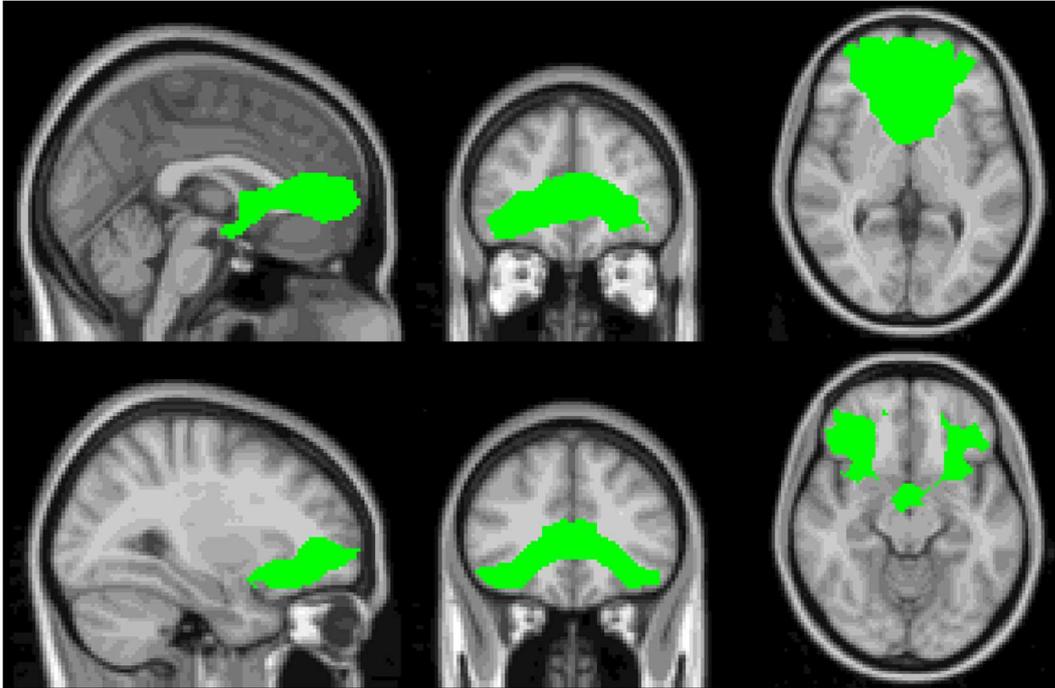


Figura 2. Imagem mostrando em verde a rede do córtex cingulado anterior e órbitofrontal; em específico dois cortes mostrando a máscara usada para representar esta rede nas análises realizadas. Lateralidade invertida.

Em contraste com a rede de saliência, DMN e CEN, esta rede, aqui denominada ACC-OFC, assim como muitas outras, tem um nome definido não por sua função, mas sim por suas regiões neuroanatômicas. Isso se deve a uma combinação de fatores; primeiramente, a gama de funções que as regiões presentes nesta rede abarcam são vastas e não necessariamente parte de um construto coeso capaz de ser representado com uma terminologia simples. Entretanto, ela consistentemente emerge compreendendo o sACC e o OFC em adição a áreas frontais; em virtude disso, a nomenclatura da rede ACC-OFC tem se consolidado a partir das regiões neuroanatômicas que a compõe (Laird et al., 2011; Uddin et al., 2019).

Neste sentido, esta rede frontal incluiu o sACC, OFC e áreas do córtex pré-frontal (PFC) anterior (Laird et al., 2011). O córtex pré-frontal e regiões parcialmente sobrepostas a ele (como áreas fronto-polares) não foram incluídos no nome da rede, pois, apesar de sua presença na mesma, o uso de ACC-OFC para esta

rede já é um fenômeno relativamente estabelecido e facilita a comparação de resultados.

Funcionalmente, há evidências mostrando que o PFC medial está envolvido com processos de recompensa, atenção e com relapso no uso de drogas; o PFC lateral com tomada de decisão, inibição comportamental, sinalização de expectativa de recompensa e triagem da atenção; o ACC se mostrou associado à atenção, processamento emocional e auto monitoramento; o OFC com inibição, sinalização de recompensas esperadas e sensibilidade a recompensas e punições; ilustrando a ampla gama de funções que são abarcadas pelas estruturas presentes na rede ACC-OFC (Perry et al., 2011).

Investigações *task-based*, identificaram a rede ACC-OFC estando associada a tarefas de olfato, gustação e emoção, com forte preferência por tarefas de recompensa e sede (Laird et al., 2011). Regiões frontais também se mostraram muito envolvidas em comportamentos compulsivos e modulando processos de adicção, que tem uma interseção com desregulação do comportamento alimentar, pois, estão ambos envolvidos na modulação do valor da recompensa e na inibição comportamental (Volkow et al., 2008, 2011; Volkow & Wise, 2005; G. J. Wang et al., 2009a).

Em concordância com estas investigações *task-based*, há diversos estudos nas redes do estado de repouso mostrando alterações na conectividade de regiões frontais em quadros patológicos e de obesidade. Indivíduos obesos consistentemente apresentam aumento na conectividade do OFC e redução na conectividade da ínsula (Parsons et al., 2021). Pacientes DM2 apresentaram maior conectividade no córtex frontal medial (Cui et al., 2015), ACC, giro frontal medial e no cerebelo (Cui et al., 2014).

No transtorno do espectro autista, pacientes apresentaram maior conectividade entre o ACC, OFC, giro frontal medial e paracingulado, núcleo accumbens (NAcc) e caudado. Maior conectividade entre o ACC e caudado foi associada com desativação das recompensas sociais, e entre o caudado e giro frontal medial direito com interesses mais restritos e comportamentos repetitivos, enquanto entre o paracingulado e NAcc, assim como entre o OFC direito e o NAcc, foram negativamente associadas com déficits sociais e comunicativos (Delmonte et al., 2013).

Um estudo investigando conectividade em adolescentes com Anorexia Nervosa encontrou correlação temporal reduzida entre a conectividade da CEN e do ACC, correlacionando positivamente com peso corporal (Gaudio et al., 2015). Em indivíduos com TOC, conectividade reduzida entre caudado e o PFC ventrolateral se associou com menor flexibilidade cognitiva; em contraste, à performance de comportamentos orientados a metas se relacionou com menor conectividade entre o putâmen e o PFC dorsolateral (Vaghi et al., 2017).

Um estudo investigando *internet gaming disorder* evidenciou diversas diminuições de espessura cortical em áreas frontais no grupo patológico, como ACC, OFC, PFC dorso lateral, e evidenciou menor conectividade entre elas e regiões de recompensa (como putâmen, tálamo, caudado e lobo temporal) (Jin et al., 2016). Usuários de heroína, apresentaram conectividade elevada entre o NAcc e tanto ACC quanto OFC, também entre OFC e amígdala, já o PFC mostrou conectividade reduzida com ACC e com o OFC (Ma et al., 2010).

Essas evidências demonstram um papel fundamental para a rede ACC-OFC na ontogênese de comportamentos associados a quadros patológicos, especialmente no que diz respeito ao controle inibitório e valor das recompensas.

1.3.2

Rede do Gânglio Basal bilateral e tálamo (BG)

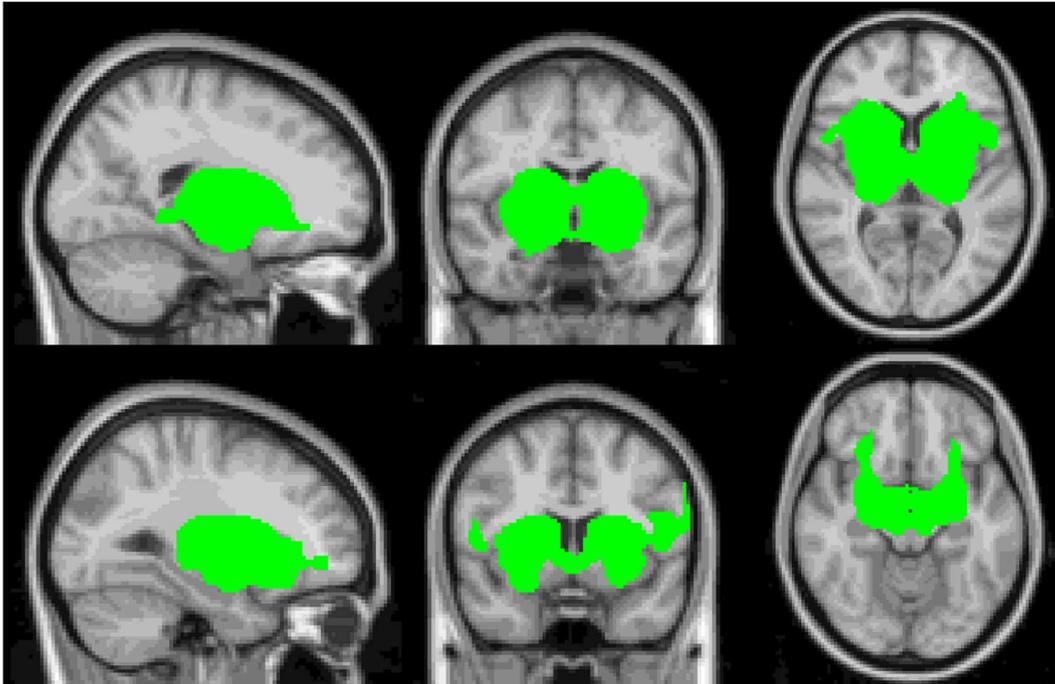


Figura 3. Imagem mostrando em verde a rede dos gânglios basais bilaterais e tálamo; em específico dois cortes mostrando a máscara usada para representar esta rede nas análises realizadas. Lateralidade invertida.

Similarmente a rede ACC-OFC, esta rede foi nomeada a partir de sua macroestrutura anatômica mais consistente e funcionalmente relevante, no caso os gânglios basais bilaterais e o tálamo. Contém o pallidum, putâmen, núcleo subtalâmico e substância negra, com uma menor extensão para o giro temporal transversal e área motora suplementar. É uma rede com grande simetria bilateral e, apesar de comparativamente explicar menor variância comparada a outras redes, ela é facilmente detectável e reproduzível, apresentando uma correlação positiva com a CEN e negativa com a DMN (Robinson et al., 2009).

Devido à proximidade entre o putâmen e a ínsula, a última, frequentemente é incluída nesta rede, tanto pelos métodos baseados em regiões selecionadas a priori (sementes), quanto pela segregação automática de componentes, neste caso (análise de componentes independentes (ICA)), optou-se por não restringir artificialmente os componentes, resultando na sua inclusão.

Esta rede se mostrou ligada a uma multitude de atividades distintas, como tarefas de recompensa, estímulos somatossensoriais (principalmente térmicos e

nociceptivos), funções interoceptivas (regulação da bexiga, sexualidade, fome e sede), processamento motor, condicionamento clássico, paradigma “*go/no-go*”, assistir obras cinematográficas, discriminação sintática e atraso de recompensa. Também teve associação com tarefas emocionais, sendo fortemente associada à ansiedade e olfato (Laird et al., 2011).

No contexto patológico, foi evidenciada maior ativação da ínsula, OFC e gânglios basais durante a visualização de imagens de alimento em pacientes DM2, com a última correlacionando, positivamente, com escores de alimentação emocional e maior apetite diante de um estímulo alimentar, e negativamente com adoção de dietas balanceadas (Chechacz et al., 2009), em gêmeos idênticos discordantes em peso, o gêmeo mais pesado apresentou menor conectividade no putâmen bilateral, correlacionando com maior consumo de gordura (Doornweerd et al., 2017).

E, exemplificando sua importância para o controle motor, em casos de distonia, foi evidenciado que a precisão temporal do apertar de notas do piano correlacionou com conectividade funcional no putâmen (Kita et al., 2018), e pacientes de Parkinson com dificuldade na fala apresentaram menor conectividade entre o putâmen esquerdo e o giro temporal superior esquerdo comparados aos sem impedimento (Manes et al., 2018).

1.3.3

Rede de Saliência

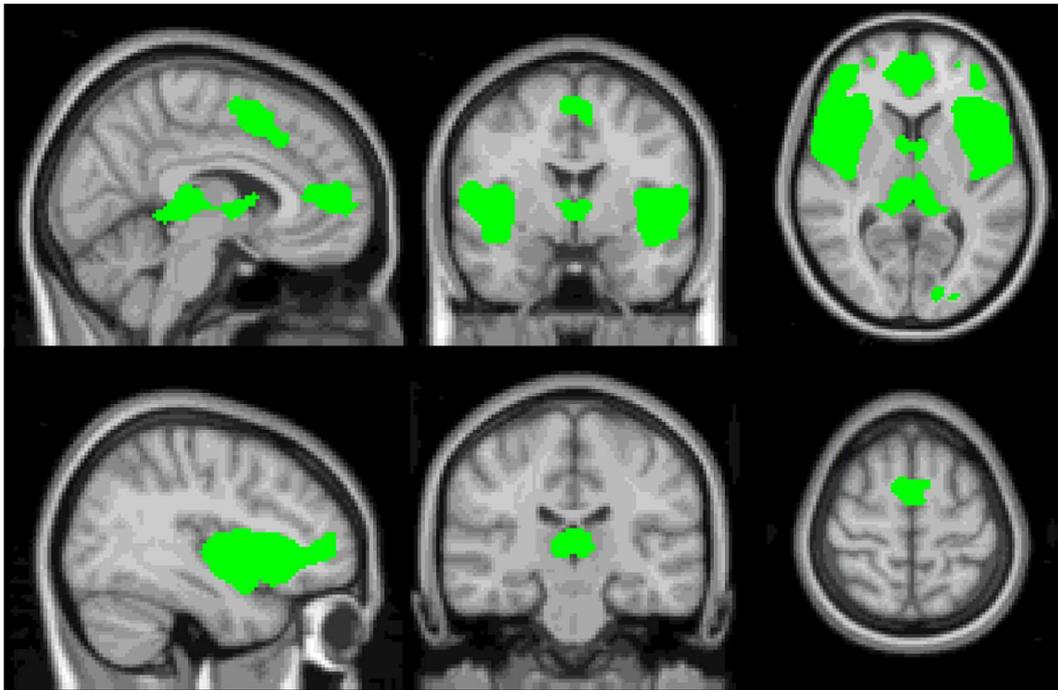


Figura 4. Imagem mostrando em verde a rede de saliência; em específico dois cortes mostrando a máscara usada para representar esta rede nas análises realizadas. Lateralidade invertida.

Esta rede recebeu esse nome por seu papel em selecionar, entre os múltiplos estímulos aos quais somos expostos a todo momento, quais são salientes e merecedores de atenção. Esse processo raramente é consciente, para fazer isso a rede de saliência combina informações da memória com estímulos autonômicos viscerais, e a partir de suas predisposições autonômicas o cérebro influencia o que é percebido como saliente (Goulden et al., 2014; Puglisi-Allegra & Ventura, 2012). Entretanto há instâncias onde este processamento de saliência é influenciado por processos atencionais e cognitivos *top-down* associados à execução de um comportamento orientado a uma meta (Corbetta et al., 2008).

Anatomicamente, inclui a ínsula bilateral, córtex fronto-insular adjacente, córtex cingulado anterior dorsal, opérculo frontal com eferentes subcorticais para amígdala, substância negra, área tegumentar ventral, tálamo dorso medial, hipotálamo e substância cinzenta periaquedutal (Laird et al., 2011; Seeley et al., 2007). Funcionalmente, essas regiões se mostraram associadas a processos envolvendo funções executivas, afetivas e interoceptivas, além de linguagem,

audição, dor e gustação. Também está relacionada a paradigmas que incluíam dissimulação, música e condicionamento clássico (Laird et al., 2011).

A ínsula, peça chave desta rede, mostrou-se relacionada ao comportamento alimentar em vários estudos. Pacientes DM2 obesos apresentaram uma maior resposta a imagens de comida na ínsula e amígdala, comparados a obesos normoglicêmicos, com agonista do GLP-1 reduzindo essa ativação nessas regiões em ambos grupos e no OFC (van Bloemendaal, IJzerman, et al., 2014). Uma maior ativação do putâmen na rede de saliência foi encontrada em pacientes obesos comparados a controles magros, correlacionando com lentidão mental (García-García et al., 2013).

Um estudo em gêmeos monozigóticos, investigou a conectividade antes e depois de uma refeição, tanto em obesos quanto em controles a conectividade da rede de saliência foi reduzida após a refeição, com gliose do hipotálamo mediobasal correlacionando com uma não redução da conectividade, fatores genéticos influenciaram a conectividade pré- e pós-refeição, mas não a intensidade da mudança (Sewaybricker et al., 2020)

Comparados com controles saudáveis, pacientes com DM2 sem prejuízo cognitivo apresentaram maior conectividade no córtex fronto-insular esquerdo, na ínsula anterior direita e no putâmen, enquanto aqueles com prejuízos cognitivos apresentaram menor conectividade nos giros frontal medial e inferior direitos, e comparando pacientes DM2 com e sem prejuízos, os com prejuízos apresentaram menor conectividade córtex fronto-insular esquerda (D. Zhang et al., 2021).

1.3.4

Rede Executiva Central (CEN)

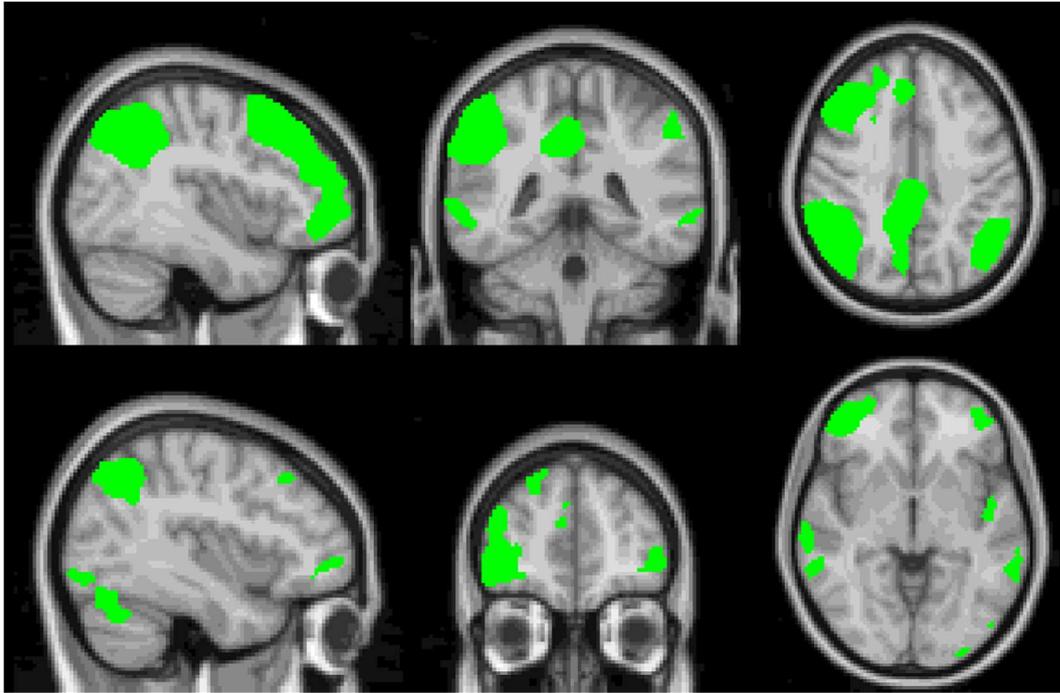


Figura 5. Imagem mostrando em verde a rede executiva central; em específico dois cortes mostrando a máscara usada para representar esta rede nas análises realizadas. Lateralidade invertida.

A rede executiva central, do inglês *Central Executive Network* ou CEN, é uma rede associada a tarefas que envolvam metas e estímulos exteroceptivos, ou seja, aquilo que está além do corpo. Anatomicamente compreende o giro frontal inferior e temporal superior, parte do córtex frontal (córtex dorsolateral pré-frontal), e o córtex parietal (principalmente a porção posterior). Funcionalmente, ela está associada a vários processos cognitivos, como raciocínio, atenção, inibição e memória (Laird et al., 2011). Mostrando preferência para tarefas relacionadas a atraso de recompensa e atenção auditória dividida. Alterações na conectividade funcional de pacientes DM2 foram detectadas nesta rede (Macpherson et al., 2017; Yang et al., 2016; Y. Zhang et al., 2016).

A atividade física está associada a conectividade intrínseca desta rede, com uma correlação negativa entre sedentarismo e conectividade da CEN tendo sido evidenciada, enquanto atividade física, apresentou uma correlação positiva (tanto no seu vigor quanto na sua duração). Também foi observada uma correlação

positiva entre índices de atividade física (passos por minuto) e conectividade na DMN e na rede de saliência (Dion et al., 2021).

Menor conectividade entre a CEN e o cerebelo foi observada em pacientes com transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) quando comparados a controles expostos a um trauma, com essa diferença desaparecendo após tratamento com terapia de processamento cognitivo. Após a terapia os pacientes também apresentaram uma redução na conectividade da DMN, com conectividade nesta e na rede de saliência correlacionando positivamente com mudanças no afeto positivo e negativo, sintomas de TEPT e ruminação (Vuper et al., 2021).

Um estudo investigou o efeito de uma intervenção de atividade de dança ao longo de 6 meses em indivíduos sem problemas clínicos, os resultados mostraram que, comparados a controles, os participantes apresentaram aumento na conectividade do pré-cuneo, e maior conectividade entre a rede de saliência e a CEN (Balazova et al., 2021). Ao investigar, em obesos, o efeito de estimulação magnética transcraniana repetitiva, foi evidenciado uma maior perda de peso comparada a linha de base após 8 sessões, com a conectividade aumentando na CEN (Kim et al., 2019).

Pacientes com anorexia nervosa apresentaram maior conectividade no giro angular, associada a persistência da anorexia, e na ínsula anterior, associada a auto relatos de prejuízos na consciência interoceptiva (Boehm et al., 2014). Esses resultados diversos mostram o papel multifacetado da CEN, e indicam uma contribuição relevante do controle cognitivo para manutenção de peso e alimentação.

1.3.5

Rede Modo Padrão (DMN)

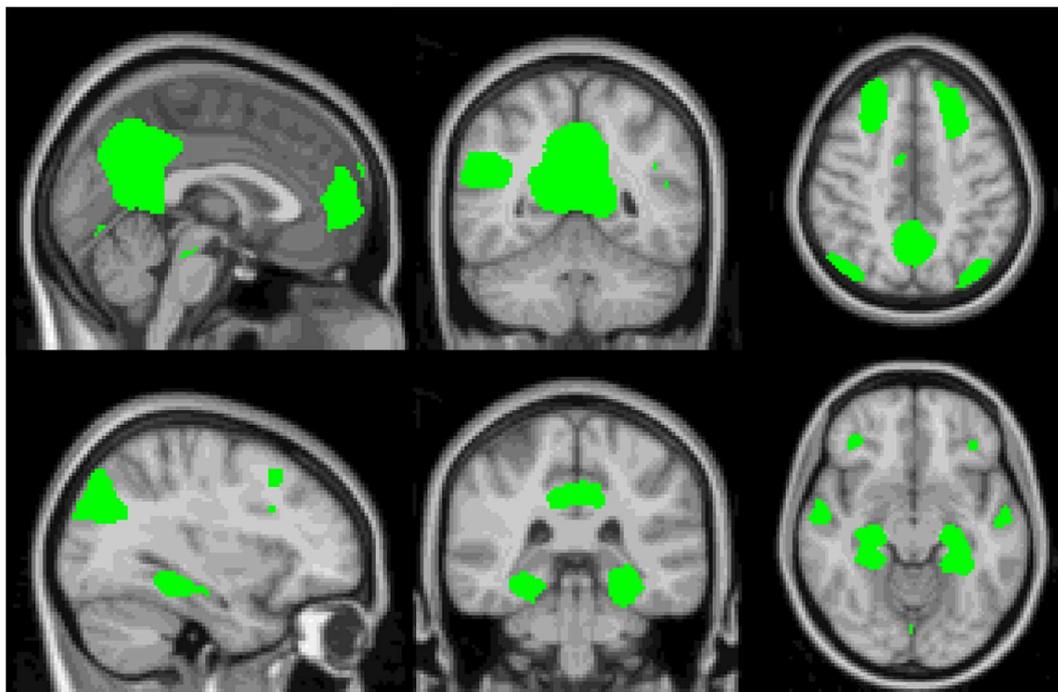


Figura 6. Imagem mostrando em verde a rede modo padrão; em específico dois cortes mostrando a máscara usada para representar esta rede nas análises realizadas. Lateralidade invertida.

Durante a aquisição de imagens de ressonância magnética, o estado de repouso representa o resultado de um conjunto de instruções simples: permanecer imóvel dentro do scanner, manter os olhos fechados, não dormir e não pensar em nada específico. A rede modo padrão, do inglês *Default Mode Network* (DMN), recebe este nome em virtude de ser uma rede interoceptiva que é detectada mais facilmente quando o indivíduo está neste estado, não realizando nenhuma atividade externa.

Devido a suas funções e seu padrão de ativação, ela foi interpretada como uma rede que se ativa na ausência de coisas externas convocando atenção e movimento, sendo assim representativa de um modo “padrão” que ocorre quando redes e estruturas orientadas a tarefas não são “necessárias” (Beckmann et al., 2005; Greicius et al., 2003; Raichle et al., 2001).

Anatomicamente, é composta pelo córtex pré-frontal medial, cíngulo posterior e pré-cuneo (Laird et al., 2011). Apesar de ter sido considerada como uma rede negativa a tarefas (Fox et al., 2005), o acumulo de evidencias mostrando seu perfil funcional não favoreceu essa nomenclatura. Ela se mostrou fortemente

associada a tarefas de cognição social e teoria da mente e, de forma menos pujante, é associada a processos de fixação, recordação episódica, cenas imaginadas e tarefas de desconto de atraso (Laird et al., 2011).

Em estudos com pacientes DM2, ela é um alvo promissor de investigação, pois, além de seu relevante papel integrando as três redes principais junto com a rede de saliência e CEN, ela tem consistentemente apresentado alterações na conectividade neste grupo, com estudos evidenciando menor conectividade funcional na DMN em pacientes DM2, frequentemente correlacionada com déficits cognitivos (Chen et al., 2015, 2016; Cui et al., 2015; Macpherson et al., 2017; Musen et al., 2012; Y. F. Wang et al., 2016a; Zhou et al., 2010).

Curiosamente existem estudos mostrando uma ativação elevada em pacientes DM2, que costuma aparecer quando pacientes são menos idosos, têm menos tempo de diabetes e ausência de declínio cognitivo, impulsionando a teoria de que a conectividade na DMN em DM2 pode apresentar um aumento que precede problemas cognitivos, e depois uma queda na medida em que este começa a se instalar (Liu et al., 2019). De forma geral, anormalidades em sua conectividade parecem estar associadas a diversos transtornos mentais e cerebrais, como, Alzheimer, declínio cognitivo, esquizofrenia, depressão, ansiedade, epilepsia, autismo e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (Broyd et al., 2009; V. Menon, 2011; Supekar et al., 2019).

Inserida no modelo triplo como uma das redes centrais para regular o funcionamento normal da mente humana, não é surpresa que ela esteja associada com tantas psicopatologias distintas.

1.4

Investigando o papel do GLP-1 no SNC, o projeto maior e a origem dos dados

A ínsula, inserida no presente estudo tanto na rede BG quanto na rede de saliência, tem se mostrado um alvo de investigação promissor tanto para investigação do comportamento alimentar em obesos de forma geral, como para os efeitos do GLP-1 no SNC em específico. Isso é bem exemplificado pelo estudo original que coletou os dados que são analisados nesta tese assim como por outros que fazem parte do projeto maior no qual ele foi inserido.

O estudo, que foi uma investigação *task-based*, avaliou, em pacientes DM2 obesos e controles magros, alterações na conectividade em resposta ao leite achocolatado. Na linha de base, pesquisadores evidenciaram que, comparados aos controles saudáveis, pacientes DM2 obesos apresentavam menor ativação na ínsula direita em resposta ao consumo desse leite. Em contraste, apenas no grupo controle, o bloqueio da transmissão de GLP-1 inibiu a ativação da ínsula em resposta ao achocolatado, mostrando um papel importante do GLP-1 na ínsula modulando o comportamento alimentar. Não obstante, ao comparar o tratamento entre agonista do GLP-1 e insulina no grupo DM2, foi evidenciado aumento na ativação da ínsula direita e no núcleo caudado após 10 dias de tratamento, efeito que desapareceu após 12 semanas (ten Kulve et al., 2016).

Tanto este citado acima, quanto o aqui presente nesta tese, estão inseridos em um estudo maior visando investigar a ação do GLP-1 no SNC em geral e na conectividade em específico. Durante a coleta de dados do estudo acima mencionado, além dos dados *task-based* acima citados, também foram coletados dados do estado de repouso antes do consumo de achocolatado, os quais nunca haviam sido investigados até o presente estudo.

Outro estudo inserido neste projeto, também investigando a ação do GLP-1 no SNC, evidenciou que pacientes DM2 obesos, e obesos normoglicêmicos, apresentaram maior resposta a imagens de alimentos na ínsula e amígdala, a qual foi reduzida em ambos grupos com agonista do GLP-1, acompanhada de reduções no putâmen, OFC e no consumo de alimentos (van Bloemendaal, IJzerman, et al., 2014).

Em uma investigação subsequente, pacientes DM2 acima do peso (IMC > 26kg/m²), comparados a controles magros, mostraram maior ativação na ínsula, amígdala e OFC em resposta a imagens de comida. Com ativação da ínsula bilateral reduzindo após consumo de alimento em ambos os grupos, porém de forma mais pronunciada no grupo DM2, essa redução foi impedida quando realizado o bloqueio de GLP-1 com antagonista (Jennifer et al., 2015).

Após 10 dias de tratamento com GLP-1, em comparação com insulina, pacientes DM2 apresentaram uma diminuição da resposta da ínsula e do putâmen ao visualizar imagens de comidas palatáveis (Jennifer et al., 2016). Não obstante, também foi evidenciado uma correlação positiva entre escores de alimentação emocional e respostas da ínsula, amígdala e OFC a imagens de comida (van

Bloemendaal, Veltman, ten Kolve, et al., 2015). Estes achados salientam a importância de estudar a relação entre alimentação, GLP-1 e SNC.

Para este fim, objetivou-se investigar a conectividade intrínseca de redes do estado de repouso, em contraste aos estudos de respostas a estímulos alimentares. Apesar de dados do estado de repouso terem sido coletados no estudo investigando a resposta do SNC ao consumo de leite achocolatado sob tratamento, e bloqueio, do GLP-1 (ten Kolve et al., 2016), apenas os dados *task-based* foram imediatamente investigados, cabendo a este trabalho analisar a conectividade do estado de repouso. Como o efeito do tratamento, e bloqueio, do GLP-1 na conectividade intrínseca, de pacientes DM2, nunca foi investigado, este estudo esclarecerá um aspecto importante do efeito do GLP-1 no SNC.

1.5

Hipóteses

Investigar como as redes selecionadas respondem ao GLP-1 permitirá entender melhor a relação entre a conectividade destas regiões e as mudanças no peso corporal e no comportamento alimentar. Assim, estudou-se a conectividade intrínseca destas redes em pacientes DM2, e em controles saudáveis, na linha de base e durante o bloqueio agudo da transmissão de GLP-1; subsequentemente, o efeito do tratamento com agonista do GLP-1 e com insulina na conectividade de pacientes DM2 foi investigado.

Esta investigação pode ajudar a esclarecer o papel sistêmico do GLP-1 na organização da atividade cerebral, relacionada ao comportamento alimentar, algo que nunca foi investigado no estado de repouso em pacientes DM2. Para tanto, foram investigados dados de RMf em estado de repouso, obtidos em estudo anterior que investigou as respostas cerebrais a imagens de alimentos e ao consumo de alimentos palatáveis durante o tratamento com GLP-1 e durante bloqueio da transmissão de GLP-1 em uma amostra de pacientes DM2 e controles saudáveis (ten Kolve et al., 2016).

Com base em investigações anteriores, feitas em redes de estado de repouso nos pacientes DM2, foi levantada a hipótese de que a conectividade de linha de base seria menor em pacientes DM2, em comparação com controles, de regiões relacionadas ao comportamento alimentar como a ínsula, e também na DMN que,

consistentemente, apresenta conectividade diminuída em pacientes DM2. Adicionalmente foi hipotetizado que a infusão de antagonista do receptor de GLP-1 reduziria a conectividade da ínsula em controles, mas não em pacientes DM2.

Além disso, os efeitos de 10 dias e 12 semanas do tratamento com agonista de GLP-1, em comparação ao tratamento com insulina glargina, na conectividade intrínseca, foram investigados. Com base nos resultados encontrados ao investigar a resposta à imagens de alimentos palatáveis e ao consumo de leite achocolatado, foi hipotetizado que a conectividade funcional intrínseca aumentaria em regiões relacionadas à alimentação (como a ínsula) após o tratamento com GLP-1, comparada ao tratamento com insulina glargina, enquanto a conectividade nas regiões frontais, associadas à recompensa não seria afetada devido a não ser uma região associada à presença de receptores GLP-1 (Farr et al., 2016).

2 Objetivos

Esta tese teve como objetivo investigar o efeito que o GLP-1 causa na conectividade intrínseca de redes, relacionadas ao comportamento alimentar, em pacientes DM2, algo que nunca foi investigado.

Para este fim, com base na literatura apresentada, dois estudos foram formulados com objetivos distintos, mas convergentes. No estudo 1, objetivou-se investigar diferenças na conectividade de pacientes DM2 e controles saudáveis na linha de base e durante o bloqueio dos receptores de GLP-1.

O estudo 2 teve como meta investigar, em pacientes DM2, diferenças de conectividade entre o tratamento com agonista do GLP-1 e insulina, no curto e longo prazo. Em ambos, relacionaram-se diferenças de conectividade (entre grupos ou tratamentos) com mudanças no peso e no comportamento alimentar, promovidas pelo tratamento com agonista do GLP-1.

3 Materiais e métodos

Aspectos éticos

O estudo (NCT 01363609; ClinicalTrials.gov) foi realizado em conformidade com a Declaração de Helsinque e aprovado pelo Comitê de Ética Médica do centro médico da Vrije Universiteit em Amsterdam. Todos os participantes forneceram consentimento informado por escrito (ten Kulve et al., 2016).

Participantes

A amostra foi composta por 20 pacientes DM2 com sobrepeso ou obesidade e 20 indivíduos magros saudáveis pareados por idade e sexo. Os critérios gerais de inclusão foram idade entre 40 a 65 anos, destros, peso corporal estável (sem alterações de IMC > 5% nos últimos 3 meses) e as mulheres precisavam estar na pós-menopausa. Para pacientes com DM2, apenas o tratamento com metformina ou derivados de sulfonilureia eram permitidos e a hemoglobina glicada (HbA1c) deveria estar entre 42 – 69 mmol/mol (6,0 – 8,5%).

Caso o tratamento incluísse sulfonilureias, seu uso foi descontinuado 4 semanas antes do estudo, continuando com metformina normalmente. Indivíduos magros precisavam ter um IMC abaixo de 25 kg/m² e ser normoglicêmicos (níveis de glicose plasmática em jejum abaixo de 5,6 mmol/l e abaixo de 7,8 mmol/l, duas horas após um teste oral de tolerância à glicose de 75g).

Os critérios de exclusão incluíram qualquer história de abuso de substâncias, distúrbios psiquiátricos e alimentares, doenças neurológicas, cardiovasculares, renais ou hepáticas, malignidades, uso de agentes psicotrópicos, como glicocorticoides e incapacidade de realizar exames de ressonância magnética (ten Kulve et al., 2016).

Protocolo estudo 1

Todos os exames de RMf em estado de repouso foram adquiridos após um jejum noturno (8-12 horas). Tanto os controles saudáveis quanto os participantes com DM2, passaram pelo procedimento de aquisição de imagens, durante uma infusão de NaCl (solução de cloreto de sódio a 0,9%) ou antagonista do receptor de GLP-1 exendina9-39 (Bachem; Clinalfa products, Bubendorf, Suíça) a uma taxa de 600 pmol/kg/min em ordem aleatória usando uma bomba de infusão adequada para uso em sala com blindagem magnética (bomba MRIdium 3850 MRI IV, Iradimed, Winter Park, EUA).

Essas infusões iniciaram 2 horas antes, e, estavam em andamento durante a varredura de RM. As varreduras durante a infusão de solução salina foram usadas para comparar a conectividade inicial entre os grupos. Os exames durante a infusão de solução salina e exendina9-39 foram utilizados para a interação entre grupo e tipo de infusão (ten Kulve et al., 2016).

		1	2
		Pacientes DM2	Controles saudáveis
A	Infusão de Salina (NaCl)	1A	2A
B	Infusão de antagonista do GLP-1 Exendina9-39	1B	2B

Figura 7. Esquema demonstrando o desenho experimental do estudo 1, para cada grupo (DM2 (1) e Controles (2)) sessões de aquisição de imagens foram realizadas em duas condições (infusão de NaCl (A), e de antagonista do GLP-1 Exendina9-39 (B)). Os retângulos representam a interseção entre as variáveis grupo e infusão sob a qual aquisição de imagem foi realizada.

Protocolo estudo 2

Apenas pacientes com DM2 foram incluídos. Esta parte foi um estudo de intervenção randomizado, cruzado, avaliando o efeito da insulina glargina e liraglutida (agonista do receptor de GLP-1) na conectividade funcional intrínseca. A dose inicial de insulina foi de 10 IU por dia, monitorando a glicose em jejum para escalar a dosagem de acordo com o algoritmo *treat-to-target* (Bunck et al., 2011); para o tratamento com liraglutida, a dose diária inicial foi 0,6 mg, escalando até 1,8 mg por dia ao final da segunda semana se bem tolerado (ten Kulve et al., 2016).

Cada paciente DM2 passou, em ordem aleatória, em ambos os tratamentos, por um período de 12 semanas, com desmame de 12 semanas entre os tratamentos. A ordem do tratamento foi determinada por uma randomização de quatro blocos. Para investigar as diferenças de curto e longo prazo, entre os tratamentos, cada paciente foi submetido a uma ressonância magnética basal antes do início do tratamento, aos 10 dias e às 12 semanas. A cada visita, eram realizadas medidas antropométricas, coleta de sangue e oferta de buffet de almoço ad libitum.

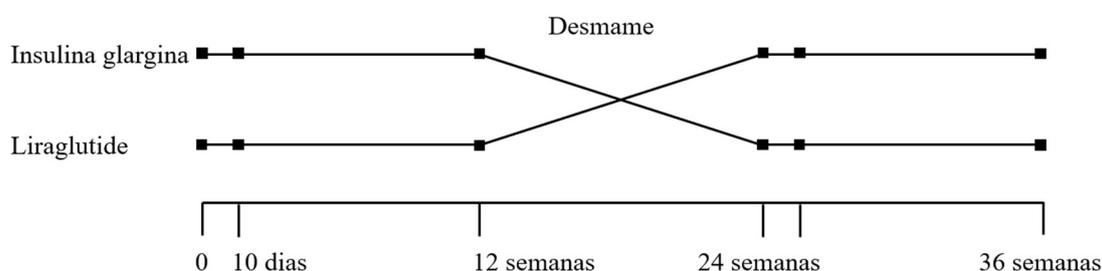


Figura 8. Fluxograma exemplificando desenho experimental do estudo 2, onde o mesmo grupo de pacientes DM2 passou pelos tratamentos com insulina e agonista do GLP-1 liraglutida de forma cruzada. Os quadrados representam momentos onde foram realizadas sessões de aquisição de imagem.

Aquisição das imagens de ressonância magnética

Foi utilizado um scanner GE Signa HDxt de 3,0 Tesla com uma bobina de cabeçote Phased Array de 8 canais (General Electric, Milwaukee, WI, EUA). Para este estudo, uma sequência gradiente-eco de deterioração rápida (fast spoiled) 3D ponderada em T1 (FSGE, TR: 8,2 ms, TE: 3,2 ms, espessura de corte de 1 mm, 256 fatias, dimensões 172x256x256) foi usada para obter imagens estruturais.

Os dados de RMf em estado de repouso foram adquiridos com uma sequência de imagem ecoplanar (TR: 1800 ms, TE: 35 ms, ângulo de inclinação 80°, tamanho da matriz 64 x 64, tamanho do voxel 3 mm isotrópico, 34 cortes, 202 volumes). Durante a aquisição da RMf de estado de repouso, os participantes foram instruídos a manter os olhos fechados, não adormecer e não pensar em nada em particular (ten Kolve et al., 2016).

Pré-processamento de RMf

As imagens funcionais foram pré-processadas usando o RMFB Software Library (FSL 5.0.9) (<http://www.RMfb.ox.ac.uk/fsl>). As seguintes etapas de pré-processamento foram aplicadas a todas as imagens. Depois de descartar os dois primeiros volumes para permitir a ocorrência de um equilíbrio estável, os 200 volumes restantes foram corrigidos para movimento, tempo de aquisição entre fatias de corte (slice-timing correction), remoção do crânio e suavizados usando um kernel gaussiano de 6 mm. Em seguida, as imagens foram corrigidas para movimento excessivo com ICA-AROMA (Independent Component Analysis [based] Automatic Removal of Motion Artifacts). Este é um pipeline baseado em análise de componentes independentes para corrigir artefatos de movimento que contornam as principais limitações de métodos, como censura, despiking e remoção de tendências (Pruim et al., 2015).

Por fim, as imagens corrigidas para movimento foram filtradas, temporalmente, usando um filtro de remoção de baixas frequências de 150,0 segundos e vinculadas às imagens T1-FSGE de alta resolução de cada sujeito, usando, como parâmetro, limites espaciais e em seguida distorcidas não linearmente, para o espaço padrão MNI de 4 mm. A qualidade da digitalização, o pré-processamento e o registro foram verificados manualmente, em cada etapa do processo.

Devido a artefatos presentes em pelo menos uma das imagens, um participante controle foi excluído de toda análise de dados. Já no estudo 2, pelo mesmo motivo, não foi possível utilizar as imagens de um paciente DM2, entretanto, ele foi mantido como participante pois, apesar de excluído das análises estatísticas de voxels no estudo 2, ainda foi possível o uso de seus dados

antropométricos ao longo do tratamento para correlações com imagens obtidas no estudo 1.

As imagens pré-processadas de RMf foram, então, analisadas, usando o Group ICA of RMf Toolbox (Gift 3.0) do Medical Image Analysis Lab (MIALAB) (<http://mialab.mrn.org/software/gift/>). Primeiro, incluindo todas as imagens de pacientes DM2 e dos controles durante a infusão de NaCl e exendina9-39, uma análise de componentes independentes foi realizada com 20 repetições, para identificar padrões de conectividade em larga escala, na total população do estudo. Todos os dados foram concatenados em uma série agregada e depois reduzidos, através de análise de componentes principais. A estimativa de componentes de grupos independentes utilizou o algoritmo Infomax (Bell & Sejnowski, 1995).

O software ICASSO, parte do kit GIFT, foi utilizado para analisar a consistência das redes derivadas. A partir dessas redes de estado de repouso, quatro foram escolhidas, as quais incluíam regiões do cérebro, envolvidas em recompensa, saciedade e comportamentos relacionados à alimentação. Essas redes foram identificadas visualmente e, com base em suas correlações às redes apresentadas em (Laird et al., 2011) (<http://brainmap.org/icns>).

Estes foram o córtex cingulado anterior subgenuar e córtex frontal orbital (ou ACC-OFC; $r = 0.569$), a rede dos gânglios da base e do tálamo (ou BG; $r = 0.582$), a rede de Saliência ($r = 0.567$) e a rede executiva central (CEN, $r = 0.472$). Além disso, a rede de modo padrão (DMN; $r = 0.637$) foi adicionada, por sua importância, a estudos de estado de repouso.

Subsequentemente, foi feita uma regressão espaço-temporal, utilizando as máscaras geradas pelo ICA de todo o grupo, para criar redes espaciais e cursos temporais específicos, para cada sujeito. Finalmente, para obter valores comparáveis entre os sujeitos, cada imagem componente de sujeito e o curso de tempo foram convertidos em valores z. Testes t de uma amostra, com limiar de $P_{FWE} < 0,05$ corrigido com erro familiar (FWE), foram realizados em cada rede, para criar uma máscara, contendo todos os voxels que contribuíram para a rede, e essas máscaras foram utilizadas para as análises estatísticas subsequentes.

Análise estatística

As características de linha de base foram analisadas usando um teste t de amostra independente, qui-quadrado ou teste U de Mann-Whitney, se apropriado. As características do grupo DM2 no início, 10 dias e 12 semanas durante o tratamento com insulina e GLP-1, foram analisadas usando uma abordagem de equação de estimativa generalizada.

Todos os testes estatísticos de voxels foram realizados usando a ferramenta Permutation Analysis of Linear Models (PALM) versão alpha108 (ago/2017) (Winkler et al., 2014). O tempo do teste de permutação foi reduzido, adicionando opções de aceleração à linha de comando do PALM. Isso reduz a necessidade de um grande número de permutações (por exemplo, > 10.000), enquanto a precisão permanece comparável (Winkler et al., 2016).

Para todas as análises, foram usadas 5.000 permutações com opções de aceleração, pois isso fornece resultados semelhantes a 50.000 delas sem as opções de aceleração (Winkler et al., 2016). Os clusters foram gerados usando o Threshold Free Cluster Enhancement, que não requer a passagem de um tamanho mínimo de cluster. Para corrigir comparações múltiplas, foi usada a correção do Family Wise Error (FWE) (Alberton et al., 2020).

As diferenças locais na conectividade funcional, entre pacientes e controles na linha de base (ou seja, infusão de NaCl), foram testadas usando um teste t de amostra independente. Para testar a interação entre o grupo e o tipo de infusão, os exames de exendina9-39 foram subtraídos dos exames de NaCl e os exames delta foram submetidos a um teste t de amostras independentes. Todas essas análises foram corrigidas com base em; idade, sexo e pressão arterial sistólica. No caso de idade de pressão arterial, a correção foi feita subtraindo para cada indivíduo a média da amostra analisada de seu valor individual. Para sexo, foi atribuído valor 1 para mulheres e 0 para homens, a média resultante foi usada para subtrair desse valor inicial.

O segundo estudo testou a interação entre tempo e tratamento. Primeiro, para cada paciente DM2, foram criadas imagens delta, subtraindo, dentro do mesmo tratamento, os exames adquiridos na linha de base, daqueles obtidos após 10 dias e

12 semanas de tratamento, enquanto imagens obtidas após 10 dias foram subtraídas das obtidas após 12 semanas.

Em seguida, essas imagens delta das diferenças de tempo, ao longo de um mesmo tratamento, foram subtraídas de imagens delta do outro tratamento (em específico, imagens delta do tratamento com GLP-1 foram subtraídas das imagens delta do tratamento com insulina). Os arquivos subsequentes foram agrupados em um arquivo 4D, e analisados com teste t de uma amostra.

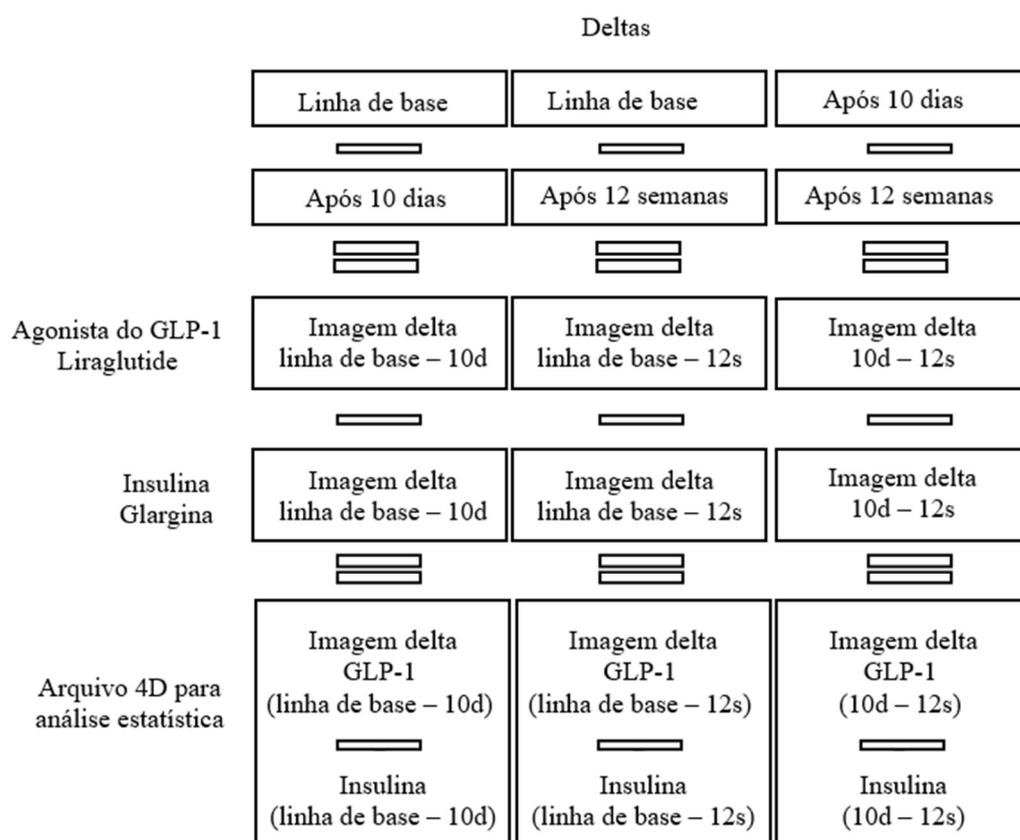


Figura 9. Fluxograma mostrando como foi realizada a criação de imagens delta que foram utilizadas para análise de dados comparando diferenças ao longo do tempo entre os tratamentos com agonista do GLP-1 e insulina. Cada coluna representa a criação de um arquivo delta distinto e subsequente análise estatística. Uma barra horizontal representa o sinal de menos, duas barras o sinal de igual.

As correlações entre as diferenças locais na conectividade funcional e IMC/peso foram analisadas usando as correlações de Pearson. Valores de $P < 0,05$ e $P_{FWE} < 0,05$ foram considerados, estatisticamente significativos. Os testes de voxel foram realizados usando PALM. Todos os outros testes foram realizados em SPSS v23 (IBM-SPSS, Chicago, IL, EUA).

4 Resultados

Características dos participantes

A Tabela 1 resume as características clínicas basais de ambos os grupos. Comparados aos controles, os pacientes com DM2 apresentaram maior peso, IMC, circunferência da cintura, glicemia de jejum e HbA1c (todos $P < 0,001$), e pressão arterial sistólica ($P = 0,002$). Quinze pacientes estavam em uso de medicações para redução de colesterol e 10 em medicação anti-hipertensiva, em contraste com nenhum dos controles (todos $P < 0,001$). O tempo de diagnóstico de DM2 foi, em média $7,8 \pm 1,1$ anos.

Conforme relatado anteriormente, houve uma redução significativa no peso corporal, ao longo de 12 semanas de tratamento com agonista de GLP-1, em comparação com insulina glargina ($\Delta -3,3$ kg vs. $\Delta +0,4$ kg, respectivamente, $P < 0,001$), circunferência da cintura ($\Delta -2,7$ cm vs. $\Delta +0,4$ cm respectivamente, $P < 0,001$), e HbA1c ($\Delta -7,9$ mol/mmol vs. $\Delta -2,4$ mol/mmol respectivamente, $P < 0,001$) (ten Kulve et al., 2016). Não houve efeitos estatisticamente significativos na pressão arterial, colesterol ou ingestão, durante o buffet de almoço (ten Kulve et al., 2016).

Conectividade funcional local

Os resultados de voxel são mostrados na Figura 1. A Figura 2 mostra a conectividade média (com desvio padrão) para cada rede, como um todo para cada grupo durante NaCl e infusão do antagonista de GLP-1 exendina9-39 (estudo 1, coluna esquerda) e para o grupo DM2, durante o tratamento com insulina e GLP-1 (estudo 2, coluna direita). As comparações entre os grupos durante a infusão de NaCl mostraram maior conectividade funcional em pacientes com DM2, em comparação com controles na rede ACC-OFC (valor z médio dos controles: $0,98 \pm 0,82$, valor z médio DM2: $2,04 \pm 1,14$, δ de Cohen: 1,06, $P_{FWE} < 0,05$). Este cluster compreendeu o polo frontal esquerdo, giro anterior, giro paracingulado e córtex frontal medial.

Na rede BG, os pacientes com DM2 mostraram maior conectividade na ínsula esquerda (valor z médio dos controles: $0,02 \pm 0,72$, valor z médio DM2: $1,02 \pm 0,72$, δ de Cohen: 1,38, $P_{FWE} < 0,05$). Por fim, na rede de saliência, pacientes DM2 mostraram conectividade elevada no córtex frontal esquerdo e opercular central, estendendo-se até a

ínsula (valor z médio dos controles: $1,69 \pm 0,68$, valor z médio DM2: $2,73 \pm 0,90$, δ de Cohen: 1,33, $P_{FWE} < 0,05$).

Não houve diferenças entre os grupos para a DMN nem na rede fronto parietal direita, nem houve agrupamentos estatisticamente significativos, de menor conectividade, no grupo DM2, em comparação aos controles ($P_{FWE} > 0,05$). Esses resultados foram independentes de idade, sexo e pressão arterial sistólica. Não houve interações estatisticamente significativas entre grupo e tipo de infusão (NaCl ou exendina9-39) ($P_{FWE} > 0,05$).

Diferenças na conectividade ao longo do tratamento

No estudo 2, não foram encontradas diferenças na conectividade ao longo do tempo, induzidas pelos tratamentos. Não houve interações significativas entre tempo (linha de base, 10 dias ou 12 semanas) e tratamento (GLP-1 ou insulina) ($P_{FWE} > 0,05$).

Tabela 1. Características clínicas e correção de movimento de pacientes e controles.

	Controles Saudáveis (n = 19)	Pacientes DM2 Obesos (n = 20)	Valor de P
Idade (anos)	56.3 ± 6.3	59.5 ± 4.1	0.085
Sexo, Homem/Mulher (n)	9 / 10	11 / 9	0.644
Peso (kg)	67.5 ± 9.4	95.4 ± 15.4	< 0.001
Índice de massa corporal (kg/m ²)	22.3 ± 1.5	32.0 ± 4.7	< 0.001
Circunferência do quadril (cm)	80.5 ± 7.1	108.9 ± 11.1	< 0.001
Pressão arterial sistólica (mmHg)	112.7 ± 16.2	128 ± 9.1	0.002
Pressão arterial diastólica (mmHg)	72.6 ± 11.5	78 ± 8.0	0.118
HbA1c (mmol/mol)	36.8 ± 1.75	56.1 ± 10.1	< 0.001
HbA1c (%)	5.5 ± 0.1	7.2 ± 0.9	< 0.001
Glicemia de jejum (mmol/L)	4.5 ± 0.5	8.4 ± 2.1	< 0.001
Duração da diabetes (anos)	-	7.8 ± 1.1	-
Medicamentos para baixar pressão (n)	0	10	< 0.001
Medicamentos para baixar colesterol (n)	0	15	< 0.001

Deslocamento de movimento absoluto

Antes do ICA-AROMA durante NaCl (mm)	1.001 ± 0.735	0.820 ± 0.518	0.373
Depois do ICA-AROMA durante NaCl (mm)	0.026 ± 0.017	0.030 ± 0.012	0.454
Antes do ICA-AROMA durante exendin9-39 (mm)	0.747 ± 0.569	0.842 ± 0.426	0.557
Depois do ICA-AROMA durante exendin9-39 (mm)	0.022 ± 0.011	0.027 ± 0.012	0.139

Os dados são apresentados como média ± D.P. Como não foram encontrados resultados significativos nas análises de imagem do estudo 2, o deslocamento absoluto destas não foi incluso.

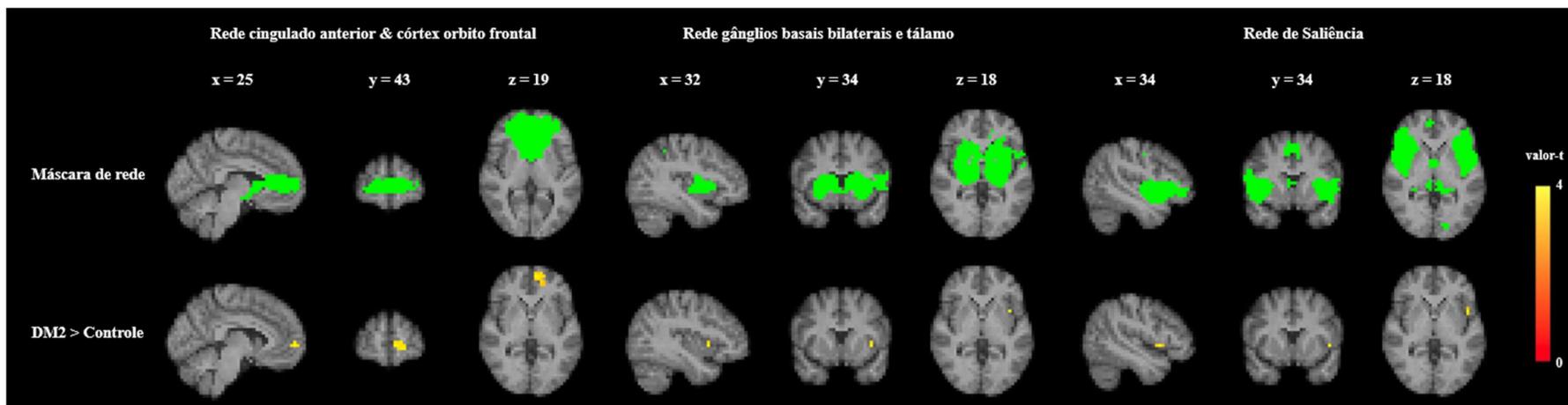


Figura 10. Vista esquemática das análises de voxels entre grupos na linha de base. O layout da rede é apresentado acima em verde. Logo abaixo, em gradiente que vai de vermelho (voxels com valor-t mais baixo) até amarelo (mais alto), são apresentados clusters onde há diferença estatisticamente significativa entre os grupos na linha de base. Todas diferenças encontradas foram no sentido de pacientes DM2 apresentando maior intensidade do que Controles. As coordenadas dizem respeito à fatia escolhida para representar as máscaras de rede nesta figura. Lateralidade invertida.

Tabela 2. Coordenadas, localização e intensidades dos voxels de maior intensidade para cada cluster de diferença significativa encontrado na comparação de linha de base (infusão de NaCl) entre pacientes DM2 e controles.

Máscara utilizada	Direção do efeito	Tamanho do cluster	Valor-t do voxel de maior valor no cluster	Valor-p corrigido FWE	Coordenadas MNI do voxel de maior intensidade			Localização de acordo com Atlas Harvard-Oxford para estruturas corticais
					X	Y	Z	Todos no hemisfério esquerdo
Rede ACC-OFC	DM2 > CO	26 voxels	3.616887	< 0.05	24	46	18	Polo frontal Córtex frontal medial Giro paracingulado Giro cingulado anterior
Rede BG	DM2 > CO	2 voxels	4.594144	< 0.05	32	34	18	Córtex Ínsular Córtex Opercular central & frontal
Rede de Saliência	DM2 > CO	3 voxels	4.411347	< 0.05	34	34	18	Córtex insular Córtex Opercular central & frontal Giro pré-central Giro frontal inferior, pars opercularis

ACC-OFC; Rede do córtex cingulado anterior e órbito-frontal. BG; Rede dos gânglios basais e tálamo. DM2; Pacientes com diabetes tipo 2. CO; Controles. A coluna localização representa regiões identificadas nos voxels presentes no cluster. P foi corrigido para o Family-wise error.

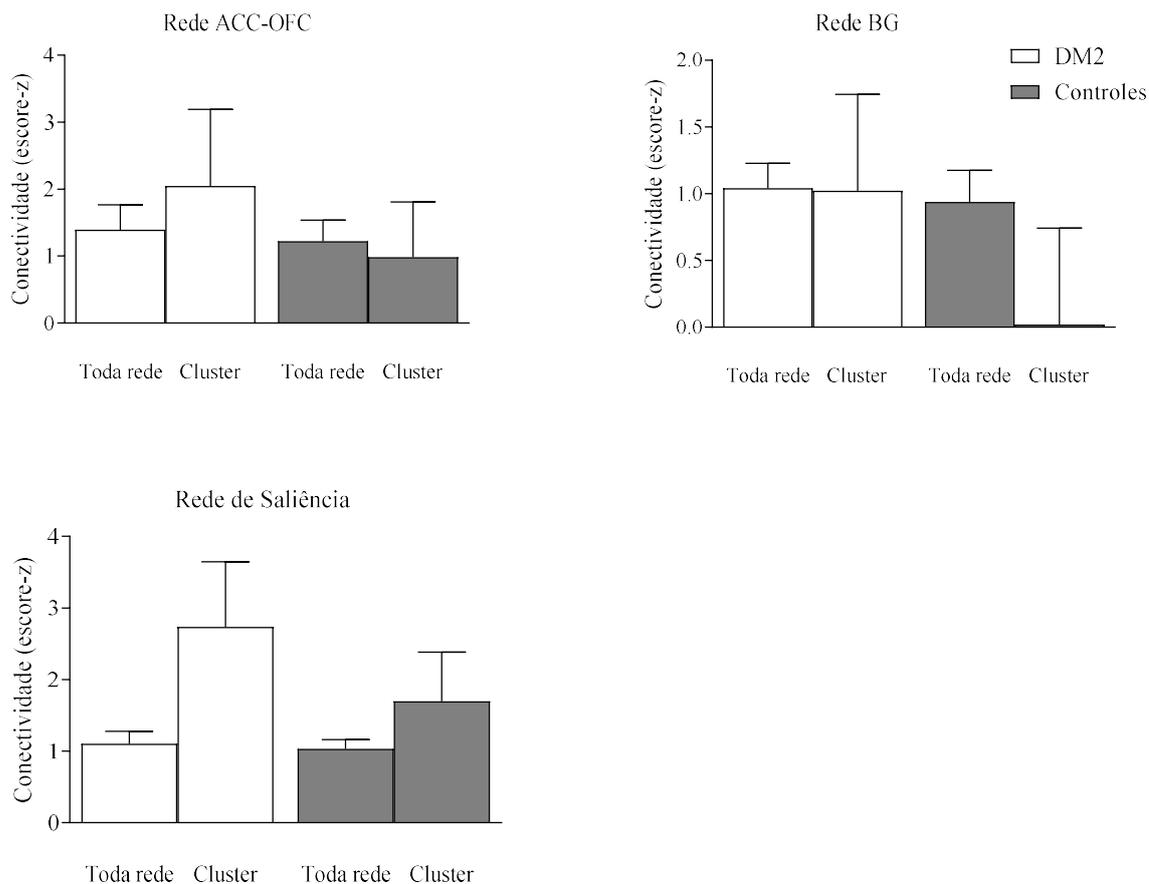


Figura 11. Gráfico de barras mostrando diferenças na linha de base entre grupos (durante infusão de NaCl), no eixo vertical escores z médios de conectividade com desvio padrão, no eixo horizontal, os grupos DM2 e controle, em duas instâncias de medição, a conectividade de toda a rede analisada, e a conectividade apenas no cluster onde diferenças significativas foram encontradas.

Correlações entre conectividade e variáveis biométricas

As correlações foram calculadas em todos os pacientes DM2, usando a conectividade média das regiões que apresentaram diferenças significativas, entre controles e pacientes DM2, e peso. Os gráficos de dispersão podem ser encontrados na Figura 3.

Maior conectividade de linha de base na parte frontal da rede ACC-OFC correlacionou com uma menor diferença no peso ($r = -0,458$, $P = 0,042$) entre o tratamento com insulina e GLP-1 após 10 dias. Isso indica que maior conectividade de linha de base nesta rede, está relacionada a menor redução de peso, promovida pelo GLP-1 em comparação com o tratamento com insulina.

Maior conectividade de linha de base na parte frontal inferior da rede de saliência correlacionou com maior diferença de peso ($r = 0,472$ $P = 0,036$), entre os tratamentos, após 10 dias. Também se correlacionou com uma maior diferença de peso entre os tratamentos após 12 semanas ($r = 0,446$ $P = 0,049$). Assim, maior conectividade de linha de base na rede de saliência foi relacionada a mais perda de peso, promovida pelo tratamento com GLP-1, em comparação com o tratamento com insulina.

Tabela 3. Características clínicas de pacientes DM2 obesos antes e durante o tratamento

Características dos pacientes	Linha de base		10 dias		12 semanas		Valor de P
	Insulina	GLP-1	Insulina	GLP-1	Insulina	GLP-1	
N = 20							
Peso (kg)	94.6 ± 15.8	95 ± 15	94.3 ± 15.7	93.9 ± 15.1	95 ± 15.1	91.7 ± 15.7	< 0.001
Índice de massa corporal (kg/m ²)	31.7 ± 4.7	31.8 ± 4.5	31.6 ± 4.7	31.4 ± 4.6	31.9 ± 4.6	30.7 ± 4.5	< 0.001
Circunferência da cintura (cm)	107.7 ± 11.1	107.7 ± 9.7	108.2 ± 10.7	107.7 ± 9.7	108.1 ± 10.8	105 ± 10.1	< 0.001
Pressão arterial sistólica (mmHg)	126.2 ± 8.2	127.2 ± 8.3	124.9 ± 10.8	124.5 ± 8.3	124.7 ± 11	123.0 ± 8.7	0.326
Pressão arterial diastólica (mmHg)	77.6 ± 8.3	77.4 ± 7.9	77 ± 7.3	76.7 ± 8.6	76 ± 8.1	76.2 ± 6.6	0.968
HbA1c (mmol/mol)	53.8 ± 8.2	55.1 ± 8.9	54.4 ± 9.1	54.3 ± 9.3	51.4 ± 7.6	47.2 ± 7.2	< 0.001
HbA1c (%)	7.07 ± 0.75	7.19 ± 0.81	7.13 ± 0.83	7.12 ± 0.5	6.85 ± 0.70	6.47 ± 0.66	< 0.001
Glicemia em jejum (mmol/L)	8.05 ± 1.77	8.31 ± 1.77	6.81 ± 1.27	6.02 ± 1.25	5.24 ± 1.10	6.16 ± 1.14	< 0.001
Colesterol total (mmol/L)	4.6 ± 1.5	4.2 ± 1.1	4.2 ± 1.2	3.9 ± 1.2	4.3 ± 1.1	4.0 ± 1.1	0.882
Triglicerídios (mmol/L)	1.78 ± 1.43	1.59 ± 0.67	1.40 ± 0.54	1.35 ± 0.55	1.41 ± 0.9	1.40 ± 0.68	0.637

Os dados são expressos como média ± D.P. Houve um valor ausente para colesterol total, HbA1c e triglicerídeos durante o tratamento com GLP-1 em 10 dias, e para glicemia de jejum na linha de base antes do tratamento com insulina e dois ausentes em 10 dias durante o tratamento com insulina. O valor de p apresentado é o resultado da equação estimada generalizada.

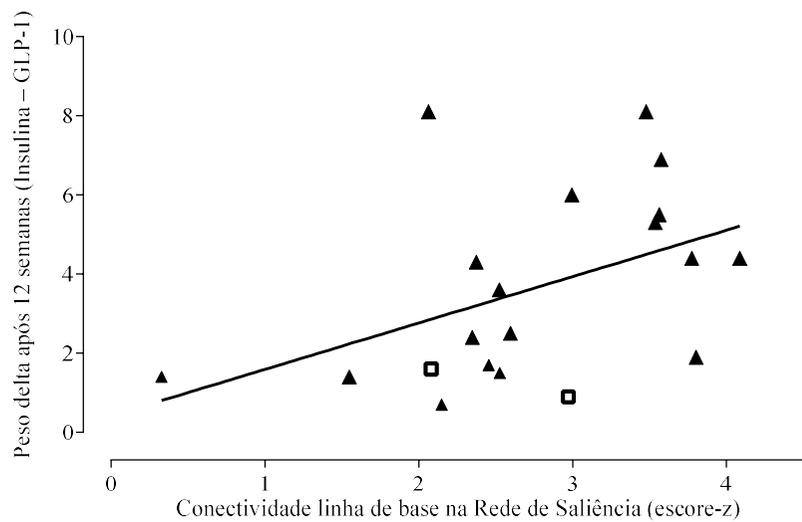
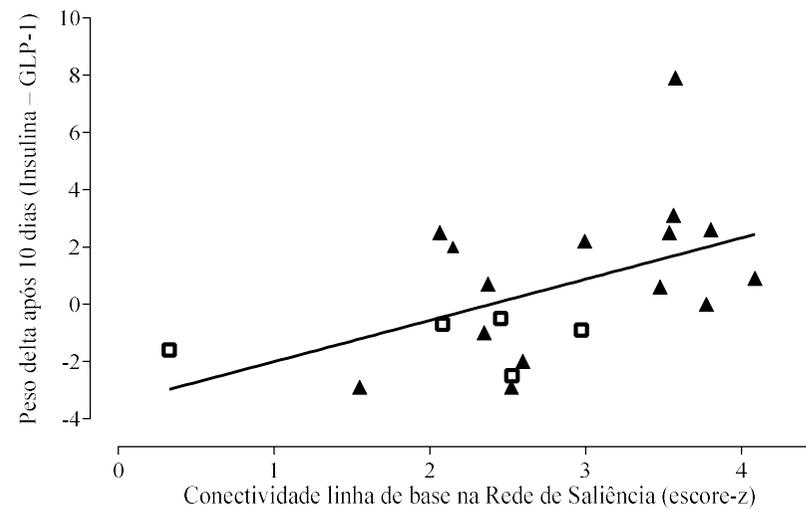
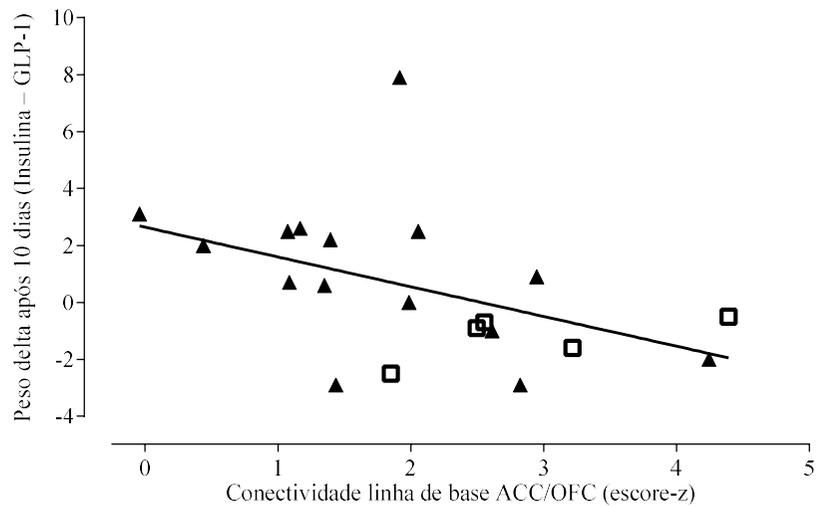


Figura 12. Gráfico de dispersão das correlações entre conectividade funcional basal em pacientes com DM2 e variáveis clínicas. ACC-OFC: rede do córtex cingulado anterior e córtex órbito-frontal; Rede de saliência: rede da ínsula e cingulado anterior. Os “respondedores” (indivíduos que perderam peso após 10 dias ou 12 semanas de tratamento com GLP-1 quando comparados com o peso inicial) receberam triângulos e “não respondedores” (aqueles que não perderam peso com o tratamento com GLP-1 em comparação com o valor inicial) foram atribuídos quadrados. Valores de peso são em kg.

5 Discussão

Nesta tese, foram investigados os efeitos do bloqueio de receptores GLP-1, e do tratamento no curto e longo prazo, com agonista do GLP-1, comparado ao tratamento com insulina em redes de estado de repouso, relacionadas à alimentação e saciedade, em pacientes DM2.

Na linha de base (infusão de NaCl), os pacientes com DM2 apresentaram maior conectividade nas redes ACC-OFC, BG e na rede de saliência em comparação a indivíduos saudáveis, sendo uma maior conectividade de linha de base da rede de saliência na ínsula esquerda e na parte frontal do opérculo relacionada a uma maior diminuição de peso, mediada pelo agonista de GLP-1 após 10 dias e após 12 semanas. Em contraste, maior conectividade de linha de base ACC-OFC frontal esquerda e no cíngulo anterior foi associada a menor diminuição de peso, mediada pelo agonista de GLP-1 após 10 dias.

O bloqueio do receptor de GLP-1 e o tratamento de curto e longo prazo com GLP-1, não alteraram os padrões de conectividade funcional, nesta amostra de pacientes com DM2, indicando, que as alterações no peso durante o tratamento, não foram acompanhadas por alterações de larga escala, na conectividade intrínseca das redes de estado de repouso investigadas. A conectividade da linha de base foi, no entanto, relacionada às mudanças de peso e consumo durante o tratamento com GLP-1, indicando que a conectividade de linha de base, durante o estado de repouso, está relacionada à perda de peso e às alterações no comportamento alimentar, induzidas pelo agonista do receptor de GLP-1.

A variabilidade individual, em resposta ao tratamento com agonista de GLP-1, não é um fenômeno totalmente compreendido. Indivíduos que perdem peso durante o tratamento com GLP-1 são denominados “respondedores” e aqueles que não o fazem, “não respondedores” (Schlögl et al., 2013; van Bloemendaal, ten Kulve, et al., 2014). Ao longo do tratamento com agonista de GLP-1, houve 15 respondedores após 10 dias e 18 após 12 semanas. Como pode ser visto na Figura 12, a maioria dos não respondedores apresentou valores médios de conectividade, com efeitos limitados na direção da correlação.

A ausência de alterações na conectividade, associadas ao tratamento, pode ter várias explicações. Pode ser que nem o GLP-1 nem a insulina tenham resultado em conectividade alterada ao longo de 12 semanas, ou que o tamanho da amostra não tenha sido suficiente para detectar tais alterações. Além disso, a conectividade entre essas redes, em vez da conectividade dentro delas, pode ter sido alterada. Por fim, as varreduras de RMf em estado de repouso, foram adquiridas apenas no estado de jejum, enquanto o GLP-1 é liberado em reação à ingestão de alimentos e estudos usando RMf, relacionados a tarefas, encontraram diferenças mediadas por GLP-1 após a ingestão de alimentos (ten Kulve et al., 2016; van Bloemendaal, IJzerman, et al., 2014; van Bloemendaal, Veltman, Ten Kulve, et al., 2015).

Maior conectividade da ínsula esquerda e do opérculo, durante a infusão de NaCl, foi encontrada em DM2, comparados aos controles, correlacionando-se com maior perda de peso durante o tratamento com GLP-1. Curiosamente, Bloemendaal evidenciou uma correlação positiva entre escores de alimentação emocional, e ativação em resposta a fotos de alimentos calóricos na ínsula esquerda de controles magros, em contraste, participantes obesos apresentaram essa correlação na ínsula direita, enquanto pacientes DM2 apresentaram essa relação no OFC inferior direito (van Bloemendaal, Veltman, ten Kulve, et al., 2015).

Isso sugere que a ativação da ínsula esquerda em resposta a alimentos palatáveis possivelmente está modulando um padrão menos patológico de alimentação emocional. Essas diferenças de resposta na antecipação do alimento, somadas a associação entre conectividade na ínsula esquerda e melhor resposta ao GLP-1, podem estar representando uma dicotomia entre um padrão mais autonômico de regulação alimentar, suscetível a ação do GLP-1, em contraste com um padrão mais hedônico, em que a atividade da região frontal é predominante em modular o comportamento alimentar, e não suscetível a ação do GLP-1 por não ser uma região com expressão de receptores do GLP-1 (Farr et al., 2016)

Ao contrário do que foi encontrado para maior conectividade da ínsula, maior conectividade frontal na linha de base foi associada a uma menor diminuição mediada pelo agonista de GLP-1 no peso e no consumo após 10 dias, e pacientes DM2 que não responderam aos efeitos de perda de peso do tratamento com agonista do GLP-1 não apresentaram valores de conectividade frontal baixos quando comparados com o resto da amostra.

Sugerindo que a maior conectividade frontal e cingulada anterior, encontrada no grupo obeso com DM2, pode ter consequências negativas para a perda de peso, indicando uma menor sensibilidade aos efeitos do GLP-1. Talvez por conta de uma predominância do critério hedônico no comportamento alimentar, em combinação com problemas no controle inibitório, que sobrepujaria o efeito de saciedade promovido pelo GLP-1. Possivelmente devido à menor expressão de receptores GLP-1 nas regiões frontais, enquanto a ínsula é uma região mais antiga, fortemente associada à saciedade, degustação e recompensa, é mais afetada por hormônios intestinais, com estudos indicando que até mesmo a flora bacteriana do intestino afeta sua conectividade funcional (Curtis et al., 2019).

Ao contrário de muitos estudos, nossa amostra não apresentou nenhuma alteração na conectividade da DMN. Entretanto, isso é condizente com a natureza da nossa amostra. Alterações na DMN consistentemente estão relacionados com medidas de declínio cognitivo (Chau et al., 2022; Cui et al., 2015; Y. F. Wang et al., 2016b), que é afetado pela duração da diabetes e idade dos pacientes (Liu et al., 2019; Yang et al., 2016) e muitos estudos incluem pacientes bem mais idosos com glioses diversas (Duinkerken et al., 2012; Ryan et al., 2016; Walther et al., 2010), e frequentemente com declínio cognitivo (Chau et al., 2022; Chen et al., 2016; Reijmer et al., 2010; Y. F. Wang et al., 2016b; Yang et al., 2016; J. Zhang et al., 2016).

Em contraste, nossa amostra não tinha nenhuma complicação psiquiátrica ou neurológica, nenhuma angiopatia, é comparativamente mais jovem que muitos dos pacientes com problemas cognitivos usados em outros estudos, e tem um tempo relativamente curto de diagnóstico de DM2 (< 10 anos); existem evidências crescentes de que a conectividade aumenta de forma compensatória nessa fase inicial, onde o quadro neurológico é subclínico (Liu et al., 2019; Saggat et al., 2017).

Há também a possibilidade de que essa divergência, ainda que condizente com nossa amostra, pode ser devido a diferenças nos métodos analíticos (por exemplo, análises de componentes independentes (ICA) versus análises baseadas em sementes). No presente estudo, o método ICA foi utilizado para estudar a conectividade, dentro de redes intrínsecas espacialmente distintas, enquanto uma análise, baseada em sementes, avalia a conectividade entre uma região semente selecionada a priori e outras regiões do cérebro.

Além de diferenças conceituais (ICA tem caráter mais exploratório, enquanto método de regiões semente tem caráter mais confirmatório), ICA não excluirá regiões relevantes para rede, enquanto os métodos de semente vão excluir tudo que não for relevante para as regiões selecionadas a priori, fazendo a comparação entre seus achados difícil; além disso, ICA é capaz de distinguir entre a conectividade intrínseca e a relacionada a tarefas, diferente dos métodos baseados em semente.

Ao decompor os dados em componentes estatisticamente independentes, o ICA permite comparações entre grupos de redes de estado de repouso, claramente segregadas. Nenhum outro método é tão poderoso na identificação de artefatos de movimento, ruído fisiológico e outros sinais irrelevantes, tornando este método ideal para investigar alterações na conectividade intrínseca de redes do estado de repouso (Joel et al., 2011). Entretanto, a popularidade das análises baseadas em sementes é maior do que ICA, o que diminui bastante a amostra de estudos que podem ser diretamente comparados a esse (Chau et al., 2022).

Este estudo possui algumas limitações. Primeiro, o tamanho da amostra é modesto. Esta é uma consequência da complicada parte da intervenção do estudo, que incluiu 2 períodos de tratamento de 12 semanas e um período de desmame de 12 semanas, e os muitos pontos de tempo com imagens de RM. Isso foi compensado pelo uso de um design de tratamento cruzado, beneficiando-se de mais potência nas medidas repetidas. Além disso, os efeitos pós-prandiais do GLP-1 na conectividade funcional em estado de repouso não foram medidos, e a sensibilidade ao tratamento com GLP-1 não foi diretamente investigada.

6 Conclusão

Foi evidenciada uma conectividade funcional elevada na ínsula e opérculo, em pacientes DM2, comparados aos controles, correlacionando em maior perda de peso e maior redução de consumo alimentar, mediada pelo agonista de GLP-1. Em contraste, maior conectividade cingulada anterior e frontal medial foi relacionada à menor perda de peso e menor redução de consumo mediada pelo GLP-1. Sugerindo uma relação entre a conectividade basal em estado de repouso e a perda de peso mediada pelo GLP-1 na obesidade e no DM2.

Essas alterações de conectividade na ínsula e no cingulado anterior possivelmente representam mecanismos distintos de organização compensatória da atividade cerebral, com maior conectividade na ínsula indicando, maior responsividade, e maior conectividade no cingulado anterior, menor responsividade aos efeitos terapêuticos do agonista do GLP-1.

Estudos futuros devem se concentrar em amostras maiores, visando os efeitos na conectividade em estado de repouso sob diversas condições que ampliem nossa compreensão sobre o papel do GLP-1 no funcionamento destas redes. É sugerido que se investigue a conectividade após a ingestão de alimentos, ingestão de glicose durante o bloqueio agudo de GLP-1, possíveis relações entre o tabagismo, uso de Cannabis, e a ação do GLP-1.

Outro caminho de investigação é usar análises baseadas em sementes para esclarecer um possível papel do GLP-1 na conectividade extrínseca, como entre a DMN e a rede de saliência, rede de saliência e ACC-OFC, e entre ACC-OFC e DMN. Também é sugerido que sejam realizadas investigações estruturais buscando relações entre alterações na estrutura cortical e a perda de peso mediada pelo GLP-1. Adicionalmente, a investigação de diferentes grupos etários, como adolescentes obesos, pode ser um caminho interessante para melhor entender como GLP-1 interage com a conectividade em indivíduos sem complicações.

Por último, certos quadros psicopatológicos, como transtornos de ansiedade, pânico, e transtorno de atenção e hiperatividade poderiam abrir janelas importantes para compreensão da ação do GLP-1 em diferentes áreas do sistema nervoso.

7 Contribuições

André Sena Machado realizou a análise de dados e escreveu o manuscrito. Eelco Van Duinkerken supervisionou a análise de dados. Jennifer S. ten Kulve participou da construção do desenho experimental do estudo e coletou os dados. Dick J. Veltman contribuiu com o desenho experimental. Liselotte van Bloemendaal participou do desenho experimental e ajudou com o recrutamento de pacientes. Jesus Landeira-Fernandez proveu a infraestrutura para a análise de dados. Frederik Barkhof participou no desenho do estudo e avaliou clinicamente todas as imagens de ressonância magnética. Richard G. IJzerman foi o principal responsável pelo desenho experimental e principal investigador do estudo maior. Michaela Diamant participou no desenho experimental, obteve financiamento parcial e era a principal investigadora do estudo maior antes de seu falecimento. Eelco e Richard são os guardiões designados dos dados, responsáveis por sua integridade e pela precisão de sua análise. Afiliação, titulação e mais detalhes sobre os colaboradores podem ser encontrados no artigo em preparação contido no apêndice.

Financiamento

O projeto maior ao qual este trabalho pertence, foi apoiado, em parte, por fundos da Novo Nordisk requisitados pelos investigadores, pago para o centro médico da Vrije Universiteit em Amsterdam através de Michaela Diamond. Frederik Barkhof é apoiado pelo NIHR biomedical research centre na UCLH. Os patrocinadores não tiveram nenhum papel na análise de dados ou em qualquer decisão relacionada a sua publicação.

Conflitos de interesse

O autor e colaboradores não tem nenhum conflito de interesse a declarar.

Referências bibliográficas

Alberton, B. A. V., Nichols, T. E., Gamba, H. R., & Winkler, A. M. (2020). Multiple testing correction over contrasts for brain imaging. *NeuroImage*, 216(March), 116760. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116760>

Alonge, K. M., D'Alessio, D. A., & Schwartz, M. W. (2021). Brain control of blood glucose levels: implications for the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 64(1), 5–14. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05293-3>

Alonso-alonso, M., Woods, S. C., Pelchat, M., Grigson, P. S., Stice, E., Farooqi, S., Khoo, C. S., Mattes, R. D., & Beauchamp, G. K. (2015). *Food reward system : current perspectives and future research needs*. 73(5), 296–307. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv002>

Alvarez, E., Martínez, M. D., Roncero, I., Chowen, J. A., García-Cuartero, B., Gispert, J. D., Sanz, C., Vázquez, P., Maldonado, A., De Cáceres, J., Desco, M., Pozo, M. A., & Blázquez, E. (2005). The expression of GLP-1 receptor mRNA and protein allows the effect of GLP-1 on glucose metabolism in the human hypothalamus and brainstem. *Journal of Neurochemistry*, 92(4), 798–806. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02914.x>

Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7)

Balazova, Z., Marecek, R., Novakova, L., Nemcova-Elfmarkova, N., Kropacova, S., Brabenec, L., Grmela, R., Vaculíková, P., Svobodova, L., & Rektorova, I. (2021). Dance Intervention Impact on Brain Plasticity: A Randomized 6-Month fMRI Study in Non-expert Older Adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(October), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.724064>

Beaty, R. E., Kenett, Y. N., Christensen, A. P., Rosenberg, M. D., Benedek, M., Chen, Q., Fink, A., Qiu, J., Kwapil, T. R., Kane, M. J., & Silvia, P. J. (2018). Robust prediction of individual creative ability from brain functional connectivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(5), 1087–1092. <https://doi.org/10.1073/pnas.1713532115>

Beckmann, C. F., DeLuca, M., Devlin, J. T., & Smith, S. M. (2005). Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1457), 1001–1013. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1634>

Bell, A. J., & Sejnowski, T. J. (1995). An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural Computation*, 7(6), 1129–1159. <https://doi.org/10.1162/neco.1995.7.6.1129>

Bloemendaal, L. Van, Kulve, J. S., Fleur, S. E., Ijzerman, R. G., & Diamant, M. (2007). *Effects of glucagon-like peptide 1 on appetite and body weight : focus on the CNS*. 4(Holst). <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0414>

Boehm, I., Geisler, D., King, J. A., Ritschel, F., Seidel, M., Araujo, Y. D., Petermann, J., Lohmeier, H., Weiss, J., Walter, M., Roessner, V., & Ehrlich, S.

(2014). Increased resting state functional connectivity in the fronto-parietal and default mode network in anorexia nervosa. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(OCT), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00346>

Broyd, S. J., Demanuele, C., Debener, S., Helps, S. K., James, C. J., & Sonuga-Barke, E. J. S. (2009). Default-mode brain dysfunction in mental disorders: A systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(3), 279–296. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.09.002>

Buckner, R. L., Andrews-Hanna, J. R., & Schacter, D. L. (2008). The brain's default network: Anatomy, function, and relevance to disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1124, 1–38. <https://doi.org/10.1196/annals.1440.011>

Bunck, M. C., Cornér, A., Eliasson, B., Heine, R. J., Shaginian, R. M., Taskinen, M. R., Smith, U., Yki-Järvinen, H., & Diamant, M. (2011). Effects of exenatide on measures of β -cell function after 3 years in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 34(9), 2041–2047. <https://doi.org/10.2337/dc11-0291>

Chatterjee, S., Khunti, K., & Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *The Lancet*, 389(10085), 2239–2251. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30058-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2)

Chau, A. C. M., Smith, A. E., Hordacre, B., Kumar, S., Cheung, E. Y. W., & Mak, H. K. F. (2022). A scoping review of resting-state brain functional alterations in Type 2 diabetes. Em *Frontiers in Neuroendocrinology* (Vol. 65, p. 100970). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100970>

Chechlacz, M., Rotshtein, P., Klamer, S., Porubská, K., Higgs, S., Booth, D., Fritsche, A., Preissl, H., Abele, H., Birbaumer, N., & Nouwen, A. (2009). Diabetes dietary management alters responses to food pictures in brain regions associated with motivation and emotion: A functional magnetic resonance imaging study. *Diabetologia*, 52(3), 524–533. <https://doi.org/10.1007/s00125-008-1253-z>

Chen, Y., Liu, Z., Wang, A., Zhang, J., Zhang, S., Qi, D., Chen, K., & Zhang, Z. (2016). Dysfunctional organization of default mode network before memory impairments in type 2 diabetes. *Psychoneuroendocrinology*, 74, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.08.012>

Chen, Y., Liu, Z., Zhang, J., Tian, G., Li, L., Zhang, S., Li, X., Chen, K., & Zhang, Z. (2015). Selectively disrupted functional connectivity networks in type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 7(DEC), 233. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00233>

Corbetta, M., Patel, G., & Shulman, G. L. (2008). The Reorienting System of the Human Brain: From Environment to Theory of Mind. *Neuron*, 58(3), 306–324. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.017>

Cui, Y., Jiao, Y., Chen, H. J., Ding, J., Luo, B., Peng, C. Y., Ju, S. H., & Teng, G. J. (2015). Aberrant functional connectivity of default-mode network in type 2 diabetes patients. *European Radiology*, 25(11), 3238–3246. <https://doi.org/10.1007/s00330-015-3746-8>

Cui, Y., Jiao, Y., Chen, Y.-C., Wang, K., Gao, B., Wen, S., Ju, S., & Teng, G.-J. (2014). Altered Spontaneous Brain Activity in Type 2 Diabetes: A Resting-State

Functional MRI Study. *Diabetes*, 63(2), 749–760. <https://doi.org/10.2337/db13-0519>

Curtis, K., Stewart, C. J., Robinson, M., Molfese, D. L., Gosnell, S. N., Kosten, T. R., Petrosino, J. F., de La Garza, R., & Salas, R. (2019). Insular resting state functional connectivity is associated with gut microbiota diversity. *European Journal of Neuroscience*, 50(3), 2446–2452. <https://doi.org/10.1111/ejn.14305>

Damoiseaux, J., & Greicius, M. (2009). Greater than the sum of its parts: a review of studies combining structural connectivity and resting-state functional connectivity. *Brain Structure and Function*, 213(6), 525–533. <https://doi.org/10.1007/s00429-009-0208-6>

Delmonte, S., Gallagher, L., O’Hanlon, E., McGrath, J., & Balsters, J. H. (2013). Functional and structural connectivity of frontostriatal circuitry in autism spectrum disorder. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7(JUL), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00430>

Dion, C., Tanner, J. J., Crowley, S. J., Wiggins, M. E., Mareci, T., Ding, M., Price, C. C., & Manini, T. M. (2021). Functional connectivity of key resting state networks and objectively measured physical activity in older adults with joint pain: A pilot study. *Experimental Gerontology*, 153(April), 111470. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111470>

Doornweerd, S., van Duinkerken, E., de Geus, E. J., Arbab-Zadeh, P., Veltman, D. J., & Ijzerman, R. G. (2017). Overweight is associated with lower resting state functional connectivity in females after eliminating genetic effects: A twin study. *Human Brain Mapping*, 38(10), 5069–5081. <https://doi.org/10.1002/hbm.23715>

Duinkerken, E. van, Schoonheim, M. M., Sanz-arigita, E. J., Ijzerman, R. G., Moll, A. C., Snoek, F. J., Ryan, C. M., Klein, M., Diamant, M., & Barkhof, F. (2012). Resting-State Brain Networks in Type 1 Diabetic Patients With and Without Microangiopathy and Their Relation to Cognitive Functions and Disease Variables. *Diabetes*, 61(7), 1814–1821. <https://doi.org/10.2337/db11-1358>

Eren-Yazicioglu, C. Y., Yigit, A., Dogruoz, R. E., & Yapici-Eser, H. (2021). Can GLP-1 Be a Target for Reward System Related Disorders? A Qualitative Synthesis and Systematic Review Analysis of Studies on Palatable Food, Drugs of Abuse, and Alcohol. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14(January), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.614884>

Farr, O. M., Sofopoulos, M., Tsoukas, M. A., Dincer, F., Thakkar, B., Sahin-Efe, A., Filippaios, A., Bowers, J., Srnka, A., Gavrieli, A., Ko, B. J., Liakou, C., Kanyuch, N., Tseleni-Balafouta, S., & Mantzoros, C. S. (2016). GLP-1 receptors exist in the parietal cortex, hypothalamus and medulla of human brains and the GLP-1 analogue liraglutide alters brain activity related to highly desirable food cues in individuals with diabetes: a crossover, randomised, placebo-controlled. *Diabetologia*, 59(5), 954–965. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-3874-y>

Fox, M. D., & Greicius, M. (2010). Clinical applications of resting state functional connectivity. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 4, 19. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2010.00019>

Fox, M. D., Snyder, A. Z., Vincent, J. L., Corbetta, M., van Essen, D. C., & Raichle, M. E. (2005). The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(27), 9673–9678. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504136102>

García-García, I., Jurado, M. Á., Garolera, M., Segura, B., Sala-Llonch, R., Marqués-Iturria, I., Pueyo, R., Sender-Palacios, M. J., Vernet-Vernet, M., Narberhaus, A., Ariza, M., & Junqué, C. (2013). Alterations of the salience network in obesity: A resting-state fMRI study. *Human Brain Mapping*, *34*(11), 2786–2797. <https://doi.org/10.1002/hbm.22104>

Gaudio, S., Piervincenzi, C., Zobel, B. B., Montecchi, F. R., Riva, G., Carducci, F., & Quattrocchi, C. C. (2015). Altered resting state functional connectivity of anterior cingulate cortex in drug naïve adolescents at the earliest stages of anorexia nervosa. *Scientific Reports*, *5*(October 2014), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep10818>

Gautier, J. F., Choukem, S. P., & Girard, J. (2008). Physiology of incretins (GIP and GLP-1) and abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes and Metabolism*, *34*(2), 65–72. [https://doi.org/10.1016/S1262-3636\(08\)73397-4](https://doi.org/10.1016/S1262-3636(08)73397-4)

Godwin, C. A., Hunter, M. A., Bezdek, M. A., Lieberman, G., Elkin-Frankston, S., Romero, V. L., Witkiewitz, K., Clark, V. P., & Schumacher, E. H. (2017). Functional connectivity within and between intrinsic brain networks correlates with trait mind wandering. *Neuropsychologia*, *103*, 140–153. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2017.07.006>

Goulden, N., Khusnulina, A., Davis, N. J., Bracewell, R. M., Bokde, A. L., McNulty, J. P., & Mullins, P. G. (2014). The salience network is responsible for switching between the default mode network and the central executive network: Replication from DCM. *NeuroImage*, *99*, 180–190. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.05.052>

Greicius, M. D., Krasnow, B., Reiss, A. L., & Menon, V. (2003). Functional connectivity in the resting brain: A network analysis of the default mode hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(1), 253–258. <https://doi.org/10.1073/pnas.0135058100>

Gu, Y., Li, G., Wang, J., von Deneen, K. M., Wu, K., Yang, Y., She, J., Ji, G., Nie, Y., Cui, G., Zhang, Y., & He, S. (2020). Comparing the Impact of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy and Gastric Cancer Surgery on Resting-State Brain Activity and Functional Connectivity. *Frontiers in Neuroscience*, *14*(November), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.614092>

Habegger, K. M., Heppner, K. M., Geary, N., Bartness, T. J., DiMarchi, R., & Tschöp, M. H. (2010). The metabolic actions of glucagon revisited. *Nature Reviews Endocrinology*, *6*(12), 689–697. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.187>

Herrmann, M. J., Tesar, A. K., Beier, J., Berg, M., & Warrings, B. (2019). Grey matter alterations in obesity: A meta-analysis of whole-brain studies. *Obesity Reviews*, *20*(3), 464–471. <https://doi.org/10.1111/obr.12799>

Jennifer, S., Veltman, D. J., van Bloemendaal, L., Barkhof, F., Deacon, C. F., Holst, J. J., Konrad, R. J., Sloan, J. H., Drent, M. L., Diamant, M., & IJzerman, R. G. (2015). Endogenous GLP-1 mediates postprandial reductions in activation in central reward and satiety areas in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*, *58*(12), 2688–2698. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3754-x>

Jennifer, S., Veltman, D. J., Van Bloemendaal, L., Barkhof, F., Drent, M. L., Diamant, M., IJzerman, R. G., Ten Kulve, J. S., Veltman, D. J., Van Bloemendaal, L., Barkhof, F., Drent, M. L., Diamant, M., & IJzerman, R. G. (2016). Liraglutide reduces CNS activation in response to visual food cues only after short-term treatment in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, *39*(2), 214–221. <https://doi.org/10.2337/dc15-0772>

Jin, C., Zhang, T., Cai, C., Bi, Y., Li, Y., Yu, D., Zhang, M., & Yuan, K. (2016). Abnormal prefrontal cortex resting state functional connectivity and severity of internet gaming disorder. *Brain Imaging and Behavior*, *10*(3), 719–729. <https://doi.org/10.1007/s11682-015-9439-8>

Joel, S., Caffo, B., van Zijl, P., & Pekar, J. (2011). On the relationship between seed based and ICA-based measures of functional connectivity. *Magnetic Resonance in Medicine*, *66*(3), 644–657. <https://doi.org/10.1002/mrm.22818>. On

Kim, S. H., Park, B. Y., Byeon, K., Park, H., Kim, Y., Eun, Y. M., & Chung, J. H. (2019). The effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on resting-state functional connectivity in obese adults. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, *21*(8), 1956–1966. <https://doi.org/10.1111/dom.13763>

Kinzig, K. P., D'Alessio, D. A., Herman, J. P., Sakai, R. R., Vahl, T. P., Figueredo, H. F., Murphy, E. K., & Seeley, R. J. (2003). CNS glucagon-like peptide-1 receptors mediate endocrine and anxiety responses to interoceptive and psychogenic stressors. *Journal of Neuroscience*, *23*(15), 6163–6170. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-15-06163.2003>

Kinzig, K. P., D'Alessio, D. A., & Seeley, R. J. (2002). The diverse roles of specific GLP-1 receptors in the control of food intake and the response to visceral illness. *Journal of Neuroscience*, *22*(23), 10470–10476. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-23-10470.2002>

Kita, K., Rokicki, J., Furuya, S., Sakamoto, T., & Hanakawa, T. (2018). Resting-state basal ganglia network codes a motor musical skill and its disruption From dystonia. *Movement Disorders*, *33*(9), 1472–1480. <https://doi.org/10.1002/mds.27448>

Kopelman, P. (2007). Health risks associated with overweight and obesity. *Em Obesity Reviews* (Vol. 8, Issue SUPPL. 1, p. 13–17). <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00311.x>

Krönke, K. M., Wolff, M., Shi, Y., Kräplin, A., Smolka, M. N., Bühringer, G., & Goschke, T. (2020). Functional connectivity in a triple-network saliency model is associated with real-life self-control. *Neuropsychologia*, *149*. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2020.107667>

Laird, A. R., Fox, P. M., Eickhoff, S. B., Turner, J. A., Ray, K. L., McKay, D. R., Glahn, D. C., Beckmann, C. F., Smith, S. M., & Fox, P. T. (2011). Behavioral

Interpretations of Intrinsic Connectivity Networks. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 23(12), 4022–4037. https://doi.org/10.1162/jocn_a_00077

Li, C., Li, Y., Zheng, L., Zhu, X., Shao, B., Fan, G., Liu, T., & Wang, J. (2019). Abnormal brain network connectivity in a triple-network model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 69(1), 237–252. <https://doi.org/10.3233/JAD-181097>

Liu, H., Liu, J., Peng, L., Feng, Z., Cao, L., Liu, H., Shen, H., Hu, D., Zeng, L. L., & Wang, W. (2019). Changes in default mode network connectivity in different glucose metabolism status and diabetes duration. *NeuroImage: Clinical*, 21(December 2018), 101629. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.101629>

Macpherson, H., Formica, M., Harris, E., & Daly, R. M. (2017). Brain functional alterations in Type 2 Diabetes – A systematic review of fMRI studies. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 47, 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2017.07.001>

Manes, J. L., Tjaden, K., Parrish, T., Simuni, T., Roberts, A., Greenlee, J. D., Corcos, D. M., & Kurani, A. S. (2018). Altered resting-state functional connectivity of the putamen and internal globus pallidus is related to speech impairment in Parkinson's disease. *Brain and Behavior*, 8(9), 1–20. <https://doi.org/10.1002/brb3.1073>

Ma, N., Liu, Y., Li, N., Wang, C. X., Zhang, H., Jiang, X. F., Xu, H. S., Fu, X. M., Hu, X., & Zhang, D. R. (2010). Addiction related alteration in resting-state brain connectivity. *NeuroImage*, 49(1), 738–744. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.08.037>

Manoliu, A., Riedl, V., Zherdin, A., Mühlau, M., Schwerthöffer, D., Scherr, M., Peters, H., Zimmer, C., Förstl, H., Bäuml, J., Wohlschläger, A. M., & Sorg, C. (2014). Aberrant dependence of default mode/central executive network interactions on anterior insular salience network activity in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 40(2), 428–437. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbt037>

Menon, B. (2019). Towards a new model of understanding – The triple network, psychopathology and the structure of the mind. *Medical Hypotheses*, 133(3), 109385. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.109385>

Menon, V. (2011). Large-scale brain networks and psychopathology: A unifying triple network model. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(10), 483–506. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2011.08.003>

Menon, V., & Uddin, L. Q. (2010). Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. *Brain Structure and Function*, 214(5–6), 655–667. <https://doi.org/10.1007/s00429-010-0262-0>

Molnar-Szakacs, I., & Uddin, L. Q. (2022). Anterior insula as a gatekeeper of executive control. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 139(March), 104736. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104736>

Moreno-Lopez, L., Contreras-Rodriguez, O., Soriano-Mas, C., Stamatakis, E. A., & Verdejo-Garcia, A. (2016). Disrupted functional connectivity in adolescent obesity. *NeuroImage: Clinical*, 12, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2016.07.005>

Murray, S., Tulloch, A., Gold, M. S., & Avena, N. M. (2014). Hormonal and neural mechanisms of food reward, eating behaviour and obesity. *Nature Reviews Endocrinology*, *10*(9), 540–552. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.91>

Musen, G., Jacobson, A. M., Bolo, N. R., Simonson, D. C., Shenton, M. E., McCartney, R. L., Flores, V. L., & Hoogenboom, W. S. (2012). Resting-state brain functional connectivity is altered in type 2 diabetes. *Diabetes*, *61*(9), 2375–2379. <https://doi.org/10.2337/db11-1669>

Nekovarova, T., Fajnerova, I., Horacek, J., & Spaniel, F. (2014). Bridging disparate symptoms of schizophrenia: A triple network dysfunction theory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*(MAY), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00171>

Nomi, J. S., & Uddin, L. Q. (2015). Developmental changes in large-scale network connectivity in autism. *NeuroImage: Clinical*, *7*, 732–741. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.02.024>

Parsons, N., Steward, T., Clohesy, R., Almgren, H., & Duehlmeyer, L. (2021). A systematic review of resting-state functional connectivity in obesity: Refining current neurobiological frameworks and methodological considerations moving forward. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09665-x>

Perry, J. L., Joseph, J. E., Jiang, Y., Zimmerman, R. S., Kelly, T. H., Darna, M., Huettl, P., Dwoskin, L. P., & Bardo, M. T. (2011). Prefrontal cortex and drug abuse vulnerability: Translation to prevention and treatment interventions. *Brain Research Reviews*, *65*(2), 124–149. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.09.001>

Pruim, R. H., Mennes, M., van Rooij, D., Llera, A., Buitelaar, J. K., & Beckmann, C. F. (2015). ICA-AROMA: A robust ICA-based strategy for removing motion artifacts from fMRI data. *NeuroImage*, *112*, 267–277. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.02.064>

Puglisi-Allegra, S., & Ventura, R. (2012). Prefrontal/accumbal catecholamine system processes high motivational salience. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *6*(JUNE), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00031>

Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., & Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(2), 676–682. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.2.676>

Ravichandran, S., Bhatt, R. R., Pandit, B., Osadchiy, V., Alaverdyan, A., Vora, P., Stains, J., Naliboff, B., Mayer, E. A., & Gupta, A. (2021). Alterations in reward network functional connectivity are associated with increased food addiction in obese individuals. *Scientific Reports*, *11*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83116-0>

Reijmer, Y. D., van den Berg, E., Ruis, C., Kappelle, L. J., & Biessels, G. J. (2010). Cognitive dysfunction in patients with type 2 diabetes. *Em Diabetes/Metabolism Research and Reviews* (Vol. 26, Issue 7, p. 507–519). <https://doi.org/10.1002/dmrr.1112>

Robinson, S., Basso, G., Soldati, N., Sailer, U., Jovicich, J., Bruzzone, L., Krysin-Exner, I., Bauer, H., & Moser, E. (2009). A resting state network in the motor control circuit of the basal ganglia. *BMC Neuroscience*, *10*(Dm), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-10-137>

Ryan, C. M., van Duinkerken, E., & Rosano, C. (2016). Neurocognitive Consequences of Diabetes. *American Psychologist*, *71*(7), 563–576.

Saggar, M., Tsalikian, E., Mauras, N., Mazaika, P., White, N. H., Weinzimer, S., Buckingham, B., Hershey, T., & Reiss, A. L. (2017). Compensatory hyperconnectivity in developing brains of young children with type 1 diabetes. *Diabetes*, *66*(3), 754–762. <https://doi.org/10.2337/db16-0414>

Schlögl, H., Kabisch, S., Horstmann, A., Lohmann, G., Müller, K., Lepsien, J., Busse-Voigt, F., Kratzsch, J., Pleger, B., Villringer, A., & Stumvoll, M. (2013). Exenatide-Induced Reduction in Energy Intake Is Associated With Increase in Hypothalamic Connectivity. *Diabetes Care*, *36*(7), 1933–1940. <https://doi.org/10.2337/dc12-1925>.

Seeley, W. W., Menon, V., Schatzberg, A. F., Keller, J., Glover, G. H., Kenna, H., Reiss, A. L., & Greicius, M. D. (2007). Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. *Journal of Neuroscience*, *27*(9), 2349–2356. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5587-06.2007>

Sewaybricker, L. E., Melhorn, S. J., Askren, M. K., Webb, M. F., Tyagi, V., de Leon, M. R. B., Grabowski, T. J., Seeley, W. W., & Schur, E. A. (2020). Salience network connectivity is reduced by a meal and influenced by genetic background and hypothalamic gliosis. *International Journal of Obesity*, *44*(1), 167–177. <https://doi.org/10.1038/s41366-019-0361-9>

Sha, Z., Wager, T. D., Mechelli, A., & He, Y. (2019). Common Dysfunction of Large-Scale Neurocognitive Networks Across Psychiatric Disorders. *Biological Psychiatry*, *85*(5), 379–388. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.11.011>

Smith, S. M., Fox, P. T., Miller, K. L., Glahn, D. C., Fox, P. M., Mackay, C. E., Filippini, N., Watkins, K. E., Toro, R., Laird, A. R., & Beckmann, C. F. (2009). Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(31), 13040–13045. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905267106>

Sonksen, P., & Sonksen, J. (2000). Insulin: Understanding its action in health and disease. *British Journal of Anaesthesia*, *85*(1), 69–79. <https://doi.org/10.1093/bja/85.1.69>

Sridharan, D., Levitin, D. J., & Menon, V. (2008). A critical role for the right fronto-insular cortex in switching between central-executive and default-mode networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(34), 12569–12574. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800005105>

Stice, E., Spoor, S., Bohon, C., Veldhuizen, M. G., & Small, D. M. (2008). Relation of Reward From Food Intake and Anticipated Food Intake to Obesity: A Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *Journal of Abnormal Psychology*, *117*(4), 924–935. <https://doi.org/10.1037/a0013600>

Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., Stein, C., Basit, A., Chan, J. C. N., Mbanya, J. C., Pavkov, M. E., Ramachandaran, A., Wild, S. H., James, S., Herman, W. H., Zhang, P., Bommer, C., Kuo, S., Boyko, E. J., & Magliano, D. J. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *183*(2), 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>

Supekar, K., Cai, W., Krishnadas, R., Palaniyappan, L., & Menon, V. (2019). Dysregulated Brain Dynamics in a Triple-Network Saliency Model of Schizophrenia and Its Relation to Psychosis. *Biological Psychiatry*, *85*(1), 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.07.020>

Sutcbasi, B., Metin, B., Kurban, M. K., Metin, Z. E., Beser, B., & Sonuga-Barke, E. (2020). Resting-state network dysconnectivity in ADHD: A system-neuroscience-based meta-analysis. *World Journal of Biological Psychiatry*, *21*(9), 662–672. <https://doi.org/10.1080/15622975.2020.1775889>

Tan, K. M., Daitch, A. L., Pinheiro-Chagas, P., Fox, K. C. R., Parvizi, J., & Lieberman, M. D. (2022). Electrographic evidence of a common neurocognitive sequence for mentalizing about the self and others. *Nature Communications*, *13*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29510-2>

ten Kulve, J. S., Veltman, D. J., van Bloemendaal, L., Groot, P. F., Ruhé, H. G., Barkhof, F., Diamant, M., & IJzerman, R. G. (2016). Endogenous GLP1 and GLP1 analogue alter CNS responses to palatable food consumption. *Journal of Endocrinology*, *229*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1530/JOE-15-0461>

The World Health Organization. (2017). Obesity and Overweight. Em *Fact Sheets* (p. 1–6). <https://doi.org/10.1080/10810730903279694>

Uddin, L. Q., Yeo, B. T. T., & Spreng, R. N. (2019). Towards a Universal Taxonomy of Macro-scale Functional Human Brain Networks. *Brain Topography*, *32*(6), 926–942. <https://doi.org/10.1007/s10548-019-00744-6>

Vaghi, M. M., Vértes, P. E., Kitzbichler, M. G., Apergis-Schoute, A. M., van der Flier, F. E., Fineberg, N. A., Sule, A., Zaman, R., Voon, V., Kundu, P., Bullmore, E. T., & Robbins, T. W. (2017). Specific Frontostriatal Circuits for Impaired Cognitive Flexibility and Goal-Directed Planning in Obsessive-Compulsive Disorder: Evidence From Resting-State Functional Connectivity. *Biological Psychiatry*, *81*(8), 708–717. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.08.009>

Val-Laillet, D., Aarts, E., Weber, B., Ferrari, M., Quaresima, V., Stoeckel, L. E., Alonso-Alonso, M., Audette, M., Malbert, C. H., & Stice, E. (2015). Neuroimaging and neuromodulation approaches to study eating behavior and prevent and treat eating disorders and obesity. *NeuroImage: Clinical*, *8*, 1–31. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.03.016>

van Bloemendaal, L., IJzerman, R. G., ten Kulve, J. S., Barkhof, F., Konrad, R. J., Drent, M. L., Veltman, D. J., & Diamant, M. (2014). GLP-1 receptor activation modulates appetite- and reward-related brain areas in humans. *Diabetes*, *63*(12), 4186–4196. <https://doi.org/10.2337/db14-0849>

- van Bloemendaal, L., ten Kulve, J. S., la Fleur, S. E., Ijzerman, R. G., & Diamant, M. (2014). Effects of glucagon-like peptide 1 on appetite and body weight: focus on the CNS. *Journal of Endocrinology*, 221(1), T1–T16. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0414>
- van Bloemendaal, L., Veltman, D. J., ten Kulve, J. S., Drent, M. L., Barkhof, F., Diamant, M., & Ijzerman, R. G. (2015). Emotional eating is associated with increased brain responses to food-cues and reduced sensitivity to GLP-1 receptor activation. *Obesity*, 23(10), 2075–2082. <https://doi.org/10.1002/oby.21200>
- van Bloemendaal, L., Veltman, D. J., Ten Kulve, J. S., Groot, P. F. C., Ruhé, H. G., Barkhof, F., Sloan, J. H., Diamant, M., & Ijzerman, R. G. (2015). Brain reward-system activation in response to anticipation and consumption of palatable food is altered by glucagon-like peptide-1 receptor activation in humans. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 17(9), 878–886. <https://doi.org/10.1111/dom.12506>
- van Opstal, A. M., Wijngaarden, M. A., van der Grond, J., & Pijl, H. (2019). Changes in brain activity after weight loss. *Obesity Science and Practice*, 5(5), 459–467. <https://doi.org/10.1002/osp4.363>
- Verdejo-Román, J., Vilar-López, R., Navas, J. F., Soriano-Mas, C., & Verdejo-García, A. (2017). Brain reward system's alterations in response to food and monetary stimuli in overweight and obese individuals. *Human Brain Mapping*, 38(2), 666–677. <https://doi.org/10.1002/hbm.23407>
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., & Baler, R. D. (2011). Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(1), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.11.001>
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., & Telang, F. (2008). Overlapping neuronal circuits in addiction and obesity: Evidence of systems pathology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1507), 3191–3200. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0107>
- Volkow, N. D., & Wise, R. A. (2005). How can drug addiction help us understand obesity? *Nature Neuroscience*, 8(5), 555–560. <https://doi.org/10.1038/nn1452>
- Vrang, N., & Just, P. (2010). Progress in Neurobiology Preproglucagon derived peptides GLP-1, GLP-2 and oxyntomodulin in the CNS: Role of peripherally secreted and centrally produced peptides. *Progress in Neurobiology*, 92(3), 442–462. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.07.003>
- Vuper, T. C., Philippi, C. L., & Bruce, S. E. (2021). Altered resting-state functional connectivity of the default mode and central executive networks following cognitive processing therapy for PTSD. *Behavioural Brain Research*, 409(April), 113312. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113312>
- Walther, K., Birdsill, A. C., Glisky, E. L., & Ryan, L. (2010). Structural brain differences and cognitive functioning related to body mass index in older females. *Human Brain Mapping*, 31(7), 1052–1064. <https://doi.org/10.1002/hbm.20916>

- Wang, G. J., Volkow, N. D., Thanos, P. K., & Fowler, J. S. (2009a). Imaging of brain dopamine pathways: Implications for understanding obesity. *Journal of Addiction Medicine*, 3(1), 8–18. <https://doi.org/10.1097/ADM.0b013e31819a86f7>
- Wang, G. J., Volkow, N. D., Thanos, P. K., & Fowler, J. S. (2009b). Imaging of Brain Dopamine Pathways: Implications for Understanding Obesity. *Journal of Addiction Medicine*, 3(1), 8–18. <https://doi.org/10.1097/ADM.0b013e31819a86f7>. Imaging
- Wang, Y. F., Ji, X. M., Lu, G. M., & Zhang, L. J. (2016a). Resting-state functional MR imaging shed insights into the brain of diabetes. *Metabolic Brain Disease*, 31(5), 993–1002. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9872-4>
- Wang, Y. F., Ji, X. M., Lu, G. M., & Zhang, L. J. (2016b). Resting-state functional MR imaging shed insights into the brain of diabetes. *Metabolic Brain Disease*, 31(5), 993–1002. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9872-4>
- Watve, M. G., & Yajnik, C. S. (2007). Evolutionary origins of insulin resistance: A behavioral switch hypothesis. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-61>
- Wells, J. C. K. (2006). The evolution of human fatness and susceptibility to obesity: An ethological approach. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 81(2), 183–205. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006974>
- Wells, J. C. K. (2009). Ethnic variability in adiposity and cardiovascular risk: The variable disease selection hypothesis. *International Journal of Epidemiology*, 38(1), 63–71. <https://doi.org/10.1093/ije/dyn183>
- Wells, J. C. K. (2012a). Obesity as malnutrition: The role of capitalism in the obesity global epidemic. *American Journal of Human Biology*, 24(3), 261–276. <https://doi.org/10.1002/ajhb.22253>
- Wells, J. C. K. (2012b). The evolution of human adiposity and obesity: Where did it all go wrong? Em *DMM Disease Models and Mechanisms* (Vol. 5, Issue 5, p. 595–607). <https://doi.org/10.1242/dmm.009613>
- Wells, J. C. K., & Siervo, M. (2011). Obesity and energy balance: Is the tail wagging the dog. *European Journal of Clinical Nutrition*, 65(11), 1173–1189. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2011.132>
- Winkler, A. M., Ridgway, G. R., Douaud, G., Nichols, T. E., & Smith, S. M. (2016). Faster permutation inference in brain imaging. *NeuroImage*, 141, 502–516. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.05.068>
- Winkler, A. M., Ridgway, G. R., Webster, M. A., Smith, S. M., & Nichols, T. E. (2014). Permutation inference for the general linear model. *NeuroImage*, 92, 381–397. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.01.060>
- Xia, W., Chen, Y. C., & Ma, J. (2017). Resting-state brain anomalies in type 2 diabetes: A meta-analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9, 14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00014>
- Yang, S. Q., Xu, Z. P., Xiong, Y., Zhan, Y. F., Guo, L. Y., Zhang, S., Jiang, R. F., Yao, Y. H., Qin, Y. Y., Wang, J. Z., Liu, Y., & Zhu, W. Z. (2016). Altered

Intranetwork and Internetwork Functional Connectivity in Type 2 Diabetes Mellitus with and Without Cognitive Impairment. *Scientific Reports*, 6, 32980. <https://doi.org/10.1038/srep32980>

Zhang, D., Lei, Y., Gao, J., Qi, F., Yan, X., Ai, K., Zhe, X., Cheng, M., Wang, M., Su, Y., Tang, M., & Zhang, X. (2021). Right Frontoinsular Cortex: A Potential Imaging Biomarker to Evaluate T2DM-Induced Cognitive Impairment. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(May), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.674288>

Zhang, J., Liu, Z., Li, Z., Wang, Y., Chen, Y., Li, X., Chen, K., Shu, N., & Zhang, Z. (2016). Disrupted White Matter Network and Cognitive Decline in Type 2 Diabetes Patients. *Journal of Alzheimer's Disease*, 53(1), 185–195. <https://doi.org/10.3233/JAD-160111>

Zhang, Y., Lu, S., Liu, C., Zhang, H., Zhou, X., Ni, C., Qin, W., & Zhang, Q. (2016). Altered brain activation and functional connectivity in working memory related networks in patients with type 2 diabetes: An ICA-based analysis. *Scientific Reports*, 6, 23767. <https://doi.org/10.1038/srep23767>

Zheng, H., Cai, L., & Rinaman, L. (2015). Distribution of glucagon-like peptide 1-immunopositive neurons in human caudal medulla. *Brain Structure and Function*, 220(2), 1213–1219. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0714-z>

Zhou, H., Lu, W., Shi, Y., Bai, F., Chang, J., Yuan, Y., Teng, G., & Zhang, Z. (2010). Impairments in cognition and resting-state connectivity of the hippocampus in elderly subjects with type 2 diabetes. *Neuroscience Letters*, 473(1), 5–10. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.12.057>

Ziauddeen, H., Alonso-Alonso, M., Hill, J. O., Kelley, M., & Khan, N. A. (2015). Obesity and the neurocognitive basis of food reward and the control of intake. *Advances in Nutrition*, 6(4), 474–486. <https://doi.org/10.3945/an.115.008268>

9

Apêndice

Artigo em preparação

Full title: Effects of GLP-1 on resting-state functional connectivity of patients with uncomplicated type 2 diabetes

Short running title: Effects of GLP-1 on resting-state connectivity

André S. Machado, MSc^{1#}, Eelco van Duinkerken, PhD^{2,3,4*#}, Liselotte van Bloemendaal, MD PhD³, prof. Jesus Landeira-Fernandez¹, prof. Frederik Barkhof, MD^{5,6}, prof. Michaela Diamant, MD³†, prof. Dick J. Veltman, MD⁷, Jennifer S. ten Kulve, MD PhD³, Richard G. IJzerman, MD PhD³

¹ Department of Psychology, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

² Center for Epilepsy, Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, Rio de Janeiro, Brazil

³ Amsterdam Diabetes Center / Department of Internal Medicine, Amsterdam University Medical Centers, Free University Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands

⁴ Department of Medical Psychology, Amsterdam University Medical Centers, Free University Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands

⁵ Department of Radiology and Nuclear Medicine, Amsterdam University Medical Centers, Free University Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands

⁶ Institutes of Neurology and Healthcare engineering, University College London, London, UK

⁷ Department of Psychiatry, Amsterdam University Medical Centers, Free University Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands

Both authors contributed equally

† Deceased

* Corresponding author:

Eelco van Duinkerken, PhD

Center for Epilepsy

Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer

Rua do Rezende 156

Centro - Rio de Janeiro, RJ, Brazil

CEP: 20230-024

Phone: +55-21-22779330

E-mail: e.vanduinkerken@vumc.nl

Proposed journal: Diabetes, Obesity and Metabolism

Abstract: 229 (max. 250 words structured)

Main text: 3472 (max. 3500 words)

Figures/Tables: 3/2 (max. 5 combined)

References: 39 (max. 40)

Abstract

Aims: Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonist is used for the treatment of type 2 diabetes (T2DM), as it improves glycemic control, and reduces appetite and body weight. It is also related to altered brain responses to food cues, but its effects on intrinsic brain connectivity are unknown.

Materials and methods: Resting-state fMRI data was acquired in the fasted state during saline and GLP-1 receptor antagonist infusion on 2 separate days in 20 patients with uncomplicated T2DM and 20 matched controls, studying the acute effects of GLP-1. Thereafter, T2DM patients were treated, in randomized order, for 12 weeks with a GLP-1 agonist and 12 weeks with insulin glargine. Resting-state fMRI data were collected before the start of treatment and 10-days and 12-weeks into treatment.

Results: During saline, T2DM patients showed higher connectivity than controls in the left insula and operculum, which was related to larger GLP-1 agonist mediated weight loss at 10 days and 12 weeks. Additionally, connectivity was higher in patients versus controls in the left superior and medial frontal gyrus, frontal pole, and anterior and paracingulate gyrus, which correlated to smaller GLP-1 agonist mediated weight-loss at 10-days (all $P_{FWE} < 0.05$). There was no effect of GLP-1 receptor antagonist infusion or GLP-1 agonist treatment on connectivity (all $P_{FWE} > 0.05$).

Conclusions: In conclusion, increased baseline resting-state connectivity was shown to be related to GLP-1 agonist mediated weight change.

Clinical trial number was NCT 01363609; [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov).

Keywords: resting-state, connectivity, type 2 diabetes, GLP-1

Introduction

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) is an incretin hormone produced by L-cells in the intestines, and is released during food consumption. GLP-1 receptor agonists act by mimicking the effects of GLP-1, boosting insulin secretion, inhibiting the release of glucagon in a glucose-dependent manner, and promoting satiety. Thus, helping control glucose levels and promoting weight loss (1). It is believed that GLP-1 acts on the brain by promoting satiety and suppressing food intake through GLP-1 receptors, which have been found in the human hypothalamus, parietal cortex and medulla (2).

Regulation of food intake and maintenance of energy balance are both mediated by the central nervous system (CNS). Thus, alterations in CNS responses to food intake may be involved in dysregulation of feeding behavior and consequently in the development of obesity and type 2 diabetes (T2DM) (3,4). Indeed, functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) studies have shown evidence that altered CNS activity in reward and emotion regulation areas is associated with obesity and T2DM. Obesity has been associated with lower CNS responsiveness to palatable food consumption in reward areas such as the caudate nucleus and putamen (5–7), and to an increased gustatory cortex response to visual food cues, and to anticipating consumption of palatable food (5–7).

In addition, brain responses to visual food cues in the amygdala and insula were higher in obese T2DM patients compared to lean controls (8). Together these results show that obesity is associated with a blunted response to food consumption, and to a higher response to food anticipation, especially palatable food. Interestingly, food picture related brain activation in such areas was decreased by exenatide (GLP-1 receptor agonist) infusion, whereas prior infusion of a GLP-1 receptor antagonist largely blocked this GLP-1 effect (8).

In response to chocolate milk, the insula and orbital frontal cortex (OFC) showed lower activation in T2DM patients as compared to lean controls, whereas in those controls, but not in patients, blocking GLP-1 receptors inhibited activation in the bilateral insula (9). Ten-day treatment with a GLP-1 receptor agonist compared to treatment with insulin glargine resulted in increased insula and caudate nucleus activation in response to chocolate milk. At 12 weeks, these differences largely disappeared (9). This 10-day difference suggests a pivotal role for GLP-1 in the regulation of CNS responses to food pictures and palatable food.

Connectivity within resting-state networks (e.g. default mode network (DMN), attentional, and fronto-parietal networks) (10), is related to many cognitive processes and has been shown to be altered in many brain and non-brain diseases (11). In T2DM groups relative to controls, resting-state connectivity has been found to be lower in the DMN, insula and especially in the posterior cingulate cortex (PCC), and higher in the anterior cingulate cortex (ACC), precuneus and the fronto-parietal network (12–15).

A study investigating identical twins discordant for weight showed lower bilateral putamen resting-state connectivity in the heavier compared to the leaner twin, which correlated with higher fat intake in all twins (16), indicating that resting-state connectivity may have a role in food-related behavior.

Thus, we studied intrinsic connectivity of resting-state networks comprising reward and emotion regulation regions in T2DM patients and healthy controls during saline infusion and GLP-1 receptor blockage. Based on previous resting-state analyses in T2DM it was hypothesized that connectivity would be lower in T2DM patients compared to controls in food-related regions. It was also hypothesized based on previous findings that GLP-1 receptor antagonist infusion would reduce insula connectivity in controls. Additionally, 10-day and 12-week effects of GLP-1 agonist treatment in comparison with

insulin glargine treatment on connectivity was studied in T2DM patients in a 12-week randomized cross-over trial. Based on results from food-picture and chocolate milk fMRI studies, we hypothesized that functional connectivity increases in food-related regions after GLP-1 treatment versus insulin glargine treatment.

Materials and Methods

Participants

The study (NCT 01363609; ClinicalTrials.gov) was performed in compliance with the Helsinki Declaration and approved by the Medical Ethics Committee of the VU University Medical Center. All participants provided written informed consent. The sample comprised 20 overweight or obese T2DM patients and 20 healthy lean individuals matched for age and gender. General inclusion criteria were age between 40 to 65 years, right handedness, stable body weight (no BMI changes >5% in the last 3 months) and women needed to be post-menopausal. For T2DM patients, only treatment with metformin or sulphonylurea derivatives was allowed and HbA1c had to be between 42 – 69 mmol/mol (6.0 – 8.5%). In case treatment included sulphonylureas, its use was discontinued 4 weeks prior to the study with metformin treatment continuing normally. Lean individuals needed to have a BMI below 25 kg/m² and be normoglycemic (fasting plasma glucose levels below 5.6 mmol/l and below 7.8 mmol/l two hours after a 75g oral glucose tolerance test). Exclusion criteria included any history of substance abuse, psychiatric and eating disorders, neurological, cardiovascular, renal or liver disease, malignancies, use of psychotropic agents, such as glucocorticoids, and inability to undergo MRI imaging.

Study protocol

The details of the experimental protocol have been described in detail elsewhere (9). All resting-state fMRI scans were acquired after an overnight fast.

STUDY 1: Both healthy controls and T2DM participants underwent resting-state fMRI imaging during an infusion of either NaCl (0.9% sodium chloride solution) or GLP-1 receptor antagonist exendin9-39 (Bachem; Clinalfa products, Bubendorf, Switzerland) at a rate of 600 pmol/kg/min in randomized order using an infusion pump suitable for use in the MRI shielded room (MRIdium 3850 MRI IV pump, Iradimed, Winter Park, USA). These infusions were ongoing during MR scanning. The scans during saline infusion were used to compare between-group baseline connectivity. The scans during saline and exendin9-39 infusion were used for the interaction between group and infusion type.

STUDY 2: Only T2DM patients were included. This part was a randomized, cross-over, intervention trial assessing the effect of insulin glargine and GLP-1 receptor agonist liraglutide on functional connectivity. Patients underwent both treatments for a period of 12 weeks each in randomized order, with a 12-week between-treatment washout period. Order of treatment was determined by a size four block randomization. To investigate short- and long-term differences between treatments, each patient underwent a baseline MRI-scan before the start of the treatment, at 10 days, and at 12 weeks. At each visit, anthropometric measurements were taken, blood was drawn and an ad-libitum lunch buffet was offered.

MRI acquisition

A 3.0 Tesla GE Signa HDxt scanner with an 8-channel phased array head coil was used (General Electric, Milwaukee, WI, USA). For this study, a T1-weighted 3D fast spoiled gradient-echo sequence (FSGE, TR: 8.2 ms, TE: 3.2 ms, 1 mm slice thickness) was used

to obtain structural images. Resting-state fMRI data was acquired with an echo-planar imaging sequence (TR: 1800 ms, TE: 35 ms, flip angle 80°, matrix size 64 x 64, voxel size 3 mm isotropic, 34 slices). During acquisition of the resting-state fMRI participants were instructed to keep their eyes closed, not to fall asleep and not to think of anything in particular.

fMRI preprocessing

Functional images were preprocessed using the FMRIB Software Library (FSL 5.0.9) (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>). The following preprocessing steps were applied to all images. After discarding the first two volumes to permit the occurrence of a steady state, the remaining 200 volumes were motion and slice-timing corrected, brain extracted, and smoothed using a Gaussian kernel of 6 mm. Next, the images were corrected for excessive motion with ICA-AROMA (Independent Component Analysis [based] Automatic Removal of Motion Artifacts) (17). This is an independent component analysis (ICA) based pipeline to correct for motion artifacts that circumvents the major limitations of methods such as censoring, despiking and detrending (17). Lastly, the motion corrected images were temporally filtered using a 150.0 second high-pass filter, were registered to each subject's high-resolution T1-FS GE scan using boundary-based registration, and nonlinearly warped to 4 mm MNI standard space. Scan quality, preprocessing and registration were manually checked. One control participant and the treatment scans of one T2DM patient were excluded due to artefacts on at least one scan during data acquisition. The preprocessed fMRI images were then analyzed using the Group ICA of fMRI Toolbox (Gift 3.0) of the medical Image Analysis Lab (MIALAB) (<http://mialab.mrn.org/software/gift/>).

First, including all T2DM and control scans during NaCl and exendin9-39 infusion, an ICA was carried out with 20 repetitions to identify large-scale patterns of connectivity across the entire study population. All data was concatenated in an aggregate series and then reduced using principal component analysis. Estimation of independent group components used the Infomax algorithm (18).

The ICASSO software, implemented in GIFT, was used to analyze the consistency of derived networks. From these resting-state networks, four were chosen which included brain regions involved in reward/satiety and food-related behaviors. These were the subgenual anterior cingulate cortex and orbital frontal cortex network (ACC/OFC), the basal ganglia and thalamus network (BG), the insula and anterior cingulate cortex network (IN/ACC), and the right fronto-parietal network (RFP). Additionally, the default mode network (DMN) was added for its importance in resting-state studies. These networks were identified visually and based on the correlation with the networks presented in (19) (<http://brainmap.org/>).

Subsequently, spatial-temporal-regression was used to create subject-specific spatial networks and time-courses of these whole-group ICA maps. Finally, to obtain values comparable across subjects, each subject component image and time-course was converted into z-values. One sample t-tests, with a threshold of $P_{FWE} < 0.05$ corrected with family wise error (FWE), were performed on each network to create a mask containing all voxels that contributed to the network (Figure 1).

Statistical Analysis

Baseline group characteristics were analyzed using an independent sample t-test, chi-square, or Mann-Whitney U test whether appropriate. T2DM group characteristics at

baseline, 10 days and 12 weeks during insulin and GLP-1 treatment were analyzed using a generalized estimating equation approach.

All voxel-wise statistical tests were performed using the Permutation Analysis of Linear Models (PALM) tool version alpha108 (Aug/2017) (20). Time of the permutation testing was shortened by adding acceleration options to the PALM command line. This reduces the need for a high number of permutations (e.g. >10,000), while the accuracy remains comparable (21). For all analyses, 5,000 permutations with acceleration options were used, as this gives similar results to 50,000 permutations without the acceleration options (21). Clusters were generated using Threshold Free Cluster Enhancement, which does not require passing a minimum cluster size. To correct for multiple comparisons, the Family Wise Error (FWE) correction was used.

Local differences in functional connectivity between patients and controls at baseline (i.e. NaCl infusion) were tested using an independent sample t-test. To test the interaction between group and infusion type, exendin9-39 scans were subtracted from NaCl scans, and the delta scans were subjected to an independent samples t-test. All these analyses were corrected for age, sex, and systolic blood pressure.

The second part of the study tested the interaction between time and treatment. First, for each T2DM patient, delta-scans were created by subtracting, within the same treatment, scans acquired at baseline from those made at 10-days, baseline from 12-weeks scans, and 10-days from 12-weeks scans. Then a delta-scan of between-treatment differences was created by subtracting GLP-1 delta-scans from insulin delta-scans. The subsequent files were grouped into a 4D-file and were entered into a one-sample t-test design.

Correlations between local differences in functional connectivity, BMI/weight and HbA1c were analyzed using Pearson's correlations.

A $P < 0.05$ and $P_{FWE} < 0.05$ were considered statistically significant.

Voxel-wise tests were performed using PALM. All other tests were performed in SPSS v23 (IBM-SPSS, Chicago, IL, USA).

Results

Participant characteristics

Table 1 summarizes the baseline clinical characteristics of both groups. Compared with controls, T2DM patients had higher weight, BMI, waist circumference, fasting plasma glucose and HbA1c (all $P < 0.001$), as well as systolic blood pressure ($P = 0.002$). Fifteen patients were on cholesterol lowering and 10 on antihypertensive medication, compared to none of the controls (all $P < 0.001$). Time since T2DM diagnosis was on average 7.8 ± 1.1 years. As reported previously, there was a significant reduction in body weight over 12 weeks of GLP-1 agonist treatment compared with insulin glargine ($\Delta -3.3$ kg vs. $\Delta +0.4$ kg respectively, $P < 0.001$), waist circumference ($\Delta -2.7$ cm vs. $\Delta +0.4$ cm respectively, $P < 0.001$), and HbA1c ($\Delta -7.9$ mol/mmol vs. $\Delta -2.4$ mol/mmol respectively, $P < 0.001$) (9). There were no statistically significant effects on blood pressure, cholesterol or intake during the lunch buffet (9).

Local functional connectivity

The voxel-wise results are shown in Figure 1. Figure 2 shows the mean (with standard deviation) connectivity for each network as a whole for each group during both NaCl and infusion of the GLP-1 antagonist exendin9-39 (study 1, left column) and for the T2DM group during insulin and GLP-1 treatment (study 2, right column). Between-group comparisons during NaCl infusion showed higher functional connectivity in T2DM patients compared to controls in the ACC/OFC network (mean z-value controls: 0.98 ± 0.82 , mean z-value T2DM: 2.04 ± 1.14 , Cohen's δ : 1.06, $P_{FWE} < 0.05$). This cluster

comprised the left frontal pole, anterior and paracingulate gyrus, frontal medial cortex, and superior frontal gyrus. In the BG network T2DM patients had increased left insula connectivity (mean z-value controls: 0.02 ± 0.72 , mean z-value T2DM: 1.02 ± 0.72 , Cohen's δ : 1.38, $P_{FWE} < 0.05$). Lastly, in the IN/ACC network, connectivity was increased in the left frontal and central opercular cortex, extending into the insula (mean z-value controls: 1.69 ± 0.68 , mean z-value T2DM: 2.73 ± 0.90 , Cohen's δ : 1.33, $P_{FWE} < 0.05$). There were no between-group differences for the DMN, nor were there statistically significant clusters of lower connectivity in the T2DM group compared to controls ($P_{FWE} > 0.05$). These results were independent of age, sex, and systolic blood pressure. There were no statistically significant interactions between group and infusion type (NaCl or exendin9-39) ($P_{FWE} > 0.05$).

In study 2, GLP-1 treatment did not induce differences in connectivity over time compared to insulin. There were no significant interactions between time (baseline, 10 days, or 12 weeks) and treatment (GLP-1 or insulin) ($P_{FWE} > 0.05$).

Correlations between baseline functional connectivity and biomedical variables

Correlations were calculated in all T2DM patients using the between-group cluster means obtained at baseline during NaCl infusion and BMI/weight and HbA1c after 10-days and 12-weeks of either GLP-1 agonist or insulin glargine treatment.

Higher baseline frontal ACC/OFC connectivity was correlated with a smaller GLP-1 agonist mediated weight reduction after 10 days ($r = -0.458$, $P = 0.042$). Higher baseline inferior frontal IN/ACC connectivity correlated with a larger GLP-1 agonist mediated weight reduction after 10 days ($r = 0.502$, $P = 0.024$), and 12 weeks ($r = 0.446$, $P = 0.049$). Scatter plots for all correlations can be found in Figure 3.

Discussion

In this study, the effect of T2DM and GLP-1 receptor blockage on food and satiety related resting-state networks was studied. Additionally, the effect of short- and longer-term GLP-1 agonist treatment on these networks was measured in T2DM patients in comparison with insulin treatment. At baseline, T2DM patients had higher connectivity in the ACC/OFC, BG and IN/ACC networks compared to healthy individuals, but there was no significant interaction effect between group and GLP-1 receptor blockage. There were also no interaction effects between time and treatment type with a GLP-1 receptor agonist on connectivity. However, higher baseline IN/ACC left insular and frontal operculum connectivity was related to a larger GLP-1 agonist mediated decrease in weight after 10-days, and after 12-weeks. In contrast, higher ACC/OFC left frontal and anterior cingulate connectivity was associated with smaller GLP-1 agonist mediated decrease in weight after 10-days.

Our finding of increased connectivity in frontal regions and in the insula is contrary to our hypothesis and studies showing decreased connectivity in the right insula, DMN, frontal and parietal lobes (14,15). However, the findings are in accordance with previous studies showing increased connectivity in these regions, the DMN and fronto-parietal networks (14,15,22,23).

These somewhat diverging results could be due to differences in analytical methods (e.g. independent component analyses (ICA) versus seed-based analyses). In the present study we used ICA to study connectivity within spatially distinct intrinsic networks, whereas a seed-based analysis assesses connectivity between an *a priori* selected seed region and other brain regions (24). By decomposing the BOLD data into statistically independent components ICA allows between-group comparisons of clearly segregated resting-state networks, no other method is as powerful in identifying motion artifacts,

physiological noise and other irrelevant signals, making this method ideal to investigate resting-state network alterations (22). Second, contrary to the current study, most previous studies have included patients with micro- or macroangiopathy, which has been found to negatively affect the brain in T2DM patients (25). Age may also be associated with these differences, as our sample included, on average, younger patients.

GLP-1 receptor blockage and short- and longer-term treatment with GLP-1 did not alter functional connectivity patterns in this sample of T2DM patients, indicating that the changes in weight and BMI during treatment were not paralleled by changes in large-scale resting-state connectivity networks. Baseline connectivity was, however, related to the weight changes during GLP-1 treatment, indicating that baseline resting-state connectivity is related to GLP-1 receptor agonist induced weight loss.

Individual variability in response to GLP-1 agonist treatment is not a fully understood phenomenon. Individuals that lose weight during GLP-1 treatment are called “responders” and those who do not “non-responders” (26,27). Over the course of the GLP-1 agonist treatment, there were 14 responders after 10-days and 17 responders after 12-weeks. As can be seen in Figure 3 most non-responders had average connectivity values, thus having limited effects on the direction of the correlation.

The absence of connectivity changes after treatment in networks may have several explanations. It could be that neither GLP-1 nor insulin resulted in altered connectivity over the course of 12 weeks, or that the sample size was not sufficient to detect such changes. Also, connectivity *between* these networks rather than connectivity *within* the networks may be altered. Lastly, the resting-state fMRI scans were only acquired in the fasted state, whereas GLP-1 is released in reaction to food ingestion, and studies using task-related fMRI found GLP-1 mediated differences after food intake (8,9,28). Future

studies in larger samples should investigate the role of GLP-1 on brain connectivity in the non-fasted state.

Higher left insula and operculum connectivity during NaCl infusion was found in T2DM versus controls, correlating with more weight-loss during GLP-1 treatment. A similar relationship between GLP-1 and insula response to food pictures and chocolate milk was previously found (8,9,28). Interestingly, a study comparing low-frequency resting-state fluctuations between obese and lean females after a short (3-5 hour) fast found increased activation in the insula of the obese group independent of food intake (29). Furthermore, a study comparing resting-state connectivity of lean and obese individuals after an overnight and prolonged (48h) fast found higher connectivity in the left insula of obese subjects after the overnight fast (30). Taken together, it is evident that the insula is related to food and satiety and the results of our study may suggest that connectivity alterations in this region are also related to weight changes in the presence of GLP-1 treatment.

Compared to healthy subjects, connectivity was also increased in the anterior cingulate and frontal medial cortices, regions involved in reward and motivation that have been associated with obesity and addiction (31,32). Higher anterior cingulate and orbitofrontal connectivity was found in former heroin and cocaine users (33–35). However, reduced dorsolateral prefrontal cortex connectivity was related to a reduction in cue-elicited craving and cigarette consumption in smokers (36). In obesity, increased frontal connectivity has been found when compared with controls (37,38). Interestingly, a study investigating weight loss in women showed that weight loss was related to decreasing connectivity in the right inferior and superior frontal gyrus (39). This indicates that the increased frontal and anterior cingulate connectivity as found in the obese T2DM group may have negative consequences for weight loss. Indeed, contrary to what was

found for higher insula connectivity, higher frontal connectivity at baseline was associated with a smaller GLP-1 agonist mediated decrease in weight after 10 days.

This study has several limitations. First, the sample size is modest. This is a consequence of the complicated intervention part of the study which included 2 12-week treatment periods and a 12-week wash-out period and the many time-points with MR-imaging. This was compensated for by using a cross-over treatment design, benefiting from more power within the repeated measures. Furthermore, the post-prandial effects of GLP-1 on resting-state functional connectivity were not measured.

In conclusion, this study showed that insula resting-state functional connectivity was increased in T2DM patients relative to controls, which was related to more GLP-1 agonist mediated weight-loss. Contrary, higher anterior cingulate and medial frontal connectivity was related to less GLP-1 related weight-loss. This indicates that resting-state connectivity may have a function in GLP-1 related weight-loss in obesity and T2DM. Future studies should focus on larger samples aiming at the effects on resting-state connectivity after food intake and further investigate the relations between connectivity and response to GLP-1 agonist treatment.

Author contributions

AM performed the data analysis and wrote the manuscript. EvD supervised the data analysis and wrote the manuscript. JStK participated in the design of and collected the data. DJV participated in the design of the study. LvB participated in the design of the study and helped with patient recruitment. JLF provided the infrastructure to analyze the data. FB participated in the design of the study and clinically rated all MRI-scans. RGIJ designed the study and was principal investigator. MD participated in the design of the study, obtained partial funding and was principal investigator before she passed away.

Except for MD all authors have made critical contributions to the manuscript. EvD and RGIJ are the guarantors of this work and, as such, had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Funding

This work was supported in part by an investigator-initiated grant from Novo Nordisk paid to the VU University Medical Center through MD. FB is supported by NIHR biomedical research centre at UCLH. The sponsors had no role in the analysis of the data or in the decision to publish the data.

Declaration of interest

The authors declare no conflict of interest related to this study.

References

1. Gautier JF, Choukem SP, Girard J. Physiology of incretins (GIP and GLP-1) and abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2008;34(2):65–72.
2. Farr OM, Sofopoulos M, Tsoukas MA, Dincer F, Thakkar B, Sahin-Efe A, et al. GLP-1 receptors exist in the parietal cortex, hypothalamus and medulla of human brains and the GLP-1 analogue liraglutide alters brain activity related to highly desirable food cues in individuals with diabetes: a crossover, randomised, placebo-controlled. *Diabetologia.* 2016;59(5):954–65.
3. Volkow ND, Wise RA. How can drug addiction help us understand obesity? *Nat Neurosci.* 2005 Apr 26;8(5):555–60.
4. Trinko R, Sears RM, Guarnieri DJ, DiLeone RJ. Neural mechanisms underlying obesity and drug addiction. *Physiol Behav.* 2007 Aug 15;91(5):499–505.
5. Stice E, Spoor S, Bohon C, Small DM. Relation between obesity and blunted striatal response to food is moderated by TaqIA A1 allele. *Science.* 2008 Oct 17;322(5900):449–52.
6. Stice E, Spoor S, Bohon C, Veldhuizen MG, Small DM. Relation of Reward From Food Intake and Anticipated Food Intake to Obesity: A Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *J Abnorm Psychol.* 2008 Nov;117(4):924–35.
7. Wang GJ, Volkow ND, Thanos PK, Fowler JS. Imaging of Brain Dopamine Pathways: Implications for Understanding Obesity. *J Addict Med.* 2009 Mar;3(1):8–18.
8. van Bloemendaal L, Ijzerman RG, ten Kulve JS, Barkhof F, Konrad RJ, Drent ML, et al. GLP-1 Receptor Activation Modulates Appetite- and Reward-Related Brain Areas in Humans. 2014 Dec 1;63(12):4186–96.
9. ten Kulve JS, Veltman DJ, van Bloemendaal L, Groot PF, Ruhé HG, Barkhof F, et al. Endogenous GLP1 and GLP1 analogue alter CNS responses to palatable food consumption. *J Endocrinol.* 2016 Apr 1;229(1):1–12.
10. Damoiseaux JS, Greicius MD. Greater than the sum of its parts: a review of studies combining structural connectivity and resting-state functional connectivity. *Brain Struct Funct* [Internet]. 2009 Oct 1;213(6):525–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19565262>
11. Fox MD, Greicius M. Clinical applications of resting state functional connectivity. *Front Syst Neurosci.* 2010 Jun 17;4:19.
12. Musen G, Jacobson AM, Bolo NR, Simonson DC, Shenton ME, McCartney RL, et al. Resting-state brain functional connectivity is altered in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2012;61(9):2375–9.
13. Zhang Y, Lu S, Liu C, Zhang H, Zhou X, Ni C, et al. Altered brain activation and functional connectivity in working memory related networks in patients with type 2 diabetes : An ICA-based analysis. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Mar 29;6:23767.

Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep23767>

14. Xia W, Chen YC, Ma J. Resting-state brain anomalies in type 2 diabetes: A meta-analysis. *Front Aging Neurosci*. 2017 Jan 31;9:14.
15. Macpherson H, Formica M, Harris E, Daly RM. Brain functional alterations in Type 2 Diabetes – A systematic review of fMRI studies. *Front Neuroendocrinol* [Internet]. 2017 Oct 1;47:34–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2017.07.001>
16. Doornweerd S, van Duinkerken E, de Geus EJ, Arbab-Zadeh P, Veltman DJ, Ijzerman RG. Overweight is associated with lower resting state functional connectivity in females after eliminating genetic effects: A twin study. *Hum Brain Mapp*. 2017 Oct 1;38(10):5069–81.
17. Pruim RH, Mennes M, van Rooij D, Llera A, Buitelaar JK, Beckmann CF. ICA-AROMA: A robust ICA-based strategy for removing motion artifacts from fMRI data. *Neuroimage*. 2015 May 15;112:267–77.
18. Bell AJ, Sejnowski TJ. An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural Comput* [Internet]. 1995 Nov;7(6):1129–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7584893>
19. Laird AR, Fox PM, Eickhoff SB, Turner JA, Ray KL, McKay DR, et al. Behavioral Interpretations of Intrinsic Connectivity Networks. *J Cogn Neurosci* [Internet]. 2011 Dec;23(12):4022–37. Available from: http://www.mitpressjournals.org/doi/10.1162/jocn_a_00077
20. Winkler AM, Ridgway GR, Webster MA, Smith SM, Nichols TE. Permutation inference for the general linear model. *Neuroimage*. 2014 May 15;92:381–97.
21. Winkler AM, Ridgway GR, Douaud G, Nichols TE, Smith SM. Faster permutation inference in brain imaging. *Neuroimage*. 2016 Nov 1;141:502–16.
22. Wang YF, Ji XM, Lu GM, Zhang LJ. Resting-state functional MR imaging shed insights into the brain of diabetes. 2016;(305).
23. Zhang Z. Selectively Disrupted Functional Connectivity Networks in Type 2 Diabetes Mellitus. 2015 Dec 11;7:233.
24. Joel S, Caffo B, van Zijl P, Pekar J. On the relationship between seed based and ICA-based measures of functional connectivity. *Magn Reson Med*. 2011 Sep;66(3):644–57.
25. Ryan CM, van Duinkerken E, Rosano C. Neurocognitive Consequences of Diabetes. *Am Psychol*. 2016 Oct;71(7):563–76.
26. Schlögl H, Kabisch S, Horstmann A, Lohmann G, Müller K, Lepsien J, et al. Exenatide-Induced Reduction in Energy Intake Is Associated With Increase in Hypothalamic Connectivity. *Diabetes Care* [Internet]. 2013 Feb 28;36(7):1933–40. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/content/early/2013/02/27/dc12-1925.short>

27. van Bloemendaal L, Ten Kulve JS, la Fleur SE, Ijzerman RG, Diamant M. Effects of GLP-1 on appetite and body weight: focus on the central nervous system. *J Endocrinol*. 2013 Dec 9;221:T1–16.
28. van Bloemendaal L, Veltman DJ, Ten Kulve JS, Groot PFC, Ruhé HG, Barkhof F, et al. Brain reward-system activation in response to anticipation and consumption of palatable food is altered by glucagon-like peptide-1 receptor activation in humans. *Diabetes, Obes Metab*. 2015 Sep 1;17(9):878–86.
29. Hogenkamp PS, Zhou W, Dahlberg LS, Stark J, Larsen AL, Olivo G, et al. Higher resting-state activity in reward-related brain circuits in obese versus normal-weight females independent of food intake. *Int J Obes*. 2016 Nov;40(11):1687–92.
30. Wijngaarden MA, Veer IM, Rombouts SARB, van Buchem MA, Willems van Dijk K, Pijl H, et al. Obesity is marked by distinct functional connectivity in brain networks involved in food reward and salience. *Behav Brain Res [Internet]*. 2015 Jul 1;287:127–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2015.03.016>
31. Volkow ND, Wang G-J, Fowler JS, Telang F. Overlapping neuronal circuits in addiction and obesity: evidence of systems pathology. *Philos Trans R Soc B Biol Sci [Internet]*. 2008 Oct 12;363(1507):3191–200. Available from: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rstb.2008.0107>
32. de la Vega A, Chang LJ, Banich MT, Wager TD, Yarkoni T. Large-Scale Meta-Analysis of Human Medial Frontal Cortex Reveals Tripartite Functional Organization. *J Neurosci [Internet]*. 2016 Jun 15;36(24):6553–62. Available from: <http://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.4402-15.2016>
33. Claire E W, Terri M T, Flannery M, Josef L, Andrew R M. Enhanced cue reactivity and fronto-striatal functional connectivity in cocaine use disorders. *Drug Alcohol Depend*. 2011 May 1;115(1):137–44.
34. Berlingeri M, Losasso D, Girolo A, Cozzolino E, Masullo T, Scotto M, et al. Resting state brain connectivity patterns before eventual relapse into cocaine abuse. *Behav Brain Res [Internet]*. 2017 Jun 1;327:121–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2017.01.002>
35. Ma N, Liu Y, Li N, Wang CX, Zhang H, Jiang XF, et al. Addiction related alteration in resting-state brain connectivity. *Neuroimage [Internet]*. 2010 Jan 1;49(1):738–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.08.037>
36. Xingbao L, Lian D, Gregory L S, Bashar W B, Scott H, Mark S G. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the dorsolateral prefrontal cortex reduces resting-state insula activity and modulates functional connectivity of the orbitofrontal cortex in cigarette smokers. *Drug Alcohol Depend*. 2017 May 1;174:98–105.

37. Coveleskie K, Gupta A, Kilpatrick LA, Mayer ED, Ashe-Mcnalley C, Stains J, et al. Altered functional connectivity within the central reward network in overweight and obese women. *Nutr Diabetes* [Internet]. 2016 Jan;5(1):e148. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nutd.2014.45>
38. Zhao J, Li M, Zhang Y, Song H, von Deneen KM, Shi Y, et al. Intrinsic brain subsystem associated with dietary restraint, disinhibition and hunger: an fMRI study. *Brain Imaging Behav*. 2017 Feb 1;11(1):264–77.
39. Olds KC. Inhibitory Control Efficiency In Successful Weight Loss Participants [Internet]. Graduate College Dissertations and Theses. 313. The University of Vermont and State Agricultural College; 2015. Available from: <https://scholarworks.uvm.edu/graddis/313/>

Figure 1. Schematic view of the voxel-wise between-group and treatment analyses. The network layout is presented in green. Red-yellow indicates higher statistical significant t-values in the group/treatment last mentioned, blue indicated lower statistical significant t-values in the group/treatment last mentioned.

Figure 2. Bar graph of whole-network mean z-scores with standard deviation at baseline during NaCl and exendin9-39 infusion for healthy controls (white bars) and T2DM (gray bars) participants, and for whole-network mean connectivity for 10-days (white) and 12-weeks (gray) insulin and GLP-1 treatment. The dashed line represents the patients' mean connectivity during NaCl infusion. T2DM: type 2 diabetes; ACC/OFC: anterior cingulate orbitofrontal network; BG: basal ganglia network; IN/ACC: ínsula and anterior cingulate network; RFP: right fronto-parietal network; DMN: default mode network.

Figure 3. Scatter plot of the correlations between baseline functional connectivity in T2DM patients and clinical variables. ACC/OFC: anterior cingulate orbitofrontal network; BG: basal ganglia network; IN/ACC: ínsula and anterior cingulate network. “Responders” (individuals who lost weight after 10 days or 12 weeks of GLP-1 treatment when compared with baseline weight) were assigned triangles and “non-responders” (those who did not lose weight with GLP-1 treatment compared to baseline) were assigned squares.

Table 1. Clinical characteristics, motion correction and voxel-wise differences of patients and controls.

	Healthy controls (n = 19)	Obese T2DM patients (n = 20)	P-value
Age (years)	56.3 ± 6.3	59.5 ± 4.1	0.085
Gender, Male/Female (n)	9 / 10	11 / 9	0.644
Weight (kg)	67.5 ± 9.4	95.4 ± 15.4	< 0.001
Body Mass Index (kg/m ²)	22.3 ± 1.5	32.0 ± 4.7	< 0.001
Waist circumference (cm)	80.5 ± 7.1	108.9 ± 11.1	< 0.001
Systolic blood pressure (mmHg)	112.7 ± 16.2	128 ± 9.1	0.002
Diastolic blood pressure (mmHg)	72.6 ± 11.5	78 ± 8.0	0.118
HbA1c (mmol/mol)	36.8 ± 1.75	56.1 ± 10.1	< 0.001
HbA1c (%)	5.5 ± 0.1	7.2 ± 0.9	< 0.001
Fasting plasma glucose (mmol/L)	4.5 ± 0.5	8.4 ± 2.1	< 0.001
Diabetes duration (years)	-	7.8 ± 1.1	-
Blood pressure-lowering medication (n)	0	10	< 0.001
Cholesterol lowering medication (n)	0	15	< 0.001
<i>Absolute motion displacement</i>			
Before ICA-AROMA during NaCl (mm)	1.001 ± 0.735	0.820 ± 0.518	0.373
After ICA-AROMA during NaCl (mm)	0.026 ± 0.017	0.030 ± 0.012	0.454
Before ICA-AROMA during exendin9-39 (mm)	0.747 ± 0.569	0.842 ± 0.426	0.557
After ICA-AROMA during exendin9-39 (mm)	0.022 ± 0.011	0.027 ± 0.012	0.139

Data are presented as mean ± S.D. ACC/OFC indicates anterior cingulate cortex and orbital frontal cortex network; BG means basal ganglia and thalamus network; IN/ACC indicates insula and anterior cingulate cortex network.

Table 2. Clinical characteristics of obese T2DM patients before and during treatment

Patient characteristics (n = 19)	Baseline		10 days		12 weeks		P-value
	Insulin	GLP-1	Insulin	GLP-1	Insulin	GLP-1	
Weight (kg)	94.6 ± 15.8	95 ± 15	94.3 ± 15.7	93.9 ± 15.1	95 ± 15.1	91.7 ± 15.7	< 0.001
Body Mass Index (kg/m ²)	31.7 ± 4.7	31.8 ± 4.5	31.6 ± 4.7	31.4 ± 4.6	31.9 ± 4.6	30.7 ± 4.5	< 0.001
Waist circumference (cm)	107.7 ± 11.1	107.7 ± 9.7	108.2 ± 10.7	107.7 ± 9.7	108.1 ± 10.8	105 ± 10.1	< 0.001
Systolic blood pressure (mmHg)	126.2 ± 8.2	127.2 ± 8.3	124.9 ± 10.8	124.5 ± 8.3	124.7 ± 11	123.0 ± 8.7	0.326
Diastolic blood pressure (mmHg)	77.6 ± 8.3	77.4 ± 7.9	77 ± 7.3	76.7 ± 8.6	76 ± 8.1	76.2 ± 6.6	0.968
HbA1c (mmol/mol)	53.8 ± 8.2	55.1 ± 8.9	54.4 ± 9.1	54.3 ± 9.3	51.4 ± 7.6	47.2 ± 7.2	< 0.001
HbA1c (%)	7.07 ± 0.75	7.19 ± 0.81	7.13 ± 0.83	7.12 ± 0.5	6.85 ± 0.70	6.47 ± 0.66	< 0.001
Fasting plasma glucose (mmol/L)	8.05 ± 1.77	8.31 ± 1.77	6.81 ± 1.27	6.02 ± 1.25	5.24 ± 1.10	6.16 ± 1.14	< 0.001
Total cholesterol (mmol/L)	4.6 ± 1.5	4.2 ± 1.1	4.2 ± 1.2	3.9 ± 1.2	4.3 ± 1.1	4.0 ± 1.1	0.882
Triglycerides (mmol/L)	1.78 ± 1.43	1.59 ± 0.67	1.40 ± 0.54	1.35 ± 0.55	1.41 ± 0.9	1.40 ± 0.68	0.637

Data is expressed as mean \pm S.D. There was a missing value for total cholesterol, HbA1c and triglycerides during GLP-1 treatment at 10 days, and for fasting glucose one missing at baseline before insulin treatment, and two missing at 10 days during insulin treatment.

