

RESSALVA

Atendendo solicitação da
autora, o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 26/02/2027.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Biociências de Botucatu
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional (Setor de Fisiologia)
Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada



Ação do mirceno na retocolite ulcerativa agravada pela obesidade em camundongos

Discente: Gabriela Bueno

Orientadora: Profa. Tit. Clélia Akiko Hiruma-Lima

Botucatu

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Ação do mirceno na retocolite ulcerativa agravada por dieta hiperlipídica em camundongos

GABRIELA BUENO

PROF. Tit. CLÉLIA AKIKO HIRUMA-LIMA

Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biomoléculas: estrutura e função.

Profa. Tit. Clélia Akiko Hiruma-Lima

B928a Bueno, Gabriela
 Ação do mirceno na retocolite ulcerativa agravada pela obesidade
 em camundongos / Gabriela Bueno. -- Botucatu, 2025
 62 p. : il., tabs., fotos

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
 Instituto de Biociências, Botucatu
 Orientadora: Clélia Akiko Hiruma-Lima

 1. : Mirceno; Retocolite ulcerativa; obesidade; camundongos.. I.
 Título.

Impacto potencial desta pesquisa

A tese intitulada "Ação do mirceno na retocolite ulcerativa agravada pela obesidade em camundongos" aborda uma temática de grande relevância econômica e social ao investigar alternativas terapêuticas para uma condição inflamatória crônica que afeta milhões de pessoas no mundo. A retocolite ulcerativa, agravada pela obesidade, representa um significativo desafio para a saúde pública, devido ao impacto sobre a qualidade de vida dos pacientes e aos elevados custos associados ao tratamento prolongado e suas complicações. O estudo do mirceno, um composto bioativo de origem natural, oferece perspectivas promissoras para o desenvolvimento de tratamentos mais acessíveis e eficazes, reduzindo a dependência de terapias convencionais que podem ser caras ou ter efeitos colaterais significativos. Além disso, o avanço no conhecimento dos mecanismos biológicos dessa interação contribui para a valorização de recursos naturais, incentivando a inovação e fortalecendo setores como o farmacêutico e o de produtos naturais, promovendo benefícios para a economia e a sociedade.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE GABRIELA BUENO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA GERAL E APLICADA, DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 26 dias do mês de fevereiro do ano de 2025, às 14h, no(a) Sala de Pós-Graduação do Instituto de Biociências, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de GABRIELA BUENO, intitulada **Ação do mirceno na retocolite ulcerativa agravada pela obesidade em camundongos**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. CLELIA AKIKO HIRUMA LIMA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional - Setor Fisiologia / Instituto de Biociências de Botucatu Unesp, Profa. Dra. RAQUEL DE CÁSSIA DOS SANTOS (Participação Presencial) do(a) Laboratório de Produtos Naturais / Universidade São Francisco, Profa. Dra. ARIANE LEITE ROZZA (Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp, Profa. Dra. GISLANE LELIS VILELA DE OLIVEIRA (Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Biológicas - Setor de Microbiologia e Imunologia / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp, Profa. Dra. CAMILA RENATA CORREA CAMACHO (Participação Presencial) do(a) Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) / Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovado _____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. CLELIA AKIKO HIRUMA LIMA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele nada disso seria possível.

À minha família, em especial ao meu pai José Joaquim, minha mãe de sangue Fátima e minha mãe do coração Lúcia por todo apoio nos momentos mais difíceis, vocês foram uma fortaleza e me deram forças pra continuar e acreditar sempre no meu sonho. Às minhas irmãs Daniela, Juliana e Mariana e a minha querida e única sobrinha Anna Júlia que sempre me ajudaram muito e me deram todo apoio nesse momento tão importante da minha vida. Aos meus cunhados Walter, Reginaldo e minha cunhada Priscila que junto das minhas irmãs proporcionaram toda essa ajuda. Todos vocês da minha família são minha inspiração diária. Muito obrigada de coração por toda força. Ao meu noivo André, obrigada pelo apoio e ajuda nas horas mais difíceis. Às minhas amigas que são também minha família: Viviane e Lunara muito obrigada por todos os momentos incríveis e por todas as comemorações.

Gostaria de agradecer também ao meu grupo do laboratório, sem eles esse trabalho não seria possível. Vocês me ensinam a cada dia o verdadeiro significado do trabalho em grupo.

Ao Garboso, meu querido amigo e colega de trabalho, muito obrigada por todas as trocas, ensinamentos e por toda ajuda nesse processo.

A Doku, minha amiga, companheira que sempre me ajudou, me aconselhou e sempre esteve ao meu lado em todos os momentos desse período.

Ao meu amigo Maycon, que tantas vezes me ouviu chorar e sorrindo sempre me acalmou e me acolheu. Esteve comigo durante todo esse período sempre me ajudando muito em todo o processo sem medir esforços para isso.

E por fim, gostaria de fazer um agradecimento especial para duas pessoas incríveis que foram absolutamente essenciais para todo esse processo de aprendizado:

Professora Lúcia, muito obrigada por todos os ensinamentos, por todo amor e carinho. Sempre vou me lembrar de todos os conselhos e pode ter certeza de que guardo todos eles comigo. A senhora me mostrou muitos caminhos e me ensina a cada dia como um verdadeiro professor deve ser. Tenho uma admiração enorme pela mulher e profissional que a senhora é, sou absurdamente grata e fico orgulhosa por ter recebido da senhora uma orientação tão plena.

Professora Clélia, gostaria que a senhora soubesse que sinto imenso orgulho por te ter como minha orientadora. Tudo o que sou hoje devo a você e isso tem um valor inestimável para mim. Obrigada por ser, além de uma profissional excelente, uma mãe que tantas vezes me acolheu e acreditou em mim. Minha admiração pela senhora é enorme e minha gratidão por ter cruzado teu caminho é maior ainda.

A CAPES e CNPq pelo financiamento desse projeto.

A todos que de alguma forma me apoiaram durante esse período meus sinceros agradecimentos.

“Posso, tudo posso, naquele que me fortalece.”

Filip. 4:13

Resumo

A retocolite ulcerativa (RCU), uma das DII mais prevalentes e de caráter multifatorial, é caracterizada por uma inflamação crônica no cólon que compromete a integridade da barreira intestinal. O comprometimento dessa barreira pode desencadear o aumento de marcadores inflamatórios e a infiltração de neutrófilos e consequentemente o aumento da mieloperoxidase (MPO) no tecido. Essa inflamação provoca um acúmulo de espécies reativas de oxigênio que leva a um quadro de estresse oxidativo no local. A metaloproteinase 9 (MMP-9), uma enzima com a função de degradar matriz extracelular, atua como importante marcador da RCU na fase aguda. Além desses fatores endógenos, existem fatores ambientais relacionados RCU. A obesidade, por exemplo, é uma inflamação crônica de baixo grau e estudos prévios demonstraram que ela agrava as doenças inflamatórias intestinais (DII). Estima-se que 15-40% dos pacientes com DII são obesos. A obesidade é uma doença caracterizada por uma inflamação crônica de baixo grau que tem aumentado significativamente sua incidência em países desenvolvidos, acompanhando a crescente prevalência das doenças inflamatórias intestinais (DII). Esse cenário reforça a importância de aprofundar o entendimento sobre a relação entre obesidade e DII. O mirceno é um monoterpene com ação antioxidante e anti-inflamatória que promoveu a reconstrução da barreira mucosa em roedores com úlceras gástricas. O objetivo do trabalho foi avaliar a ação do mirceno na RCU agravada pelo quadro de obesidade induzida por dieta hiperlipídica (HFD) em camundongos machos C57BL/J6 ($n=15$). Para isso, os animais foram submetidos à indução de obesidade com HFD (60% de lipídeos) por 18 semanas, denominado de HFD e o outro grupo recebeu dieta padrão (16,7% de lipídeos) denominado DP durante o mesmo período (CEUA nº 5437170821). Em seguida, foi ofertada água com 3% de Dextran sulfato de sódio (DSS) por sete dias para a indução da RCU. Posteriormente, os animais receberam seus respectivos tratamentos orais: Tween 80 a 1% (veículo)-TW, Mirceno (7,5 mg/kg) e o grupo controle (sem RCU). Nesse período de 7 dias, se avaliou o índice de atividade da doença (IAD) e posteriormente, os animais foram eutanasiados e o cólon foi coletado para análises. Nas análises estatísticas, foi utilizado teste de Kruskal-Wallis, e análise de variância (one-way ANOVA) seguida do teste de Tukey. Para os resultados com mais de uma variável foi utilizado two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni ou teste t de Student. O valor mínimo de significância estatística considerado nesse trabalho foi de $p<0,05$. A HFD ofertada foi capaz de promover aumento da massa corporal ($p<0,0001$), índice de adiposidade ($p<0,001$) e alteração glicêmica ($p<0,05$) nos animais obesos em relação aos DP. Posteriormente, após a indução da RCU, houve maior gravidade no quadro de RCU, inclusive com maior taxa de mortalidade ($p<0,05$), dos animais HFD em relação aos DP ($p<0,0001$). O tratamento com mirceno foi capaz de reverter o encurtamento do cólon dos animais com RCU ($p<0,01$) e melhorou os sinais como perda de massa corporal, consistência das fezes e presença de sangue nas fezes ($p<0,0001$). O mirceno também foi capaz de diminuir MPO ($p<0,01$) e aumentar a SOD ($p<0,05$) no cólon de animais eutróficos e obesos em relação ao TW. Além disso, foi observado uma diminuição significativa na atividade da MMP-9 nos grupos HFD e DP em relação ao grupo TW ($p<0,05$ e $p<0,0001$). O mirceno contribuiu para a melhora da RCU revertendo o encurtamento do cólon, proporcionando a reconstrução da barreira pela redução da atividade da MMP-9, promovendo ação antioxidante e anti-inflamatória no cólon, pelo aumento da SOD e redução da MPO, respectivamente.

Palavra-chave: Mirceno; Retocolite ulcerativa; obesidade; camundongos

Abstract

Ulcerative Colitis (UC), one of the most prevalent inflammatory bowel diseases (IBD) and multifactorial in nature, is characterized by chronic inflammation in the colon that compromises the integrity of the intestinal barrier. The impairment of this barrier can trigger increased inflammatory markers and neutrophil infiltration, consequently leading to an increase in myeloperoxidase (MPO) in the tissue. This inflammation causes an accumulation of reactive oxygen species, resulting in oxidative stress at the site. Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), an enzyme responsible for degrading the extracellular matrix, acts as an important marker of UC during its acute phase. In addition to these endogenous factors, environmental factors are also associated with UC. Obesity, for example, is a chronic low-grade inflammation, and previous studies have shown that it worsens inflammatory bowel diseases (IBD). It is estimated that 15-40% of patients with IBD are obese. Obesity is a disease characterized by chronic low-grade inflammation and has significantly increased in prevalence in developed countries, following the rising prevalence of inflammatory bowel diseases (IBD). This scenario emphasizes the importance of deepening our understanding of the relationship between obesity and IBD. Myrcene is a monoterpene with antioxidant and anti-inflammatory actions that has promoted the reconstruction of the mucosal barrier in rodents with gastric ulcers. The aim of this study was to evaluate the action of myrcene in UC aggravated by obesity induced by a high-fat diet (HFD) in male C57BL/J6 mice (n=15). To this end, the animals were subjected to obesity induction with HFD (60% lipids) for 18 weeks, termed HFD, and the other group received a standard diet (16.7% lipids), termed SD, during the same period (CEUA no. 5437170821). Subsequently, 3% dextran sulfate sodium (DSS) water was offered for seven days to induce UC. Afterward, the animals received their respective oral treatments: 1% Tween 80 (vehicle)-TW, myrcene (7.5 mg/kg), and the control group (no UC). During this 7-day period, the disease activity index (DAI) was evaluated, and later, the animals were euthanized, and the colon was collected for analyses. Statistical analysis was performed using the Kruskal-Wallis test and one-way ANOVA followed by Tukey's test. For results with more than one variable, two-way ANOVA was used, followed by Bonferroni's test or Student's t-test. The minimum statistical significance considered in this work was $p < 0.05$. The HFD was able to promote increased body mass ($p < 0.0001$), adiposity index ($p < 0.001$), and glucose alterations ($p < 0.05$) in obese animals compared to the SD. After UC induction, there was greater severity of UC, including higher mortality rate ($p < 0.05$) in the HFD animals compared to SD ($p < 0.0001$). Myrcene treatment was able to reverse the colon shortening in UC animals ($p < 0.01$) and improved signs such as body mass loss, stool consistency, and presence of blood in the stools ($p < 0.0001$). Myrcene also decreased MPO ($p < 0.01$) and increased SOD ($p < 0.05$) in the colon of eutrophic and obese animals compared to the TW group. Furthermore, a significant decrease in MMP-9 activity was observed in the HFD and SD groups compared to the TW group ($p < 0.05$ and $p < 0.0001$). Myrcene contributes to the improvement of UC by reversing colon shortening, promoting the reconstruction of the barrier through the reduction of MMP-9 activity, and providing antioxidant and anti-inflammatory actions in the colon by increasing SOD and reducing MPO, respectively.

Keywords: Myrcene; Ulcerative colitis; Obesity; Mice.

Lista de Figuras

Figura 1 -Linha do tempo dos períodos de indução de obesidade, RCU e tratamento dos animais.....	25
Figura 2 -(A), (B) e (C): Evolução da massa corporal, massa total dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e visceral e índice de adiposidade, respectivamente. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=15-44) e a significância estatística foi determinada (A) pela ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni, (B) e (C) foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste t. **** $p<0,0001$ em relação ao grupo DP.....	30
Figura 3 : Ingestão alimentar dos camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=44) e a significância estatística foi determinada pelo teste t de Student. **** $p<0,0001$	31
Figura 4 -(A), (B), (C) e (D): Testes de tolerância à glicose (TTG) e à insulina (TTI), Área sob a curva de TTG e TTI, respectivamente. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=7) e a significância estatística foi determinada (A) pela ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni, (C) e (D) foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste t. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$, em relação ao grupo DP.....	33
Figura 5 - Índice de atividade da doença (IAD) (n=35) no período de 14 dias (7 dias de indução da RCU+7 dias de tratamento). Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=32-44) e a significância estatística foi determinada pelo teste de Kruskal Wallis. ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; **** $p<0,0001$, em relação ao grupo DP.....	34
Figura 6 - Taxa de mortalidade no período de 14 dias (7 dias de indução da RCU+7 dias de tratamento). Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=21-35) e a significância estatística foi determinada pelo teste de Mantel-Cox. * $p<0,05$ em relação ao grupo DP.....	35
Figura 7 - A, B, C e D Massa, comprimento, comprimento pela massa do cólon e imagem representativa do cólon de camundongos DP e HFD, respectivamente, de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=10-15) e a significância estatística foi determinada pelo teste t. * $p<0,05$, em relação ao grupo DP.....	36
Figura 8 - A, B e C Atividade da mieloperoxidase (MPO) de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=5) e a significância estatística foi determinada pelo teste t.....	37
Figura 9 - A, B e C atividade da MMP-2, 9 e imagem gel, respectivamente, de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=4-5) e a significância estatística foi determinada pelo teste t. * $p<0,05$, em relação ao grupo DP.....	38
Figura 10 - A, B e C: TBARS, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), respectivamente, de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=4-5) e a significância estatística foi determinada pelo teste t. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ em relação ao grupo DP.....	39
Figura 11 - A, B, C e D Índice de atividade da doença (IAD) no período de 7 dias de tratamento animais DP e HFD, massa corporal períodos de indução de RCU e tratamentos grupos DP e HFD, respectivamente. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=10-26) e a significância estatística foi determinada pelo teste de Kruskal Wallis. ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; **** $p<0,0001$, em relação ao grupo TW (DP ou HFD).....	42

Figura 12- A, B e C: Comprimento do cólon, Relação comprimento e massa do cólon e Imagem representativa dos cólons de cada grupo, respectivamente, de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=7-21) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; **** $p<0,0001$, em relação ao grupo controle dentro de cada grupo (DP ou HFD) e # $p<0,05$; ## $p<0,01$, em relação ao grupo TW dentro de cada grupo (DP ou HFD).....45

Figura 13– Atividade da mieloperoxidase (MPO) de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=3-7) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p<0,05$; **** $p<0,0001$, em relação ao grupo controle dentro de cada grupo (DP ou HFD) e ## $p<0,01$, em relação ao grupo TW dentro de cada grupo (DP ou HFD).....47

Figura 14– A, B e C: Atividade da metaloproteinase de matrix 2, 9 e imagem gel, respectivamente (MMP-2 e 9) de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=4-7) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. ** $p<0,01$; **** $p<0,0001$, em relação ao grupo controle dentro de cada grupo (DP ou HFD) e # $p<0,01$; #### $p<0,0001$, em relação ao grupo TW dentro de cada grupo (DP ou HFD).....48

Figura 15– A, B e C: TBARS, Atividade da SOD e CAT, respectivamente de camundongos C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=4-7) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; **** $p<0,0001$, em relação ao grupo controle dentro de cada grupo (DP ou HFD) e # $p<0,05$; ## $p<0,01$, em relação ao grupo TW dentro de cada grupo (DP ou HFD).....50

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição das rações utilizadas na dieta padrão e hiperlipídica (HFD).....	23
Tabela 2 - Pontuação IAD.....	26
Tabela 3 - Grupos experimentais e respectivos tratamentos.....	26
Tabela 4 - Peso relativo e absoluto do fígado, baço, rins e coração de camundongos C57BL/J6 tratados por 7 dias com Mirceno na dose de 7,5 mg/kg g/kg.....	44

Lista de Abreviatura

- Ácido tiobarbitúrico (TBARS)
- Área sob a curva (AUC)
- Catalase (CAT)
- Células epiteliais intestinais (CEI)
- Células linfóides (ICLs)
- Células Natural Killer (NK)
- Dextran sulfato de sódio (DSS)
- Diabetes mellitus do tipo 2 (DM2)
- Dieta hiperlipídica (HFD)
- Dieta padrão DP
- Doença de Crohn (DC)
- Doenças Inflamatórias intestinais (DII).
- Espécies reativas de oxigênio (EROs)
- Fator de necrose tumoral (TNF)- α .
- Fator nuclear Kappa-B (NF-kB)
- Índice de atividade da doença (IAD)
- Interferon gama (IFN- γ)
- Interleucina (IL) 1 β , 4, 5, 6, 10, 13, 17, 18, 22, 23, 33 e 37
- Lipopolissacarídeo (LPS).
- Malondialdeído (MDA)
- Metaloproteinases de matriz (MMPs) 2 e 9
- Mieloperoxidase (MPO)
- Mucina 1 (MUC1)
- Mucinas 2 e 3 (MUC2 e MUC3)
- Óxido nítrico (NO)
- Óxido nítrico sintase induzida (iNOS)
- Proteínas de junções estreitas (TJs)
- Receptor do tipo Toll (TLR)-4
- Retocolite ulcerativa (RCU)
- Superóxido dismutase (SOD)
- Testes de tolerância à glicose (TTG) e
- Testes de tolerância à insulina (TTI)
- Trato gastrointestinal (TGI)
- Zonulinas (ZO)

Sumário

1.	Introdução.....	15
2.	Objetivos	22
2.1	Objetivos específicos:	22
3.	Material e Métodos	23
3.1	Animais.....	23
3.1.1	Indução de obesidade com oferta de HFD.....	23
3.2	Modelo Experimental.....	24
3.2.1	Indução de obesidade com oferta de dieta HFD	24
3.2.2	Índice de adiposidade	24
3.2.3	Indução de RCU por DSS	24
3.2.4	Tratamentos e Coleta de Material	25
3.2.5	Índice de atividade da doença (IAD)	25
3.2.6	Testes de tolerância à glicose (TTG) e à insulina (TTI)	26
3.3	Determinação de parâmetros bioquímicos	27
3.3.1	Quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	27
3.3.2	Determinação da atividade de mieloperoxidase (MPO).....	27
3.3.3	Determinação da atividade de superóxido dismutase (SOD)	27
3.3.4	Quantificação de catalase (CAT)	28
3.4	Análise por Zimografia	28
3.4.1	Zimografia para avaliação das metaloproteinases (MMPs 2 e 9)	28
3.5	Análise Estatística.....	28
4.	Resultados e discussão.....	29
4.1	Capítulo 1: A obesidade agrava o quadro de RCU?	29
4.2	Capítulo 2: Ação do mirceno no quadro de RCU agravado pela obesidade.	41
5.	Conclusão	51
6.	Perspectivas futuras.....	51
7.	Referências.....	52
8.	Anexo-1: Protocolo n°7908030622-CEUA.....	60

1. Introdução

O estilo de vida é um fator muito importante no desenvolvimento e no curso de determinadas doenças, como por exemplo as doenças inflamatórias intestinais (DII).¹ As DII são distúrbios que têm como característica uma inflamação crônica no intestino.² A doença de Crohn (DC) e a RCU são DII cuja prevalência têm aumentado significativamente em todo o mundo.³ No quadro de RCU é característico uma inflamação crônica com ciclos alternados de recidiva e remissão e, diferentemente da DC, que pode atingir grande parte do intestino, a RCU promove lesões mais limitadas ao reto e cólon descendente e sua natureza progressiva pode ser muitas vezes subestimada.^{4,5} Estudos estimam que na Europa os custos anuais relacionados a RCU variam de 12,5 a 29,1 bilhões de euros e nos Estados Unidos 8,1 a 14,9 bilhões de dólares.⁶ Dados epidemiológicos apontam que a incidência da RCU no mundo varia de 6 a 24 casos a cada 100 mil pessoas por ano e foi observado maior incidência dessa doença na população de países ocidentais em que o processo de industrialização é mais avançado.^{7,8} Ademais, dados mostram que pacientes com a RCU têm maiores chances de desenvolver câncer colorretal, sendo a causa de 15% de toda mortalidade em pacientes com DII.⁹ Os dados recentes sobre a RCU no Brasil indicam um crescimento expressivo dessas doenças nos últimos anos. Estudos mostram que a prevalência de DII, como a RCU, está aumentando a uma taxa de 14,8% ao ano, principalmente em áreas urbanizadas, como nas regiões Sudeste e Sul. Em 2020, a incidência de RCU no país foi estimada em 7 novos casos por 100 mil habitantes, enquanto a prevalência totalizou aproximadamente 100 casos por 100 mil habitantes no sistema público de saúde.^{10,11}

Os estudos em torno dos fisiopatologia envolvida no desenvolvimento da RCU não são muito bem esclarecidos, dessa forma, pouco se sabe sobre os gatilhos para essa doença, porém sugere-se que ela possui um caráter multifatorial que pode envolver pelo menos quatro fatores principais: a microbiota intestinal, resposta imune inadequada da mucosa, fatores genéticos e fatores ambientais.¹²⁻¹⁴

A relação da composição da microbiota intestinal e as DII vem sendo explorada mais recentemente.¹⁵ Pacientes com DII geralmente apresentam um desequilíbrio na microbiota intestinal, quadro conhecido como disbiose, apesar dessa evidência, ainda existe um grande debate na literatura para esclarecer se a disbiose é a causa ou uma consequência da inflamação intestinal, muitas evidências têm apontado que determinados tipos de

bactérias são capazes de modular a resposta imune local.^{12,15} A disbiose é caracterizada por um desequilíbrio das bactérias presentes no intestino.¹² A integridade intestinal exige proporções equilibradas de bactérias que residem no intestino, além disso exige também a quantidade saudável e funcionalidade de determinadas bactérias.¹⁶ Em modelos animais de indução de RCU o consumo de dextran sulfato de sódio (DSS) provocou alterações na microbiota intestinal, especialmente no gênero *Clostridium* e na família *Enterobacteriaceae* de bactérias, o que corrobora com dados da literatura que apontam essas mesmas alterações em indivíduos com RCU.¹²

O comprometimento da homeostase e da microbiota intestinal é determinante no desenvolvimento da RCU, pois pacientes que possuem essa doença apresentam uma alteração da homeostase intestinal com o quadro de disbiose associado.¹⁸ Garantir a homeostase também significa assegurar a proteção da camada de muco que é uma barreira localizada entre a microbiota intestinal e a superfície epitelial, afinal essa barreira tem a função de impedir a infiltração de bactérias no epitélio, mantendo a integridade da permeabilidade intestinal e evitando a absorção de metabólitos bacterianos através do epitélio.^{12,19,20} Essa camada de muco é composta principalmente por mucinas que são glicoproteínas que podem ser divididas em duas grandes classes: transmembranas e as produtoras de gel.¹⁹ As mucinas presentes no grupo das proteínas transmembranas têm função citoprotetora em todo o trato gastrointestinal (TGI), a mucina 1 (MUC1) é característica dessa classe e num quadro de RCU foi observado o aumento exacerbado do gene M1/MUC5AC que é responsável pela produção de MUC1.^{19,21,22} Dentre as mucinas da classe produtoras de gel, que têm a função de reconstrução e proteção da mucosa intestinal, existem as mucinas 2 e 3 (MUC2 e MUC3) que são muito importantes no processo de desenvolvimento da RCU.^{19,23} Gaudier e colaboradores (2004) mostraram que a MUC2 tem sua expressão regulada por ácidos graxos de cadeia curta como butirato e propionato, produtos de bactérias comensais do intestino.²⁴ Além disso, foi observado num modelo crônico de indução RCU por DSS, um aumento acentuado no mRNA do principal componente da MUC2 em camundongos.²⁵ Durante o quadro de RCU induzida por DSS em camundongos já foi destacado também uma depleção do gene relacionado com a expressão de MUC3 e comprometimento da camada de muco.^{25,26} Esses estudos demonstram a importância de se avaliar essas mucinas que estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento da RCU e com a integridade da camada de muco.

O comprometimento dessa camada de muco pode ser determinante no quadro de RCU, podendo levar a um aumento da permeabilidade intestinal.²⁷⁻²⁹ A barreira epitelial é constituída principalmente por estruturas intercelulares conhecidas como proteínas de junções estreitas (TJs).³⁰ Essas estruturas são compostas por diversos tipos de proteínas transmembranas que auxiliam na fixação às células adjacentes. Exemplos dessas proteínas são: ocludinas, claudinas e zonulinas (ZO).³⁰ Alterações nessas proteínas podem levar ao comprometimento da barreira epitelial causando distúrbios da parede intestinal o que pode ser um fator importante na etiologia da RCU.³¹ O excesso no consumo de dietas ricas em gorduras (dietas ocidentais) tem sido associado a mudanças nessa barreira intestinal e na composição da microbiota podendo desencadear um quadro de endotoxemia que está intimamente associado a obesidade e também a DII.³²

Esse quadro de endotoxemia pode levar a produção de um arsenal de mediadores pró-inflamatórios por células linfóides inatas (ICLs) como interleucinas (IL)-17, IL-22, IL-23 e interferon gama (IFN- γ). As células epiteliais presentes no intestino (CEI) têm a capacidade de ativar as ICLs contribuindo com a produção de citocinas associadas ao dano celular e apoptose, como IL-18, IL-33 e IL-37 criando um ambiente inflamatório acentuado propício para o comprometimento das proteínas da TJs.^{31,33,34} Também, durante o desenvolvimento do quadro de RCU, células Natural Killer (NK) são ativadas e posteriormente produzem excessivamente IL-13, que em altas concentrações podem causar danos na barreira intestinal, mudanças nas TJs e induzir apoptose das CEI.³¹

Outros marcadores importantes do percurso da RCU são as metaloproteinases de matriz (MMPs).^{35,36} As MMPs têm a função de degradação da matriz extracelular, através da ativação ou degradação de uma variedade de substratos como quimiocinas, citocinas, fatores de crescimento e TJs.^{37,38} Em um estudo realizado por Rodríguez-Nogales e colaboradores (2017) com um modelo de indução de RCU em camundongos por DSS foi demonstrado que a expressão das MMP-2 e MMP-9 aumentam nos animais com RCU em comparação com os animais saudáveis e que esse aumento pode estar relacionado com mediadores inflamatórios que estão altamente expressos em animais com RCU.³⁹

Outra característica do quadro de RCU é a infiltração de neutrófilos no tecido.^{40,41} Um importante marcador da infiltração de neutrófilos é a enzima mieloperoxidase (MPO) que está presente nos neutrófilos. Essa enzima é responsável pela ativação de vias inflamatórias, como por exemplo a via do fator nuclear Kappa- β (NF- κ B). Essa

via, quando ativada, promove a produção de mediadores pró-inflamatórios como IL-6, IL-1 β e o fator de necrose tumoral (TNF)- α .⁴² O desequilíbrio na produção de citocinas pró-inflamatórias e de citocinas anti-inflamatórias como IL-4, IL-13 e IL-10 é característico no quadro da RCU. Existe também uma correlação positiva entre a concentração aumentada de óxido nítrico (NO) e a gravidade da doença.⁴³ NO é produzido a partir da oxidação realizada pela enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS), ademais, no percurso da RCU as citocinas pró-inflamatórias estão relacionadas com a regulação desta enzima.⁴³ A iNOS é altamente expressa após a ativação da via NF- κ B em resposta a diversos estímulos como TNF- α , IFN- γ , IL-6 e o lipopolissacarídeo (LPS). Já foi demonstrado que o NO tem efeito protetor no modelo de RCU aguda, porém em pacientes com DII os altos níveis de NO produzidos promovem danos aos tecidos e uma exacerbação da inflamação.⁴³ Além de ocorrer uma exacerbação do perfil pró-inflamatório no quadro de RCU, ocorre também um desequilíbrio na produção de mediadores anti-inflamatórios. Durante essa doença níveis reduzidos de IL-4 na mucosa são observados, contudo, os níveis de IL-5 e IL-10 estão altamente expressas, apesar de ocorrer esse aumento isso não é suficiente para inibir a atividade de monócitos e macrófagos.⁴⁴

Além do quadro inflamatório na RCU, outra característica dessa doença é o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que têm um papel importante na progressão e piora do quadro de RCU.⁴⁵ A liberação de EROs ocorre devido a um desequilíbrio na homeostase, provocando um estresse oxidativo no tecido.⁴⁵ Para reverter esse estresse oxidativo fatores tanto enzimáticos, quanto não enzimáticos, atuam no controle desse quadro provocado pelas EROs. A catalase (CAT), por exemplo, é uma enzima que tem função de catalisar a quebra do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio diminuindo os danos no tecido. Outra enzima é superóxido dismutase (SOD) que está envolvida na conversão do ânion superóxido em oxigênio molecular e peróxido.^{46,47} Estudos já demonstraram a diminuição de CAT no cólon diante de um quadro de RCU.⁴⁸ Foi observado também, no quadro de RCU, menor atividade da SOD.^{45,49} Todas essas alterações atuam de forma direta no aumento da peroxidação lipídica o que acarreta a liberação de malondialdeído (MDA), um importante marcador do estresse oxidativo.^{45,49}

Como já mencionado, fatores como a integridade da microbiota e disfunções na resposta imune são fundamentais na progressão do quadro de RCU. Além desses fatores endógenos, também existem os fatores

ambientais (fatores exógenos), que têm um papel de extrema relevância no desenvolvimento dessa doença.^{12,50}

As DII tradicionalmente estão associadas a um estado de desnutrição em pacientes com baixo peso, porém dados dos últimos 20 anos apontam taxas crescentes da incidência de obesidade em pacientes com DII, esses dados correspondem com a epidemia de obesidade na população, em geral.⁵⁰ Estima-se que 15-40% dos pacientes com DII são obesos. Está bem estabelecido pela literatura que a obesidade tem aumentado a sua incidência em países desenvolvidos e que sua prevalência caminha ao lado do aumento da incidência de DII e essas informações tornam o esclarecimento da relação entre obesidade e DII cada vez mais necessário.⁵⁰

É cada vez mais reconhecido que a obesidade é caracterizado por um quadro inflamatório crônico de baixo grau e que essa doença tem sido um fator de risco para fatores adversos em várias outras condições inflamatórias crônicas.⁵¹ A obesidade ocorre devido a um aumento no consumo energético, combinado com um baixo gasto energético, levando ao aumento do tecido adiposo e resultando em condições nocivas à saúde. O tecido adiposo que antes era tido como um tecido inerte, hoje é considerado como um grande órgão endócrino, capaz de produzir substâncias chamadas adipocinas, algumas delas pró-inflamatórias, como por exemplo TNF- α , IL-6, IL-1 β dentre outras.⁵¹ É típico desse quadro, uma disbiose associada.^{52,53} Em modelos experimentais essa alteração da microbiota intestinal durante a obesidade pode ser induzida através do consumo de dieta hiperlipídica (HFD) em camundongos.^{17,54,55} O aumento do tecido adiposo e essas alterações na microbiota intestinal favorecem uma resposta inflamatória no intestino e essa resposta inflamatória provoca uma série de alterações que podem comprometer as TJs causando, como consequência, um aumento da permeabilidade intestinal.⁵⁶ O aumento na permeabilidade intestinal provoca o extravasamento de LPS para a circulação gerando um quadro de endotoxemia metabólica.^{42,57} O LPS circulante ativa o receptor do tipo Toll (TLR)-4 e acarretando no aumento da produção de mediadores inflamatórios, como por exemplo IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ .^{58,59} Essas alterações são mantidas e agravadas pela continuidade na ingestão de dietas desbalanceadas aumentando o tamanho e número de adipócitos, elevando ainda mais a produção de mediadores pró-inflamatórios provocando um quadro denominado metainflamação.⁵⁹

Esse ambiente inflamatório característico da obesidade pode provocar um agravamento no quadro de RCU. Em um modelo animal com camundongos obesos de indução de RCU por DSS, ocorreu o surgimento de lesões

no cólon, dano epitelial e um encurtamento no comprimento do cólon quando comparados ao grupo de animais saudáveis.⁶⁰ Em outro estudo, camundongos obesos apresentaram um aumento de células NK e também um aumento na produção de TNF- α e IFN- γ no cólon.⁶¹ A inflamação causada pela obesidade pode agravar ainda mais o quadro de RCU através da produção de mediadores inflamatórios como TLR-4, IL-6 e TNF- α no cólon e tecido adiposo visceral de camundongos alimentados com HFD.^{7,62}

São vários os tipos de modelos pré-clínicos para induzir RCU, uma das formas é através do DSS.⁶³ Esse reagente é o produto químico mais amplamente utilizado no mundo para a indução de colite ulcerativa em roedores, devido à sua ampla disponibilidade, praticidade, custo-benefício e capacidade de reproduzir aspectos clínicos, histológicos e imunofisiológicos da doença.⁶³ O DSS provoca ruptura da barreira epitelial ao carregar uma elevada carga negativa.⁶³ Essa característica o torna tóxico para o epitélio, induzindo erosões que comprometem a integridade da barreira e aumentam a permeabilidade intestinal.⁶³ Dentre os sinais que os animais apresentam após o consumo de DSS de 4 a 6 dias temos ~~por exemplo~~ a diarreia, presença de sangue nas fezes e perda de massa corporal, dentre outros sinais.⁶³ Também, durante a eutanásia, o encurtamento do cólon e o aumento do seu peso são alterações macroscópicas típicas observadas nos animais com RCU induzidas por DSS.⁶³ Alguns dos sinais clínicos e alterações macroscópicas desse modelo estão fortemente relacionados a mudanças na microbiota, depleção de células caliciformes e mucinas, presença de ulcerações e erosões na mucosa epitelial, além de intensa infiltração de linfócitos e granulócitos.⁶³ Devido a sua possibilidade de aplicabilidade em diversos submodelos (agudo, crônico e de remissão), o DSS se torna muito eficaz na indução de RCU.⁶³

O tratamento da RCU envolve uma variedade de medicamentos que têm como objetivo reduzir a inflamação, induzir remissão e prevenir recaídas. A escolha do tratamento depende da gravidade da doença e da resposta do paciente. As principais opções terapêuticas atuais são aminossalicilatos, corticosteroides, imunossuppressores, entre outros.^{64,65} Apesar da variedade de medicamentos indicados para o tratamento dos quadros de DII, eles agem apenas contra os sintomas, tendo o papel de manter o paciente em remissão para melhorar os efeitos secundários da doença em vez de reverter o mecanismo patogênico.⁶⁶ Assim como na obesidade, há a necessidade de uma abordagem terapêutica combinada que muitas vezes são ineficazes a longo prazo, apresentando efeitos adversos significativos como o efeito rebote do ganho de peso.⁶⁷ Diante da dificuldade de

execução das abordagens existentes e manutenção das injúrias recorrentes em doenças do TGI é necessário a busca por agentes com ação farmacológica que atuem com amplo espectro nos quadros patológicos.

O mirceno (7-metil-3-metileno-1,6-octadieno) é um monoterpreno que possui estrutura acíclica e insaturada e pode sofrer uma série de reações e ser usado como precursor de muitos derivados de monoterprenos.⁶⁸ É encontrado em muitas plantas como capim-limão, lúpulo e verbena.⁶⁹ Bonamin e colaboradores (2014) que o mirceno administrado oralmente (7,5 mg/kg) possui ação gastroprotetora através de um modelo de indução de úlcera gástrica por fármacos anti-inflamatórios não esteroidais com prevenção da formação da lesão em 74%.⁷⁰ Esses estudos também comprovaram a ação gastroprotetora do mirceno, na mesma dose, frente as lesões gástricas induzidas por isquemia e reperfusão, prevenindo a formação da úlcera gástrica em 86%. Esse monoterpreno também foi capaz de reduzir as concentrações de IL-1 e a atividade da MMP-9 nesse tecido. Nesse estudo também comprovaram sua ação antioxidante através da modulação de GPx, glutatona redutase e níveis total de glutatona e sua ação bacteristática num modelo *in vivo* testado frente a *Helicobacter pylori*.⁶⁹ Em um estudo atual, envolvendo o mirceno e a RCU foi observado que o composto foi capaz de suprimir a via NF-Kb e a expressão gênica da citocina TNF- α no cólon de animais tratados por sete dias.⁷¹

São poucos os estudos envolvendo a ação farmacológica do mirceno, e nenhum estudo relacionado com esse monoterpreno na RCU associada a obesidade, porém, diante desses achados, o potencial terapêutico multialvo do mirceno o torna um interessante alvo para alternativas terapêuticas na doença da RCU agravada pelo quadro de obesidade.

7. Referências

1. Rozich, J. J., Holmer, A. & Singh, S. Effect of Lifestyle Factors on Outcomes in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *American Journal of Gastroenterology* **115**, 832–840 (2020).
2. Mahmoudi, E., Mozhgani, S. H. & Sharifinejad, N. The role of mycobiota-genotype association in inflammatory bowel diseases: a narrative review. *Gut Pathog* **13**, 1–9 (2021).
3. Wiendl, M. *et al.* Targeting Immune Cell Trafficking – Insights From Research Models and Implications for Future IBD Therapy. *Front Immunol* **12**, 1–12 (2021).
4. Le Berre, C., Ananthakrishnan, A. N., Danese, S., Singh, S. & Peyrin-Biroulet, L. Ulcerative Colitis and Crohn's Disease Have Similar Burden and Goals for Treatment. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* **18**, 14–23 (2020).
5. Kałużna, A., Olczyk, P. & Komosińska-Vassev, K. The Role of Innate and Adaptive Immune Cells in the Pathogenesis and Development of the Inflammatory Response in Ulcerative Colitis. *J Clin Med* **11**, 400 (2022).
6. Du, L. & Ha, C. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Clin North Am* **49**, 643–654 (2020).
7. Teixeira, L. G. *et al.* The combination of high-fat diet-induced obesity and chronic ulcerative colitis reciprocally exacerbates adipose tissue and colon inflammation. *Lipids Health Dis* **10**, 204 (2011).
8. Matson, J., Ramamoorthy, S. & Lopez, N. E. The Role of Biomarkers in Surgery for Ulcerative Colitis: A Review. *J Clin Med* **10**, 3362 (2021).
9. Silva, M. *et al.* The Anti-Inflammatory Potential of *Mimosa caesalpinii* Following Experimental Colitis: Role of COX-2 and TNF-Alpha Expression. *Drug Res* **68**, 196–204 (2018).
10. Quaresma, A. B., Kaplan, G. G. & Kotze, P. G. The globalization of inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* **35**, 259–264 (2019).
11. Quaresma, A. B. *et al.* Temporal trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases in the public healthcare system in Brazil: A large population-based study. *The Lancet Regional Health - Americas* **13**, 100298 (2022).
12. Nascimento, R. de P. do, Machado, A. P. da F., Galvez, J., Cazarin, C. B. B. & Maróstica Junior, M. R. Ulcerative colitis: Gut microbiota, immunopathogenesis and application of natural products in animal models. *Life Sci* **258**, 118129 (2020).
13. Hu, Y. *et al.* The Communication Between Intestinal Microbiota and Ulcerative Colitis: An Exploration of Pathogenesis, Animal Models, and Potential Therapeutic Strategies. *Front Med (Lausanne)* **8**, (2021).
14. Sehgal, K. & Khanna, S. Gut microbiome and checkpoint inhibitor colitis. *Intest Res* **19**, 360–364 (2021).
15. Pavel, F. M. *et al.* Highlighting the Relevance of Gut Microbiota Manipulation in Inflammatory Bowel Disease. *Diagnostics* **11**, 1090 (2021).
16. Nishida, A. *et al.* Can control of gut microbiota be a future therapeutic option for inflammatory bowel disease? *World J Gastroenterol* **27**, 3317–3326 (2021).

17. Bibbò, S. *et al.* The role of diet on gut microbiota composition. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **20**, 4742–4749 (2016).
18. Shen, Z. H. *et al.* Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation. *World J Gastroenterol* **24**, 5–14 (2018).
19. Paone, P. & Cani, P. D. Mucus barrier , mucins and gut microbiota : the expected slimy partners ? 2232–2243 (2020) doi:10.1136/gutjnl-2020-322260.
20. Johansson, M. E. V. Mucus layers in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* **20**, 2124–2131 (2014).
21. Che, T. C. H., François, S., Bouchet, S., Chapel, A. & Forgue-Lafitte, M.-E. Early lesions induced in rat colon epithelium by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Tissue Cell* **42**, 190–194 (2010).
22. Forgue-Lafitte, M.-E. *et al.* Abnormal expression of M1/MUC5AC mucin in distal colon of patients with diverticulitis, ulcerative colitis and cancer. *Int J Cancer* **121**, 1543–1549 (2007).
23. Alasmoum, H. The roles of transmembrane mucins located on chromosome 7q22.1 in colorectal cancer. *Cancer Manag Res* **13**, 3271–3280 (2021).
24. Coppet, P. De, Buisine, M. P. & Coppet, P. De. Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. 1168–1174 (2021) doi:10.1152/ajpgi.00219.2004.
25. Zolotova, N. A., Polikarpova, A. V., Khochanskii, D. N., Makarova, O. V. & Mikhailova, L. P. Expression of Mucins and Claudins in the Colon during Acute and Chronic Experimental Colitis. *Bull Exp Biol Med* **165**, 434–437 (2018).
26. Sabater, C. *et al.* Intestinal anti-inflammatory effects of artichoke pectin and modified pectin fractions in the dextran sulfate sodium model of mice colitis. Artificial neural network modelling of inflammatory markers. *Food Funct* **10**, 7793–7805 (2019).
27. Zuo, L., Kuo, W. T. & Turner, J. R. Tight Junctions as Targets and Effectors of Mucosal Immune Homeostasis. *Cmgh* **10**, 327–340 (2020).
28. Turner, J. R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology* vol. 9 799–809 Preprint at <https://doi.org/10.1038/nri2653> (2009).
29. Gil-Cardoso, K. *et al.* Effects of flavonoids on intestinal inflammation, barrier integrity and changes in gut microbiota during diet-induced obesity. *Nutr Res Rev* **29**, 234–248 (2016).
30. Panwar, S., Sharma, S. & Tripathi, P. Role of Barrier Integrity and Dysfunctions in Maintaining the Healthy Gut and Their Health Outcomes. *Front Physiol* **12**, (2021).
31. Landy, J. *et al.* Tight junctions in inflammatory bowel diseases and inflammatory bowel disease associated colorectal cancer. *World J Gastroenterol* **22**, 3117–3126 (2016).
32. Hyun, C.-K. Molecular and Pathophysiological Links between Metabolic Disorders and Inflammatory Bowel Diseases. *Int J Mol Sci* **22**, 9139 (2021).
33. Okamoto, R. & Watanabe, M. Role of epithelial cells in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* **51**, 11–21 (2016).

34. Kaistha, A. & Levine, J. Inflammatory Bowel Disease: The Classic Gastrointestinal Autoimmune Disease. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* **44**, 328–334 (2014).
35. Nakov, R. New markers in ulcerative colitis. *Clinica Chimica Acta* **497**, 141–146 (2019).
36. Yasukawa, K., Tokuda, H., Tun, X., Utsumi, H. & Yamada, K. The detrimental effect of nitric oxide on tissue is associated with inflammatory events in the vascular endothelium and neutrophils in mice with dextran sodium sulfate-induced colitis. *Free Radic Res* **46**, 1427–1436 (2012).
37. Jakubowska, K. *et al.* Expressions of Matrix Metalloproteinases (MMP-2, MMP-7, and MMP-9) and Their Inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterol Res Pract* **2016**, 2456179 (2016).
38. Bai, X. *et al.* Changes in MMP-2, MMP-9, inflammation, blood coagulation and intestinal mucosal permeability in patients with active ulcerative colitis. *Exp Ther Med* **20**, 269–274 (2020).
39. Rodríguez-Nogales, A. *et al.* Differential intestinal anti-inflammatory effects of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus salivarius* in DSS mouse colitis: impact on microRNAs expression and microbiota composition. *Mol Nutr Food Res* **61**, 1700144 (2017).
40. Yanai, S., Toya, Y., Sugai, T. & Matsumoto, T. Gastrointestinal Adverse Events Induced by Immune-Checkpoint Inhibitors. *Digestion* 1–9 (2021) doi:10.1159/000518543.
41. Malik, T. F. & Aurelio, D. M. *Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. StatPearls* (2021).
42. Karthikeyan, A. *et al.* Curcumin and Its Modified Formulations on Inflammatory Bowel Disease (IBD): The Story So Far and Future Outlook. *Pharmaceutics* **13**, 484 (2021).
43. Soufli, I., Toumi, R., Rafa, H. & Touil-Boukoffa, C. Overview of cytokines and nitric oxide involvement in immuno-pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* **7**, 353 (2016).
44. MELGAR, S. *et al.* Over-expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* **134**, 127–137 (2003).
45. Lei, L., Zhang, J., Decker, E. A. & Zhang, G. Roles of Lipid Peroxidation-Derived Electrophiles in Pathogenesis of Colonic Inflammation and Colon Cancer. *Front Cell Dev Biol* **9**, (2021).
46. Arafa, H. M. M., Hemeida, R. A., El-Bahrawy, A. I. M. & Hamada, F. M. A. Prophylactic role of curcumin in dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis murine model. *Food and Chemical Toxicology* **47**, 1311–1317 (2009).
47. Oz, H. S., Chen, T. S., McClain, C. J. & de Villiers, W. J. S. Antioxidants as novel therapy in a murine model of colitis. *J Nutr Biochem* **16**, 297–304 (2005).
48. Mahmoud, T. N. *et al.* Canna x generalis L.H. Bailey rhizome extract ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis via modulating intestinal mucosal dysfunction, oxidative stress, inflammation, and TLR4/ NF- κ B and NLRP3 inflammasome pathways. *J Ethnopharmacol* **269**, 113670 (2021).
49. Mather-Mihaich, E. & Di Giulio, R. T. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde, glutathione and methemoglobin concentrations in channel catfish exposed to def and N-butyl

- mercaptan. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* **85**, 427–432 (1986).
50. Weissman, S. *et al.* Obesity in Inflammatory Bowel Disease Is Associated with Early Readmissions Characterised by an Increased Systems and Patient-level Burden. *J Crohns Colitis* (2021) doi:10.1093/ecco-jcc/jjab088.
 51. Johnson, A. & Loftus, E. Obesity in inflammatory bowel disease: A review of its role in the pathogenesis, natural history, and treatment of IBD. *Saudi Journal of Gastroenterology* **27**, 183 (2021).
 52. Bouter, K. E., van Raalte, D. H., Groen, A. K. & Nieuwdorp, M. Role of the Gut Microbiome in the Pathogenesis of Obesity and Obesity-Related Metabolic Dysfunction. *Gastroenterology* **152**, 1671–1678 (2017).
 53. Bäckhed, F. *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 15718–15723 (2004).
 54. Hotamisligil, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* **444**, 860–867 (2006).
 55. Miniñane, A. M. *et al.* Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *British Journal of Nutrition* **114**, 999–1012 (2015).
 56. Gregor, M. F. & Hotamisligil, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* **29**, 415–445 (2011).
 57. Neves, A. L. *et al.* The microbiome and its pharmacological targets: therapeutic avenues in cardiometabolic diseases. *Curr Opin Pharmacol* **25**, 36–44 (2015).
 58. Genuth, S. M. Diabetologia Effect of High Fat vs. High Carbohydrate Feeding on the Development of Obesity in Weanling Mice. *Diabetologia* **12**, 155–159 (1976).
 59. Fain, J. N., Madan, A. K., Hiler, M. L., Cheema, P. & Bahouth, S. W. Comparison of the Release of Adipokines by Adipose Tissue, Adipose Tissue Matrix, and Adipocytes from Visceral and Subcutaneous Abdominal Adipose Tissues of Obese Humans. *Endocrinology* **145**, 2273–2282 (2004).
 60. Cheng, L. *et al.* High fat diet exacerbates dextran sulfate sodium induced colitis through disturbing mucosal dendritic cell homeostasis. *Int Immunopharmacol* **40**, 1–10 (2016).
 61. Ma, X., Torbenson, M., Hamad, A. R. A., Soloski, M. J. & Li, Z. High-fat diet modulates non-CD1d-restricted natural killer T cells and regulatory T cells in mouse colon and exacerbates experimental colitis. *Clin Exp Immunol* **151**, 130–138 (2008).
 62. Zhang, Y. *et al.* Function Insoluble dietary fiber derived from brown seaweed Laminaria japonica ameliorate obesity-related features via modulating gut microbiota. (2020) doi:10.1039/d0fo02380a.
 63. Nascimento, R. de P. do, Machado, A. P. da F., Galvez, J., Cazarin, C. B. B. & Maróstica Junior, M. R. Ulcerative colitis: Gut microbiota, immunopathogenesis and application of natural products in animal models. *Life Sci* **258**, 118129 (2020).
 64. Kayal, M. & Shah, S. Ulcerative Colitis: Current and Emerging Treatment Strategies. *J Clin Med* **9**, 94 (2019).

65. Ferretti, F., Cannatelli, R., Monico, M. C., Maconi, G. & Ardizzone, S. An Update on Current Pharmacotherapeutic Options for the Treatment of Ulcerative Colitis. *J Clin Med* **11**, 2302 (2022).
66. Silva, Pinto & Mateus. Preclinical Study in Vivo for New Pharmacological Approaches in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review of Chronic Model of TNBS-Induced Colitis. *J Clin Med* **8**, 1574 (2019).
67. Le Berre, C., Ananthakrishnan, A. N., Danese, S., Singh, S. & Peyrin-Biroulet, L. Ulcerative Colitis and Crohn's Disease Have Similar Burden and Goals for Treatment. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* **18**, 14–23 (2020).
68. Soares-Castro, P., Soares, F. & Santos, P. M. Current Advances in the Bacterial Toolbox for the Biotechnological Production of Monoterpene-Based Aroma Compounds. *Molecules* **26**, (2020).
69. Bonamin, F. *et al.* The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: The role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. *Chem Biol Interact* **212**, 11–19 (2014).
70. Bonamin, F. *et al.* The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: The role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. *Chem Biol Interact* **212**, 11–19 (2014).
71. Almarzooqi, S. *et al.* β -Myrcene Mitigates Colon Inflammation by Inhibiting MAP Kinase and NF- κ B Signaling Pathways. *Molecules* **27**, 8744 (2022).
72. Reeves, P. G., Nielsen, F. H. & Fahey, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J Nutr* **123**, 1939–1951 (1993).
73. Mähler, M. *et al.* Differential susceptibility of inbred mouse strains to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **274**, 6–9 (1998).
74. Pan, S. *et al.* Melatonin Attenuates Dextran Sodium Sulfate Induced Colitis in Obese Mice. *Pharmaceuticals* **14**, 822 (2021).
75. Cooper, H. S., Murthy, S. N., Shah, R. S. & Sedergran, D. J. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* **69**, 238–49 (1993).
76. Wang, C.-Y. & Liao, J. K. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. in 421–433 (2012). doi:10.1007/978-1-61779-430-8_27.
77. Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* **95**, 351–358 (1979).
78. Krawisz, J. E., Sharon, P. & Stenson, W. F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology* **87**, 1344–1350 (1984).
79. Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brian, M. & Carrell, R. W. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* **85**, 337–41 (1975).
80. Aebi, H. [13] Catalase in vitro. in 121–126 (1984). doi:10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
81. Kleiner, D. E. & Stetlerstevenson, W. G. Quantitative Zymography: Detection of Picogram Quantities of Gelatinases. *Anal Biochem* **218**, 325–329 (1994).

82. Pradeepkumar Singh, L., Kundu, P., Ganguly, K., Mishra, A. & Swarnakar, S. Novel role of famotidine in downregulation of matrix metalloproteinase-9 during protection of ethanol-induced acute gastric ulcer. *Free Radic Biol Med* **43**, 289–299 (2007).
83. Ganguly, K. & Swarnakar, S. Chronic gastric ulceration causes matrix metalloproteinases-9 and -3 augmentation: Alleviation by melatonin. *Biochimie* **94**, 2687–2698 (2012).
84. Golden, A. Obesity's Impact. *Nursing Clinics of North America* **56**, xiii–xiv (2021).
85. Auger, C. & Kajimura, S. Adipose Tissue Remodeling in Pathophysiology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* **18**, 71–93 (2023).
86. Kawai, T., Autieri, M. V. & Scalia, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **320**, C375–C391 (2021).
87. WHO. WHO | World Health Organization. *Obesity and overweight* (2024).
88. Doulberis, M. *et al.* Rodent models of obesity. *Minerva Endocrinol* **45**, (2020).
89. Wu, Y.-L. *et al.* Salvia miltiorrhiza Extract and Individual Synthesized Component Derivatives Induce Activating-Transcription-Factor-3-Mediated Anti-Obesity Effects and Attenuate Obesity-Induced Metabolic Disorder by Suppressing C/EBP α in High-Fat-Induced Obese Mice. *Cells* **11**, 1022 (2022).
90. Sharma, B. R., Kim, H. J., Kim, M. S., Park, C. M. & Rhyu, D. Y. Caulerpa okamurae extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and prevents high-fat diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Nutrition Research* **47**, 44–52 (2017).
91. Prior, R. L. *et al.* Whole Berries versus Berry Anthocyanins: Interactions with Dietary Fat Levels in the C57BL/6J Mouse Model of Obesity. *J Agric Food Chem* **56**, 647–653 (2008).
92. Townsend, K. L., Lorenzi, M. M. & Widmaier, E. P. High-fat diet-induced changes in body mass and hypothalamic gene expression in wild-type and leptin-deficient mice. *Endocrine* **33**, 176–188 (2008).
93. Pomplun, D. *et al.* Reduced expression of mitochondrial frataxin in mice exacerbates diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 6377–6381 (2007).
94. Buettner, R. *et al.* Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol* **36**, 485–501 (2006).
95. Ruze, R. *et al.* Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. *Front Endocrinol (Lausanne)* **14**, (2023).
96. Ahmed, B., Sultana, R. & Greene, M. W. Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **137**, 111315 (2021).
97. Silverthorn, D. U. *Fisiologia Humana*. (2017).
98. Chandrasekaran, P. & Weiskirchen, R. The Role of Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus—An Overview. *Int J Mol Sci* **25**, 1882 (2024).
99. Nagy, C. & Einwallner, E. Study of In Vivo Glucose Metabolism in High-fat Diet-fed Mice Using Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) and Insulin Tolerance Test (ITT). *Journal of Visualized Experiments* (2018) doi:10.3791/56672.

100. Ding, L. *et al.* Notoginsenoside Ft1 acts as a TGR5 agonist but FXR antagonist to alleviate high fat diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Acta Pharm Sin B* **11**, 1541–1554 (2021).
101. Kazemifard, N., Golestani, N., Jahankhani, K., Farmani, M. & Ghavami, S. B. Ulcerative colitis: the healing power of macrophages. *Tissue Barriers* 2390218 (2024) doi:10.1080/21688370.2024.2390218.
102. Adolph, T. E. *et al.* The metabolic nature of inflammatory bowel diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **19**, 753–767 (2022).
103. Schleh, M. W. *et al.* Metaflammation in obesity and its therapeutic targeting. *Sci Transl Med* **15**, eadf9382 (2023).
104. Portincasa, P. *et al.* Intestinal Barrier and Permeability in Health, Obesity and NAFLD. *Biomedicines* **10**, (2021).
105. Honap, S. *et al.* Acute severe ulcerative colitis trials: the past, the present and the future. *Gut* (2024) doi:10.1136/gutjnl-2024-332489.
106. Wojcik-Grzybek, D. *et al.* The Combination of Intestinal Alkaline Phosphatase Treatment with Moderate Physical Activity Alleviates the Severity of Experimental Colitis in Obese Mice via Modulation of Gut Microbiota, Attenuation of Proinflammatory Cytokines, Oxidative Stress Biomarkers and DNA Oxidative Damage in Colonic Mucosa. *Int J Mol Sci* **23**, (2022).
107. Sideri, A. *et al.* Effects of obesity on severity of colitis and cytokine expression in mouse mesenteric fat. Potential role of adiponectin receptor 1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **308**, G591-604 (2015).
108. Parray, F. Q. *et al.* Ulcerative colitis: a challenge to surgeons. *Int J Prev Med* **3**, 749–63 (2012).
109. Lauge Kellermann, L. B. R. A close view on histopathological changes in inflammatory bowel disease, a narrative review. *Dig Med Res* 1–15 (2021).
110. Thomas, S., Dilbarov, N., Kelly, J., Mercogliano, G. & Prendergast, G. C. Diet effects on colonic health influence the efficacy of Bin1 mAb immunotherapy for ulcerative colitis. *Sci Rep* **13**, 11802 (2023).
111. Masoodi, I. *et al.* Biomarkers in the management of ulcerative colitis: a brief review. *Ger Med Sci* **9**, Doc03 (2011).
112. Nighot, P. *et al.* Matrix metalloproteinase 9-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability contributes to the severity of experimental DSS colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **309**, G988-97 (2015).
113. Bourgonje, A. R. *et al.* Oxidative Stress and Redox-Modulating Therapeutics in Inflammatory Bowel Disease. *Trends Mol Med* **26**, 1034–1046 (2020).
114. Duryee, M. J. *et al.* Identification of Immunoglobulin G Autoantibody Against Malondialdehyde-Acetaldehyde Adduct as Novel Serological Biomarker for Ulcerative Colitis. *Clin Transl Gastroenterol* (2022) doi:10.14309/ctg.0000000000000469.
115. Muro, P. *et al.* The emerging role of oxidative stress in inflammatory bowel disease. *Front Endocrinol (Lausanne)* **15**, (2024).

116. Furukawa, S. *et al.* Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation* **114**, 1752–1761 (2004).
117. Jomova, K. *et al.* Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol* **97**, 2499–2574 (2023).
118. Jomova, K. *et al.* Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Arch Toxicol* **98**, 1323–1367 (2024).
119. Almarzooqi, S. *et al.* β -Myrcene Mitigates Colon Inflammation by Inhibiting MAP Kinase and NF- κ B Signaling Pathways. *Molecules* **27**, 8744 (2022).
120. Le Berre, C., Honap, S. & Peyrin-Biroulet, L. Ulcerative colitis. *The Lancet* **402**, 571–584 (2023).
121. Rebecca Voelker, M. What Is Ulcerative Colitis? *JAMA PATIENT PAGE* (2024).
122. Lee, E. S. *et al.* Curcumin analog CUR5–8 ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in mice with high-fat diet-induced obesity. *Metabolism* **103**, 154015 (2020).
123. He, L. *et al.* The immunomodulatory role of matrix metalloproteinases in colitis-associated cancer. *Front Immunol* **13**, (2023).
124. Al-Sadi, R. *et al.* MMP-9-induced increase in intestinal epithelial tight permeability is mediated by p38 kinase signaling pathway activation of MLCK gene. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **316**, G278–G290 (2019).
125. Al-Sadi, R. *et al.* Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) induced disruption of intestinal epithelial tight junction barrier is mediated by NF- κ B activation. *PLoS One* **16**, e0249544 (2021).
126. Nighot, P. *et al.* Matrix metalloproteinase 9-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability contributes to the severity of experimental DSS colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **309**, G988–G997 (2015).
127. Jomova, K. *et al.* Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Arch Toxicol* **98**, 1323–1367 (2024).
128. Suzuki, Y., Matsumoto, T., Okamoto, S. & Hibi, T. A lecithinized superoxide dismutase (PC-SOD) improves ulcerative colitis. *Colorectal Disease* **10**, 931–934 (2008).
129. Ashique, S. *et al.* Recent updates on correlation between reactive oxygen species and synbiotics for effective management of ulcerative colitis. *Front Nutr* **10**, (2023).
130. Suzuki, Y., Matsumoto, T., Okamoto, S. & Hibi, T. A lecithinized superoxide dismutase (PC-SOD) improves ulcerative colitis. *Colorectal Disease* **10**, 931–934 (2008).