

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 01/09/2024.

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

OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA HIPERCALÓRICA:  
AVALIAÇÃO DO EFEITO DO CITRAL NA INFLAMAÇÃO  
METABÓLICA

VINÍCIUS PEIXOTO RODRIGUES

PROF<sup>a</sup> ASSOC. CLELIA AKIKO HIRUMA-LIMA

PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> LÚCIA REGINA MACHADO DA ROCHA

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

*Prof.<sup>a</sup> Assoc. C. A. Hiruma-Lima*

BOTUCATU – SP  
2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Campus de Botucatu



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

**OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA HIPERCALÓRICA:  
AVALIAÇÃO DO EFEITO DO CITRAL NA INFLAMAÇÃO  
METABÓLICA**

**VINÍCIUS PEIXOTO RODRIGUES**

**PROF<sup>a</sup> ASSOC. CLELIA AKIKO HIRUMA-LIMA**

**PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> LÚCIA REGINA MACHADO DA ROCHA**

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

*Prof.<sup>a</sup> Assoc. C. A. Hiruma-Lima*

**BOTUCATU – SP  
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Rodrigues, Vinícius Peixoto.

Obesidade induzida por dieta hipercalórica : avaliação do efeito do citral na inflamação / Vinícius Peixoto Rodrigues. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Clelia Akiko Hiruma-Lima

Coorientador: Lúcia Regina Machado da Rocha

Capes: 20100000

1. Obesidade. 2. Dieta hiperlipídica. 3. Inflamação metabólica. 4. Citral.

Palavras-chave: C57BL/6J; Citral; Inflamação metabólica; Obesidade; Swiss.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



## Dedicatória

Para Cristina, Luís, Natália e Tamires

## Agradecimentos

À Professora Clelia, que há dez anos abriu as portas do laboratório para mim e me ajudou a iniciar essa jornada que me proporcionou um incomensurável crescimento científico, didático e pessoal. Um exemplo de profissional de excelência e um ser humano excepcional. À minha mãe científica, meus mais sinceros agradecimentos. Muito obrigado.

À Professora Lúcia Rocha agradeço aos incontáveis puxões de orelha, horas de discussão, polimento didático, reflexões desagradáveis (porém, sempre necessárias) e *insights* quase que proféticos, muito obrigado pelas lições.

Ao Maycon, "Maycão", "Maiquiel", "Mykel", com quem eu tive o privilégio de compartilhar horas e mais horas de trabalho árduo e companheirismo.

À Ximboquinha, Ximbeta, Ximbinha (e demais variações), pelas risadas proporcionadas, deixando o dia a dia mais engraçado.

À Doku, que colocava ordem na casa, mas estava sempre pronta para dar risada.

À Melan, pela paciência. Uma pessoa admirável, pela inteligência e competência.

À Priscila, pela coragem, curiosidade e por me desafiar a ser sempre melhor.

À Gi, que já me aguenta há anos e tem um autocontrole incrível para nunca me bater.

À toda a equipe do laboratório, Renata, Sorriso, Felipinho, Felipe, Mel, pelo trabalho dedicado a me ajudar na execução do meu projeto.

Aos amigos de outros laboratórios, Professora Ana, Alessandra, Vesga, Carolzinha, Fer Evelyn, Isabelinha, Isabelona que me permitiam fugir dos meus trabalhos chatos e acabavam apreciando a mais engraçada coleção de piadas (de nada).

A todos os servidores da UNESP que de alguma forma permitiu o desenvolvimento do meu trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; 88882.183585/2018-01), pelo salário que permitiu me dedicar exclusivamente ao meu trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; 18/09873-0) pelo apoio financeiro concedido.

E a tantas outras pessoas não mencionadas aqui

Muito obrigado.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



*“Todas as pessoas tomam os limites de seu próprio campo de visão, pelos limites do mundo.”*

*Arthur Schopenhauer*

### Prólogo

A execução do projeto de doutorado possibilitou a formação científica possibilitando o desenvolvimento de habilidades necessárias para o planejamento, execução e interpretações de experimentos. Ao longo desse período, foram realizadas outras atividades, no intuito de enriquecer a formação didática e científica do aluno.

### Artigos completos publicados em periódicos

Périco, L. L.; Santos, R. C.; **Rodrigues, V. P.**; Nunes, V. V. A.; Vilegas, W.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A. Role of an antioxidant pathway in the healing of peptic ulcer induced by ischemia-reperfusion in male and female rats treated with *Eugenia punicifolia*. *Inflammopharmacology*. , 2022.

Fagundes, F. L.; Piffer, G. M.; Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Hiruma-Lima, C. A.; Santos, R. C. Chrysin Modulates Genes Related to Inflammation, Tissue Remodeling, and Cell Proliferation in the Gastric Ulcer Healing. *International Journal of Molecular Sciences*. , v.21, p.760 - , 2020.

Lopes, J. A.; **Rodrigues, V. P.**; Tangerina, M. M. P.; Rocha, L. R. M.; Nishijima, C. M.; Nunes, V. V. A.; Almeida, L. F. R.; Vilegas, W.; Santos, A. R. S.; Sannomiya, M.; Hiruma-Lima, C. A. *Machaerium hirtum* (Vell.) Stellfeld Alleviates Acute Pain and Inflammation: Potential Mechanisms of Action. *Biomolecules*. , v.10, p.590 - , 2020.

Périco, L. L.; Emílio-Silva, M. T.; Ohara, R.; **Rodrigues, V. P.**; Bueno, G.; Barbosa-Filho, J. M.; Rocha, L. R. M.; Batista, L. M.; Hiruma-Lima, C. A. Systematic Analysis of Monoterpenes: Advances and Challenges in the Treatment of Peptic Ulcer Diseases. *Biomolecules*. , v.10, p.265 - , 2020.

Ohara, R.; Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Bueno, G.; Zanatta, A. C.; Santos, L. C.; Vilegas, W.; Constatino, F. B.; Júnior, L. A. J.; Hiruma-Lima, C. A. *Terminalia catappa* L. infusion accelerates the healing process of gastric ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. , v.256, p.112793 - , 2020.

Santos, R. C.; Bonamin, F.; Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Zanatta, A. C.; Rodrigues, C. M.; Sannomiya, M.; Ramos, M. A. S.; Bonifácio, B. V.; Bauab, T. M.; Tamashiro, J.; Rocha, L. R. M.; Vilegas, W.; Hiruma-Lima, C. A. *Byrsonima intermedia* A. Juss partitions promote gastroprotection against peptic ulcers and improve healing through antioxidant and anti-inflammatory activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. , v.111, p.1112 - 1123, 2019.

Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Ohara, R.; Nunes, V. V. A.; Rocha, L. R. M.; Vilegas, W.; Santos, C.; Hiruma-Lima, C. A. Can the gastric healing effect of *Eugenia punicifolia* be the same in male and female rats?. *Journal of Ethnopharmacology*. , v.235, p.268 - 278, 2019.

Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Ohara, R.; Bueno, G.; Nunes, V. V. A.; Santos, R. C.; Camargo, A. C. L.; Júnior, L. A. J.; Andrade, S. F.; Steimbach, V. M. B.; Silva, L. M.; Rocha, L. R. M.; Vilegas, W.; Santos, C.; Hiruma-Lima, C. A. Sex-specific effects of *Eugenia punicifolia* extract on gastric ulcer healing in rats. *World Journal Of Gastroenterology*. , v.24, p.4369 - 4383, 2018.

### Capítulos de livros publicados

Santos, R. C.; Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Sannomiya, M.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A. *Byrsonima intermedia* A. Juss. In: Medicinal and Aromatic Plants of the World.1 ed.: Springer Netherlands, 2018, p. 145-152.

Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Almeida, L. F. R.; Fortuna-Perez, A. P.; Vilegas, W.; Hiruma-Lima, C. A. *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek In: Medicinal and Aromatic Plants of the World.1 ed.: Springer Netherlands, 2018, p. 323-335.

### **Estágio Supervisionado em Docência**

Fisiologia Humana

Fisiologia Digestória (30 horas)

Fisiologia Renal (30 horas)

Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências - UNESP - Câmpus de Botucatu.

Metodologia Científica (30 horas)

Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências - UNESP - Câmpus de Botucatu.

Fisiologia Humana

Fisiologia Digestória (30 horas)

Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências - UNESP - Câmpus de Botucatu.

Iniciação Científica (45 horas)

Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências - UNESP - Câmpus de Botucatu.

Farmacodinâmica e Toxicologia Ambiental (60 horas)

Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências - UNESP - Câmpus de Bauru.

### **Atividade de extensão**

Monitor do curso “Reprodução de A a Z”, como parte das atividades do Programas de Extensão Universitária “Difundindo e Popularizando a Ciência na UNESP: Interação entre a Pós-Graduação e o Ensino Básico”, realizado no Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu, 01/2020, Botucatu – SP, duração de 48 horas

Monitor do curso “Reprodução de A a Z”, como parte das atividades do Programas de Extensão Universitária “Difundindo e Popularizando a Ciência na UNESP: Interação entre a Pós-Graduação e o Ensino Básico”, realizado no Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu, 01/2019, Botucatu – SP, duração de 48 horas

Monitor do curso “Reprodução de A a Z”, como parte das atividades do Programas de Extensão Universitária “Difundindo e Popularizando a Ciência na UNESP: Interação entre a Pós-Graduação e o Ensino Básico”, realizado no Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu, 01/2018, Botucatu – SP, duração de 48 horas

### **Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)**

Emilio-Silva, M. T.; Zarricueta, M. L.; **Rodrigues, V. P.**; Raimundo, P. R.; Rocha, L. R. M.;

Hiruma-Lima, C. A. Antipyretic effect of myrcene (MCN) as a potential therapeutic alternative for the treatment of systemic inflammation response (SI) in euthermic rats model In: MOL2NET'21, Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 7th ed., 2021, Paris/Galvestone.

**CHEMBIOMOL-07: Chem. Biol., Med. Chem., & Mol. Biol. Congress.** Basiléia: MDPI, 2021.

**Rodrigues, V. P.;** Emilio-Silva, M. T.; Ohara, R.; Bueno, G.; Raimundo, P. R.; Gomes, V. G.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A. Citral, a valuable aid against metabolic inflammation? In: MOL2NET'21, Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 7th ed., 2021, Paris/Galvestone.

**CHEMBIOMOL-07: Chem. Biol., Med. Chem., & Mol. Biol. Congress.** Basiléia: MDPI, 2021.

Bueno, G.; **Rodrigues, V. P.;** Ohara, R.; Emilio-Silva, M. T.; Assuncao, R.; Gomes, V. G.; Dario, F. L.; Raimundo, P. R.; Fioretto, A. C.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A. Effect of Baccharis trimera Less (DC) essential oil in obese mice on a high-fat diet, part 1. adipose tissues evaluation In: MOL2NET'21, Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 7th ed., 2021, Paris/Galvestone.

**CHEMBIOMOL-07: Chem. Biol., Med. Chem., & Mol. Biol. Congress.** Basiléia: MDPI, 2021.

Fioretto, A. C.; Ohara, R.; Emilio-Silva, M. T.; **Rodrigues, V. P.;** Bueno, G.; Assuncao, R.; Dario, F. L.; Gomes, V. G.; Raimundo, P. R.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A. Evaluation of protective effect of citral on gastroesophageal reflux disease in eutrophic and obese mice In: MOL2NET'21, Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 7th ed., 2021, Paris/Galvestone.

**CHEMBIOMOL-07: Chem. Biol., Med. Chem., & Mol. Biol. Congress.** Basiléia: MDPI, 2021.

Raimundo, P. R.; **Rodrigues, V. P.;** Emilio-Silva, M. T.; Gomes, V. G.; Bueno, G.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A. Is citral's anti-inflammatory action capable of changing the hypothalamic inflammation in obese mice? In: MOL2NET'21, Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 7th ed., 2021, Paris/Galvestone.

**CHEMBIOMOL-07: Chem. Biol., Med. Chem., & Mol. Biol. Congress.** Basiléia: MDPI, 2021.

Ohara, R.; Dario, F. L.; Bueno, G.; **Rodrigues, V. P.;** Emilio-Silva, M. T.; Assuncao, R.; Fioretto, A. C.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A. Modulation of matrix metalloproteinases exerted by Citral in the healing of gastric ulcers in eutrophic and obese mice In: MOL2NET'21, Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 7th ed., 2021, Paris/Galvestone.

**CHEMBIOMOL-07: Chem. Biol., Med. Chem., & Mol. Biol. Congress.** Basiléia: MDPI, 2021.

### **Trabalhos apresentados em congressos**

Emilio-Silva, M. T.; Santos, R. C.; **Rodrigues, V. P.;** Perico, L. L.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A.

**Antidiarrheal activity of Limonene and Citrus aurantium L. on an experimental model of**

**castor oil-induced diarrhea in mice, 2019.**

Emilio-Silva, M. T.; **Rodrigues, V. P.**; Bueno, G.; Ohara, R.; Rocha, L. R. M.; Branco, L. G.; Hiruma-Lima, C. A.

**Citral reduced levels of plasmatic TNF-alpha in mice fed with standard diet (SD) and high-fat diet (HFD) following LPS-induced systemic inflammation, 2019.**

Hiruma-Lima, C. A.; Perico, L. L.; Emilio-Silva, M. T.; Ohara, R.; Bueno, G.; **Rodrigues, V. P.**; Rocha, L. R. M.; Barbosa-Filho, J. M.; Batista, L. M.

**Monoterpenes: systematic review about the advances in the management of peptic Ulcer and Helicobacter pylori, 2019.**

Ohara, R.; Perico, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Bueno, G.; Vilegas, W.; Hiruma-Lima, C. A.  
**Terminalia catappa: An alternative treatment for gastric lesions induced by ischemia and reperfusion, 2019.**

Bueno, G.; Perico, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Ohara, R.; Emilio-Silva, M. T.; Rocha, L. R. M.; Hiruma-Lima, C. A.

**The role of essential oil Baccharis trimera in experimental ulcer disease: characterization of anti-inflammatory and healing mechanisms of action, 2019.**

**Rodrigues, V. P.**

**Atividades Farmacológicas de Plantas Medicinais, 2018.**

Fagundes, F. L.; Romano, K. S. F.; Perico, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Gambero, A.; Vilegas, W.; Hiruma-Lima, C. A.; Santos, R. C. **Byrsonima Intermedia A. Juss Recovers Intestinal Mucosa After Ulcerative Colitis: Role Of Anti Inflammatory And Anti Oxidant Pathways, 2018.**

Piffer, G. M.; Fagundes, F. L.; Périco, L. L.; **Rodrigues, V. P.**; Hiruma-Lima, C. A.; Santos, R. C. **Effect Of Chrysin In Peptic Ulcer: Gastroprotection Against Ethanol And Repair Of Intestinal Mucosa After Polypharmacy., 2018.**

Disciplinas cursadas

Tópicos Avançados em Imunologia e Imunopatologia (4 créditos)

Tópicos Especiais em Biologia Geral e Aplicada (2 créditos)

Interação entre a Pós-Graduação e o Ensino Básico de Ciências e Biologia (6 créditos)

Bioestatística usando ambiente estatístico R (4 créditos)

O cientista e o professor universitário (2 créditos)

## Resumo

A obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, a Organização Mundial da Saúde (O.M.S.) estima que mais de 700 milhões de adultos serão obesos em 2025. A obesidade é caracterizada por um acúmulo excessivo de gordura que pode comprometer a saúde. O tecido adiposo (TA), além de regulador energético do organismo, assume uma função imune diretamente envolvida no início e manutenção da resposta inflamatória que se estabelece com a instalação da obesidade. O TA é regulado por leucócitos e mediadores anti-inflamatórios, porém com o desenvolvimento da obesidade esse ambiente torna-se pró-inflamatório com o intuito de proteger o organismo. Essa inflamação metabólica é responsável pelo surgimento de enfermidades como diabete tipo 2 e doenças cardiovasculares. Encontrar um tratamento adequado à obesidade e seus desdobramentos têm se mostrado um grande desafio. Estudos prévios demonstraram o potencial anti-inflamatório e antiadipogênico do citral, um monoterpeno obtido das folhas do capim limão. Essas ações tornam o citral um excelente candidato a agente terapêutico no tratamento da inflamação metabólica, combatendo a obesidade e sua resposta inflamatória. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito curativo do citral no processo inflamatório relacionado à obesidade induzida por dieta hipercalórica em animais experimentais. A exposição da linhagem *Swiss* à dieta hiperlipídica por 84 dias induziu obesidade aumentando a massa corporal e índice de adiposidade, porém os animais não apresentaram as alterações metabólicas necessárias para que nossos objetivos iniciais fossem alcançados. A HFD oferecida aos C57BL/6J pelo mesmo período também induziu obesidade aumentando a massa corporal, índice de adiposidade, glicemia e perfil lipídico dos camundongos. O citral foi capaz de diminuir a glicemia sem alterar a sensibilidade à insulina dos animais tratados por dez e 17 dias, observou-se também a diminuição de mediadores pró-inflamatórios (TNF- $\alpha$  e IL-6) e um aumento nas citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e IL-17). nos animais obesos tratados com citral, indicando um efeito positivo contra a inflamação metabólica.

**Palavras-chave:** C57BL/6J; Citral; Inflamação metabólica; Obesidade; *Swiss*.

## Abstract

Obesity is one of the biggest public health problems in the world, the W.H.O. estimates that more than 700 million adults will be obese by 2025. Obesity is characterized by an excessive accumulation of fat that can compromise health. Adipose tissue (AT), in addition to being the body's energy regulator, assumes an immune function directly involved in the initiation and maintenance of the inflammatory response that is established with the onset of obesity. AT is regulated by leukocytes and anti-inflammatory mediators, but with the development of obesity, this environment becomes pro-inflammatory to protect the body. This metabolic inflammation is responsible for the emergence of diseases such as type 2 diabetes and cardiovascular diseases. Finding an adequate treatment for obesity and its consequences has been a great challenge. Previous studies have demonstrated the anti-inflammatory and antiadipogenic potential of citral, a monoterpene obtained from lemongrass leaves. These actions make citral an excellent candidate as a therapeutic agent in the treatment of metabolic inflammation, fighting obesity and its inflammatory response. The aim of this study was to evaluate the curative effect of citral on the inflammatory process related to obesity induced by a hypercaloric diet on experimental animals. The exposure of the Swiss strain to the high-fat diet for 84 days induced obesity, increasing body mass and adiposity index, but the animals did not show the necessary metabolic changes for our initial goals to be achieved. HFD offered to C57BL/6J for the same period also induced obesity by increasing body mass, adiposity index, glycemia and lipid profile of mice. Citral was able to decrease blood glucose without changing the insulin sensitivity of animals treated for ten and 17 days, there was also a decrease in pro-inflammatory mediators (TNF- $\alpha$  e IL-6) and an increase in anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e IL-17) in obese animals treated with citral, indicating a positive effect against metabolic inflammation.

**Keywords:** C57BL/6J; Citral; Metabolic Inflammation; Obesity; Swiss.

## Lista de Figuras

Figura 1 – Células presentes no tecido adiposo em homeostasia.....	22
Figura 2 – Indução e manutenção do estado inflamatório durante a obesidade.....	24
Figura 3 – Linha do tempo dos períodos de indução de obesidade e tratamento curativo dos animais nos diferentes experimentos.....	29
Figura 4 – Evolução da massa corporal anterior ao tratamento de sete dias e índice de adiposidade de camundongos Swiss.....	31
Figura 5 – Evolução da massa corporal anterior ao tratamento de 14 dias e índice de adiposidade de camundongos <i>Swiss</i> . ....	32
Figura 6 – Evolução da massa corporal anterior ao tratamento de 21 dias e índice de adiposidade de camundongos. ....	33
Figura 7 – Linha do tempo dos períodos de indução de obesidade e tratamento curativo dos animais nos diferentes experimentos.....	40
Figura 8 – Evolução da massa corporal anterior ao tratamento de dez dias e índice de adiposidade de camundongos C57BL/6J.....	42
Figura 9 – Evolução da massa corporal anterior ao tratamento de 17 dias e índice de adiposidade de camundongos C57BL/6J.....	44
Figura 10 – Evolução da massa corporal anterior ao tratamento de 24 dias e índice de adiposidade de camundongos C57BL/6J.....	46
Figura 11 – Curva glicêmica obtida a partir dos testes de tolerância à glicose (GTT) realizados antes e após dez dias de tratamento em camundongos C57BL/6J .....	48
Figura 12 – Curva glicêmica obtida a partir dos testes de tolerância à insulina (ITT) realizados antes e após dez dias de tratamento em camundongos C57BL/6J. ....	49
Figura 13 – Curva glicêmica obtida a partir dos testes de tolerância à glicose (GTT) realizados antes e após 17 dias de tratamento em camundongos C57BL/6J.....	50
Figura 14 – Curva glicêmica obtida a partir dos testes de tolerância à insulina (ITT) realizados antes e após 17 dias de tratamento em camundongos C57BL/6J.....	51
Figura 15 – Curva glicêmica obtida a partir dos testes de tolerância à glicose (GTT) realizados antes e após 24 dias de tratamento em camundongos C57BL/6J.....	52
Figura 16 – Curva glicêmica obtida a partir dos testes de tolerância à insulina (ITT) realizados antes e após 24 dias de tratamento em camundongos C57BL/6J.....	53

## Lista de Tabelas

Tabela 1 – Massa dos órgãos de camundongos machos <i>Swiss</i> após sete dias de tratamento ...	32
Tabela 2 – Massa dos órgãos de camundongos <i>Swiss</i> após 14 dias de tratamento. ....	33
Tabela 3 – Massa dos órgãos de camundongos <i>Swiss</i> após 21 dias de tratamento. ....	34
Tabela 4 – Níveis de mediadores inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos <i>Swiss</i> após sete dias de tratamento. ....	34
Tabela 5 – Níveis de mediadores inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos <i>Swiss</i> após 14 dias de tratamento.....	35
Tabela 6 – Níveis de mediadores inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos <i>Swiss</i> após 21 dias de tratamento.....	35
Tabela 7 – Mecanismos antioxidante hepático de camundongos <i>Swiss</i> após sete dias de tratamento. ....	36
Tabela 8 – Níveis de mediadores inflamatórios nos fígados de camundongos <i>Swiss</i> após sete dias de tratamento. ....	36
Tabela 9 – Mecanismos antioxidante e mediador inflamatório hepático de camundongos <i>Swiss</i> após 14 dias de tratamento.....	37
Tabela 10 – Mecanismos antioxidante e indicador inflamatório hepático de camundongos <i>Swiss</i> após 21 dias de tratamento.....	37
Tabela 11 – Níveis de mediadores inflamatórios nos hipotálamos de camundongos <i>Swiss</i> após sete dias de tratamento.....	38
Tabela 12 – Níveis de mediadores inflamatórios dos hipotálamos de camundongos <i>Swiss</i> após 14 dias de tratamento. ....	38
Tabela 13 – Níveis de mediadores inflamatórios dos hipotálamos de camundongos <i>Swiss</i> após 21 dias de tratamento. ....	38
Tabela 14 – Massa dos órgãos de camundongos C57BL/6J após dez dias de tratamento .....	43
Tabela 15 – Parâmetros bioquímicos de camundongos C57BL/6J após dez dias de tratamento. ....	44
Tabela 16 – Índice de adiposidade e massa dos órgãos de camundongos C57BL/6J após 17 dias de tratamento. ....	45
Tabela 17 – Parâmetros bioquímicos de camundongos C57BL/6J após 17 dias de tratamento. ....	45
Tabela 18 – Índice de adiposidade de camundongos C57BL/6J após 24 dias de tratamento. .	46
Tabela 19 – Parâmetros bioquímicos de camundongos C57BL/6J após 24 dias de tratamento. ....	47
Tabela 20 – Níveis de mediadores pró-inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL6J após dez dias de tratamento. ....	54
Tabela 21 – Níveis de mediadores anti-inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL6J após dez dias de tratamento. ....	54
Tabela 22 – Níveis de mediadores pró-inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J após 17 dias de tratamento.....	55
Tabela 23 – Níveis de mediadores anti-inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J após 17 dias de tratamento.....	55
Tabela 24 – Níveis de mediadores pró-inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J após 24 dias de tratamento.....	56
Tabela 25 – Níveis de mediadores anti-inflamatórios do tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J após 24 dias de tratamento.....	56
Tabela 26 – Mecanismos antioxidante e indicador inflamatório hepático de camundongos C57BL/6J após dez dias de tratamento.....	57



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



Tabela 27 – Mecanismos antioxidante e mediador inflamatório hepático de camundongos C57BL/6J após 17 dias de tratamento. ....	57
Tabela 28 – Mecanismos antioxidante e mediador inflamatório hepático de camundongos C57BL/6J após 24 dias de tratamento. ....	58

### Lista de Abreviaturas e Siglas

ABCA1 – Transportador 1 de cassetes de ligação de ATP

AGL – Ácidos graxos livres

ALT – Alanina aminotransferase

AP-1 – Proteína ativadora 1

ApoE – Apolipoproteína E

AST – Aspartato aminotransferase

AUC – Área sob a curva

CAT – Catalase

CEUA – Comissão de Ética para o uso de Animais

CPPA – Centro de Pesquisa e Produção Animal

DAMP – Padrões moleculares associados à danos

DHGNA – Doença hepática gordurosa não alcoólica

DP – Dieta Padrão

DTNB - 5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico)

ERK 1/2- Quinase regulada por sinal extracelular 1/2

ERO – Espécie reativa de oxigênio

FA – Fosfatase Alcalina

GGT – Gama glutamiltransferase

GSH – Glutathione

GTT – Teste de tolerância à glicose

HDL – Lipoproteína de alta densidade

HFD – Dieta hiperlipídica

IFN- $\gamma$  – Interferon gama

IKK – Quinase inibidora do NF- $\kappa$ B

IL – Interleucina

ILC2 – Célula linfoide inata do tipo 2

ITT – Teste de tolerância à insulina

JNK – Quinase c-Jun N-terminal

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LPS – Lipopolissacarídeo

LXR – Receptor X hepático

M1 – Macrófago tipo 1

M2 – Macrófago tipo 2

MCP-1 – Proteína quimioatraentes de monócitos

MDA – Malondialdeído

NBT – Azul de nitrotetrazólio

NF- $\kappa$ B – Fator Nuclear kappa B

NLRP3 – Domínio de pirina da família de receptores *NOD-like* contendo 3

NK – Célula natural killer

OMS – Organização Mundial da Saúde

PRR – Receptores reconhecedores de padrão

SOD – Superóxido dismutase

TA – Tecido adiposo

TAM – Tecido adiposo mesentérico

TAV – Tecido adiposo visceral

Th – Célula T *helper*

TLR-2 – Receptor *toll-like* tipo 2

TLR-4 – Receptor *toll-like* tipo 4

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

Treg – Célula T reguladora

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	20
2. Objetivos .....	27
Capítulo 1 .....	28
3. Material e Métodos .....	28
3.1. Animais .....	28
3.2. Indução da Obesidade, tratamentos e coleta de material .....	28
3.3. Análise Histológica .....	29
3.4. Homogeneização de tecido .....	29
3.5. Quantificação de citocinas (Luminex) .....	29
3.6. Estresse oxidativo e mecanismos antioxidante hepático .....	30
3.6.1. Quantificação de malondialdeído (MDA) .....	30
3.6.2. Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD) .....	30
3.6.3. Quantificação de catalase (CAT) .....	30
3.6.4. Determinação de Glutathione Reduzida (GSH) .....	30
3.7. Análise Estatística .....	30
4. Resultados .....	31
4.1. Evolução de massa corporal e massa dos órgãos .....	31
4.2. Mediadores inflamatórios no tecido adiposo .....	34
4.3. Estresse oxidativo e mediadores inflamatórios hepáticos .....	35
4.4. Mediadores inflamatórios hipotalâmicos .....	37
Capítulo 2 .....	39
5. Material e Métodos .....	39
5.1. Animais .....	39
5.2. Indução da Obesidade, tratamentos e coleta de material .....	39
5.3. Testes de tolerância à glicose (GTT) e à insulina (ITT) .....	40
5.4. Homogeneização dos tecidos .....	41
5.5. Quantificação de citocinas (Luminex e ELISA) .....	41
5.6. Estresse oxidativo e mecanismos antioxidante hepático .....	41
5.6.1. Quantificação de malondialdeído (MDA) .....	41
5.6.2. Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD) .....	41
5.6.3. Quantificação de catalase (CAT) .....	41
5.6.4. Determinação de Glutathione Reduzida (GSH) .....	42
5.7. Análise Estatística .....	42
6. Resultados .....	42

6.1. Evolução de massa corporal, massa dos órgãos e parâmetros bioquímicos .....	42
6.2. Perfil glicêmico .....	48
6.3. Mediadores inflamatórios no tecido adiposo .....	54
6.4. Mecanismos antioxidante e mediador inflamatório hepático .....	56
Capítulo 3 .....	59
7. Discussão .....	59
8. Conclusões .....	65
9. Referências .....	66
Anexo 1 .....	74
Anexo 2 .....	75

## 9. Referências

1. WHO, W. H. O. Obesity and overweight. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (2018).
2. IBGE, I. B. de G. e E. Pesquisa nacional de saúde 2019: Atenção primária à saúde e informações antropométricas. (IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2020).
3. Rohde, K. *et al.* Genetics and epigenetics in obesity. *Metabolism: Clinical and Experimental* **92**, 37–50 (2019).
4. Lakerveld, J. & Mackenbach, J. The Upstream Determinants of Adult Obesity. *Obesity Facts* **10**, 216–222 (2017).
5. Dai, H. *et al.* The global burden of disease attributable to high body mass index in 195 countries and territories, 1990–2017: An analysis of the Global Burden of Disease Study. *PLoS Medicine* vol. 17 (2020).
6. Reilly, S. M. & Saltiel, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nature Reviews Endocrinology* **13**, 633–643 (2017).
7. 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).
8. Ogston, D. & McAndrew, G. M. M. FIBRINOLYSIS IN OBESITY. *The Lancet* **284**, 1205–1207 (1964).
9. Zhang, Y. *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**, 425–432 (1994).
10. Vaisse, C. *et al.* Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. *Nature Genetics* **14**, 95–97 (1996).
11. Loffreda, S. *et al.* Leptin regulates proinflammatory immune responses. *The FASEB Journal* **12**, 57–65 (1998).
12. Choe, S. S., Huh, J. Y., Hwang, I. J., Kim, J. I. & Kim, J. B. Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Frontiers in Endocrinology* **7**, 1–16 (2016).
13. Rocha, V. Z. & Folco, E. J. Inflammatory Concepts of Obesity. *International Journal of Inflammation* **2011**, 1–14 (2011).
14. Reilly, S. M. & Saltiel, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nature Reviews Endocrinology* **13**, 633–643 (2017).

15. Skurk, T., Alberti-Huber, C., Herder, C. & Hauner, H. Relationship between Adipocyte Size and Adipokine Expression and Secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **92**, 1023–1033 (2007).
16. Gregor, M. F. & Hotamisligil, G. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annual Review of Immunology* **29**, 415–445 (2011).
17. Wensveen, F. M., Valentić, S., Šestan, M., Turk Wensveen, T. & Polić, B. The “Big Bang” in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. *European Journal of Immunology* **45**, 2446–2456 (2015).
18. Talukdar, S. *et al.* Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nature Medicine* **18**, 1407–1412 (2012).
19. Tam, C. S. *et al.* Short-Term Overfeeding May Induce Peripheral Insulin Resistance Without Altering Subcutaneous Adipose Tissue Macrophages in Humans. *Diabetes* **59**, 2164–2170 (2010).
20. Jeffery, E., Church, C. D., Holtrup, B., Colman, L. & Rodeheffer, M. S. Rapid depot-specific activation of adipocyte precursor cells at the onset of obesity. *Nature Cell Biology* **17**, 376–385 (2015).
21. Amano, S. U. *et al.* Local Proliferation of Macrophages Contributes to Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. *Cell Metabolism* **19**, 162–171 (2014).
22. Kanda, H. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *Journal of Clinical Investigation* **116**, 1494–1505 (2006).
23. Cildir, G., Akıncılar, S. C. & Tergaonkar, V. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. *Trends in Molecular Medicine* **19**, 487–500 (2013).
24. Molofsky, A. B. *et al.* Interleukin-33 and Interferon- $\gamma$  Counter-Regulate Group 2 Innate Lymphoid Cell Activation during Immune Perturbation. *Immunity* **43**, 161–74 (2015).
25. Solinas, G. & Karin, M. JNK1 and IKK $\beta$ : molecular links between obesity and metabolic dysfunction. *The FASEB Journal* **24**, 2596–2611 (2010).
26. Nandipati, K. C., Subramanian, S. & Agrawal, D. K. Protein kinases: mechanisms and downstream targets in inflammation-mediated obesity and insulin resistance. *Molecular and Cellular Biochemistry* **426**, 27–45 (2017).
27. Karpe, F., Dickmann, J. R. & Frayn, K. N. Fatty Acids, Obesity, and Insulin Resistance: Time for a Reevaluation. *Diabetes* **60**, 2441–2449 (2011).

28. Nguyen, M. T. A. *et al.* A Subpopulation of Macrophages Infiltrates Hypertrophic Adipose Tissue and Is Activated by Free Fatty Acids via Toll-like Receptors 2 and 4 and JNK-dependent Pathways. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 35279–35292 (2007).
29. Pal, D. *et al.* Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. *Nature Medicine* **18**, 1279–1285 (2012).
30. Adams, J. M. *et al.* Ceramide content is increased in skeletal muscle from obese insulin-resistant humans. *Diabetes* **53**, 25–31 (2004).
31. Jayashree, B. *et al.* Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry* **388**, 203–210 (2014).
32. Saad, M. J. A., Santos, A. & Prada, P. O. Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. *Physiology* **31**, 283–293 (2016).
33. Lee, M. K. S. S., Yvan-Charvet, L., Masters, S. L. & Murphy, A. J. The modern interleukin-1 superfamily: Divergent roles in obesity. *Seminars in Immunology* **28**, 441–449 (2016).
34. Kotas, M. E. & Medzhitov, R. Homeostasis, Inflammation, and Disease Susceptibility. *Cell* **160**, 816–827 (2015).
35. Brestoff, J. R. *et al.* Group 2 innate lymphoid cells promote beiging of white adipose tissue and limit obesity. *Nature* **519**, 242–246 (2015).
36. Lee, M.-W. W. *et al.* Activated type 2 innate lymphoid cells regulate beige fat biogenesis. *Cell* **160**, 74–87 (2015).
37. Samala, N., Tersey, S. A., Chalasani, N., Anderson, R. M. & Mirmira, R. G. Molecular mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease: Potential role for 12-lipoxygenase. *Journal of Diabetes and its Complications* **31**, 1630–1637 (2017).
38. Marra, F. & Svegliati-Baroni, G. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis. *Journal of Hepatology* **68**, 280–295 (2018).
39. Kitade, H., Chen, G., Ni, Y. & Ota, T. Nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance: New insights and potential new treatments. *NutR.nts* **9**, 1–13 (2017).
40. Serviddio, G., Bellanti, F. & Vendemiale, G. Free radical biology for medicine: Learning from nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine* **65**, 952–968 (2013).

41. Burska, A. N., Sakthiswary, R. & Sattar, N. Effects of Tumour Necrosis Factor Antagonists on Insulin Sensitivity/Resistance in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE* **10**, e0128889 (2015).
42. Chen, H.-H. *et al.* Association between use of disease-modifying antirheumatic drugs and diabetes in patients with ankylosing spondylitis, rheumatoid arthritis, or psoriasis/psoriatic arthritis: a nationwide, population-based cohort study of 84,989 patients. *Therapeutics and Clinical Risk Management* **Volume 13**, 583–592 (2017).
43. Ofei, F., Hurel, S., Newkirk, J., Sopwith, M. & Taylor, R. Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes* **45**, 881–885 (1996).
44. Solomon, D. H. Association Between Disease-Modifying Antirheumatic Drugs and Diabetes Risk in Patients With Rheumatoid Arthritis and Psoriasis. *Jama* **305**, 2525 (2011).
45. Sloan-Lancaster, J. *et al.* Double-Blind, Randomized Study Evaluating the Glycemic and Anti-inflammatory Effects of Subcutaneous LY2189102, a Neutralizing IL-1 Antibody, in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* **36**, 2239–2246 (2013).
46. Hawley, S. A. *et al.* Europe PMC Funders Group The ancient drug salicylate directly activates AMP-activated protein kinase. *Science* **336**, 918–922 (2012).
47. Goldfine, A. B. *et al.* The effects of salsalate on glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized trial. *Annals of internal medicine* **152**, 346–57 (2010).
48. Goldfine, A. B. *et al.* A randomised trial of salsalate for insulin resistance and cardiovascular risk factors in persons with abnormal glucose tolerance. *Diabetologia* **56**, 714–723 (2013).
49. Gurib-Fakim, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of medicine* **27**, 1–93 (2006).
50. Rishton, G. M. Natural Products as a Robust Source of New Drugs and Drug Leads: Past Successes and Present Day Issues. *American Journal of Cardiology* **101**, (2008).
51. Newman, D. J. & Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products* **79**, 629–661 (2016).
52. Koziol, A. *et al.* An Overview of the Pharmacological Properties and Potential Applications of Natural Monoterpenes. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **14**, 1156–1168 (2015).

53. Lee, H. J. *et al.* Inhibitory effect of citral on NO production by suppression of iNOS expression and NF- $\kappa$ B activation in RAW264.7 cells. *Archives of Pharmacal Research* **31**, 342–349 (2008).

54. Katsukawa, M. *et al.* Citral, a component of lemongrass oil, activates PPAR  $\alpha$  and  $\gamma$  and suppresses COX-2 expression. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **1801**, 1214–1220 (2010).

55. Bachiega, T. F. & Sforcin, J. M. Lemongrass and citral effect on cytokines production by murine macrophages. *Journal of Ethnopharmacology* **137**, 909–913 (2011).

56. Costa, C. A. R. A. *et al.* Cholesterol reduction and lack of genotoxic or toxic effects in mice after repeated 21-day oral intake of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. *Food and Chemical Toxicology* **49**, 2268–2272 (2011).

57. Modak, T. & Mukhopadhaya, A. Effects of citral, a naturally occurring antiadipogenic molecule, on an energy-intense diet model of obesity. *Indian Journal of Pharmacology* **43**, 300 (2011).

58. Mishra, C. *et al.* Effects of citral on oxidative stress and hepatic key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin / high-fat-diet induced diabetic dyslipidemic rats. (2018) doi:10.22038/ijbms.2018.26889.6574.

59. de Fraia Pinto, L. *et al.* The immunosuppressant drug, thalidomide, improves hepatic alterations induced by a high-fat diet in mice. *Liver International* **30**, 603–610 (2010).

60. Nishijima, C. M. *et al.* Citral: A monoterpene with prophylactic and therapeutic anti-nociceptive effects in experimental models of acute and chronic pain. *European Journal of Pharmacology* **736**, 16–25 (2014).

61. Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* **95**, 351–358 (1979).

62. Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brian, M. & Carrell, R. W. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *The Journal of laboratory and clinical medicine* **85**, 337–41 (1975).

63. Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology* **105**, 121–6 (1984).

64. Anderson, M. E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods in enzymology* **113**, 548–55 (1985).

65. Emílio-Silva, M. T. *et al.* Hypothermic effect of acute citral treatment during lps-induced systemic inflammation in obese mice: reduction of serum tnf- $\alpha$  and leptin levels. *Biomolecules* **10**, (2020).

66. Wang, C.-Y. & Liao, J. K. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* **821**, 421–33 (2012).
67. Kleinert, M. *et al.* Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology* **14**, 140–162 (2018).
68. Hariri, N. & Thibault, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews* **23**, 270–299 (2010).
69. Lang, P., Hasselwander, S., Li, H. & Xia, N. Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. *Scientific Reports* **9**, 19556 (2019).
70. Ikemoto, S. *et al.* High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: Differential effects of dietary oils. *Metabolism* **45**, 1539–1546 (1996).
71. Hu, S. *et al.* Dietary Fat, but Not Protein or Carbohydrate, Regulates Energy Intake and Causes Adiposity in Mice. *Cell Metabolism* **28**, 415-431.e4 (2018).
72. Lamb, E. J. & Jones, G. R. D. Kidney Function Tests. in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* (eds. Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer, C. T.) 479–517 (Elsevier, 2018).
73. Deji, N. *et al.* Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* **296**, 118–126 (2009).
74. Benedict, M. & Zhang, X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World Journal of Hepatology* **9**, 715 (2017).
75. Polyzos, S. A., Kountouras, J. & Mantzoros, C. S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism: Clinical and Experimental* **92**, 82–97 (2019).
76. Poupon, R. Liver alkaline phosphatase: A missing link between cholestasis and biliary inflammation. *Hepatology* **61**, 2080–2090 (2015).
77. Bentala, H. *et al.* Removal of phosphate from lipid a as a strategy to detoxify lipopolysaccharide. *Shock* **18**, 561–566 (2002).
78. Chakaroun, R. M., Massier, L. & Kovacs, P. Bacteria in Metabolic Disease: Perpetrators or Bystanders? *NutR.nts* (2020).
79. Saltiel, A. R. & Olefsky, J. M. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *Journal of Clinical Investigation* **127**, 1–4 (2017).

80. Hotamisligil, G. S., Arner, P., Caro, J. F., Atkinson, R. L. & Spiegelman, B. M. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* **95**, 2409–2415 (1995).
81. Shoelson, S. E. *et al.* Inflammation and insulin resistance Find the latest version : Review seR.s Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* **116**, 1793–1801 (2006).
82. Berg, A. H. & Scherer, P. E. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation Research* **96**, 939–949 (2005).
83. Niederreiter, L. & Tilg, H. Cytokines and fatty liver diseases. *Liver Research* **2**, 14–20 (2018).
84. Samuel, V. T. & Shulman, G. I. Nonalcoholic Fatty Liver Disease as a Nexus of Metabolic and Hepatic Diseases. *Cell Metabolism* **27**, 22–41 (2018).
85. Arroyave-Ospina, J. C., Wu, Z., Geng, Y. & Moshage, H. Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Implications for Prevention and Therapy. *Antioxidants* **10**, 174 (2021).
86. Ore, A. & Akinloye, O. A. Oxidative Stress and Antioxidant Biomarkers in Clinical and Experimental Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina* **55**, 26 (2019).
87. Bellanti, F., Villani, R., Facciorusso, A., Vendemiale, G. & Serviddio, G. Lipid oxidation products in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biology and Medicine* **111**, 173–185 (2017).
88. Delli Bovi, A. P. *et al.* Oxidative Stress in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. An Updated Mini Review. *Frontiers in Medicine* **8**, 595371 (2021).
89. Chen, Z., Tian, R., She, Z., Cai, J. & Li, H. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine* **152**, 116–141 (2020).
90. Bilotta, M. T., Petillo, S., Santoni, A. & Cippitelli, M. Liver X Receptors: Regulators of Cholesterol Metabolism, Inflammation, Autoimmunity, and Cancer. *Frontiers in Immunology* **11**, (2020).
91. Korach-André, M. & Gustafsson, J. Å. Liver X receptors as regulators of metabolism. *Biomolecular Concepts* vol. 6 177–190 (2015).
92. Pierantonelli, I. *et al.* HDL cholesterol protects from liver injury in mice with intestinal specific LXR $\alpha$  activation. *Liver International* **40**, 3127–3139 (2020).
93. Bilotta, M. T., Petillo, S., Santoni, A. & Cippitelli, M. Liver X Receptors: Regulators of Cholesterol Metabolism, Inflammation, Autoimmunity, and Cancer. *Frontiers in Immunology* **11**, 2867 (2020).

94. Schulman, I. G. Liver X receptors link lipid metabolism and inflammation. *FEBS Letters* **591**, 2978–2991 (2017).

95. West, D. B., Boozer, C. N., Moody, D. L. & Atkinson, R. L. Dietary obesity in nine inbred mouse strains. *The American journal of physiology* **262**, R1025-32 (1992).

96. Surwit, R. S. *et al.* Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. *Metabolism* **44**, 645–651 (1995).

97. Leibowitz, S. F. *et al.* Phenotypic profile of SWR/J and A/J mice compared to control strains: Possible mechanisms underlying resistance to obesity on a high-fat diet. *Brain Research* **1047**, 137–147 (2005).