

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2023.

Efeito do óleo essencial de *Baccharis trimera* Less (DC) em
camundongos obesos com dieta hiperlipídica: avaliação
comparativa das linhagens Swiss e C57BL/J6



GABRIELA BUENO

BOTUCATU – SP
2021



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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Efeito do óleo essencial de *Baccharis trimera* Less (DC) em
camundongos obesos com dieta hiperlipídica: avaliação
comparativa das linhagens *Swiss* e *C57BL/J6*

GABRIELA BUENO

PROF. ADJ. CLÉLIA AKIKO HIRUMA-LIMA

PROF. DRA. LÚCIA REGINA MACHADO DA ROCHA

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

Prof. Adj. Clélia Akiko Hiruma-Lima

**BOTUCATU – SP
2021**

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

Bueno, Gabriela.

Efeito do óleo essencial de *Baccharis trimera* Less (DC) em camundongos obesos com dieta hiperlipídica : avaliação comparativa das linhagens *Swiss* e C57BL/J6 / Gabriela Bueno. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Clélia Akiko Hiruma-Lima
Coorientador: Lúcia Regina Machado da Rocha
Capes: 21006008

1. *Baccharis trimera*. 2. Essências e óleos essenciais.
3. Obesidade. 4. Inflamação. 5. Dieta hiperlipídica.
6. Dislipidemias.

Palavras-chave: *Baccharis trimera*; Dislipidemia; Inflamação metabólica; Obesidade.

AUXÍLIO FINANCEIRO:

O presente trabalho foi realizado com os apoios da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



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 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 Marjorie que junto com minhas irmãs proporcionaram toda essa ajuda. Todos vocês da minha família são minha inspiração diária. Muito obrigada de coração por toda força. Aos meus amigos que são também minha família: Bruna, Luiza, Inácio, Felipe, Tragédia e Japa, 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 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

PRÓLOGO

A realização do presente projeto de mestrado possibilitou a elucidação da ação farmacológica do óleo essencial de uma planta popular em animais saudáveis e obesos. Adicionalmente a execução desse projeto, realizei atividades complementares de cunho científico e também de extensão Universitária e de popularização da ciência que enriqueceram minha formação científica e pessoal.

Trabalho publicação em periódicos

2021:

Bueno, G., Chavez Rico, S.L., Périco, L.L., Ohara, R., Rodrigues, V.P., Emílio-Silva, M.T., Assunção, R., Machado da Rocha, L.R., Nunes, D.S., Besten, M.A., Heiden, G., Lima Camargo, A.C., Justulin, L.A., Hiruma-Lima, C.A., 2021. The essential oil from *Baccharis trimera* (Less.) DC improves gastric ulcer healing in rats through modulation of VEGF and MMP-2 activity. *J. Ethnopharmacol.* 271, 113832. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113832>

2020:

Emílio-Silva, M.T., Rodrigues, V.P., **Bueno, G.**, Ohara, R., Martins, M.G., Horta-Júnior, J.A.C., Branco, L.G.S., Rocha, L.R.M., Hiruma-Lima, C.A., 2020. Hypothermic effect of acute citral treatment during lps-induced systemic inflammation in obese mice: reduction of serum TNF- α and leptin levels. *Biomolecules* 10, 1–18. <https://doi.org/10.3390/biom10101454>

Ohara, R., Périco, L.L., Rodrigues, V.P., **Bueno, G.**, Zanatta, A.C., Campaner dos Santos, L., Vilegas, W., Constatino, F.B., Justulin, L.A., Hiruma-Lima, C.A., 2020. *Terminalia catappa* L. infusion accelerates the healing process of gastric ischemia-reperfusion injury in rats. *J. Ethnopharmacol.* 256. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112793>

Périco, L.L., Emílio-Silva, M.T., Ohara, R., Rodrigues, V.P., **Bueno, G.**, Barbosa-Filho, J.M., da Rocha, L.R.M., Batista, L.M., Hiruma-Lima, C.A., 2020. Systematic analysis of monoterpenes: Advances and challenges in the treatment of peptic ulcer diseases. *Biomolecules* 10, 1–19. <https://doi.org/10.3390/biom10020265>

Trabalhos apresentados em forma de painel em eventos científicos

- **Bueno, G.** ; Perico L, L. ; Rodrigues, V. P. ; Ohara, R. ; Emílio-Silva, Maycon T; Rocha, L. R. M. ; Basten, M. A. ; Nunes, D. The role of essential oil *Baccharis trimera* in experimental

ulcer disease: characterization of anti-inflammatory and healing mechanisms of action. 7th Brazilian Conference on Natural Product/XXXIII RESEM, Rio de Janeiro, RJ, 2019.

- Hiruma-Lima, C. A. ; Perico, L. L. ; Emílio-Silva, Maycon T. ; Ohara, R. ; **Bueno, G.** ; Rodrigues, V. P. ; Rocha, L. R. M. ; Barbosa Filho, J. M. ; Batista, L. M. . Monoterpenes: systemic review about the advances in the management of peptic ulcer and *Helicobacter pylori*. 7th Brazilian Conference on Natural Product/XXXIII RESEM, Rio de Janeiro, RJ, 2019.
- Emílio-Silva, Maycon T.; Rodrigues, V. P. ; **Bueno, G.** ; Ohara, R. ; Rocha, L. R. M. ; Branco, L. G. S. ; 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. 7th Brazilian Conference on Natural Product/XXXIII RESEM, Rio de Janeiro, RJ, 2019.
- Ohara, R., Périco, L.L., Rodrigues, V.P., **Bueno, G.**, Zanatta, A.C., Campaner dos Santos, L., Vilegas, W., Constatino, F.B., Justulin, L.A., Hiruma-Lima, C.A., 2020. *Terminalia catappa* L. infusion accelerates the healing process of gastric ischemia-reperfusion injury in rats 7th Brazilian Conference on Natural Product/XXXIII RESEM, Rio de Janeiro, RJ, 2019.
- Emílio-Silva, Maycon T. ; Rodrigues, V. P. ; Ohara, R. ; **Bueno, G.** ; Branco, Luiz G. S. ; Rocha, L. R. M. ; Hiruma-Lima, C. A. The cryogenic role of citral in systemic inflammation induced by lipopolyssaccharide (LPS) in high fat-fed obese mice. Fifth International Symposium on Inflammatory Diseases 2019 - INFLAMMA V, Ribeirão Preto, SP, 2019.

Participação em eventos científicos

- Simpósio Anual da Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Botucatu, SP, 2019.
- Workshop "Redação de Patentes, Além dos Guias + Oficinas Práticas". Botucatu, SP, 2019.
- Simpósio Anual da Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Botucatu, SP, 2020.
- 7th Brazilian Conference on Natural Product/XXXIII RESEM, Rio de Janeiro, RJ, 2019.
- VI Simpósio Obesity and Cormobidities Reserch Center, plataformas Zoom e YouTube, 2020.

Cursos realizados

- Minicurso: “Modelagem Molecular Aplicada a Produtos Naturais” durante 7th Brazilian Conference on Natural Product/XXXIII RESEM, Rio de Janeiro, RJ, 2019. Duração de 4 horas.

Extensão universitária

- 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, Botucatu, SP, 2019. 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, Botucatu, SP, 2020. Duração de 48 horas.

Disciplinas cursadas

- Bioestatística usando ambiente estatístico R. Conceito: A (4 créditos)
- O cientista e o professor universitário. Conceito: A (2 créditos)
- Tópicos Especiais em Biologia Geral e Aplicada. Conceito: A (2 créditos)
- Fisiopatologia da Obesidade e do Diabetes. Conceito: A (4 créditos)
- Interação entre a Pós-Graduação e o Ensino Básico de Ciências e Biologia. Conceito: A (6 créditos)

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	Pág. 10
Lista de figuras	Pág. 12
Lista de tabelas	Pág. 17
Resumo	Pág. 18
Abstract	Pág. 19
1- Introdução	Pág. 20
2- Objetivo	Pág. 26
3- Material e Métodos	Pág. 27
3.1. Animais	Pág. 27
3.2. Obtenção do óleo essencial e identificação dos constituintes majoritários	Pág. 27
3.3. Indução da obesidade por dieta hiperlipídica	Pág. 28
3.4. Tratamentos e coleta de material	Pág. 29
3.5. Avaliação bioquímica das atividades de Catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e mieloperoxidase (MPO) e do nível de glutathione redutase (GSH) do tecido hepático	Pág. 30
3.6. Quantificação de citocinas (Multiplex)	Pág. 31
3.7. Testes de tolerância à glicose (TTG) e à insulina (TTI)	Pág. 32
3.8. Análise estatística	Pág. 32
4- Resultados e Discussão	Pág. 33
5- Referências Bibliográficas	Pág. 59

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina amino-transferase
AST	Aspartato amino-transferase
AUC	<i>Area under curve</i> -área sob a curva
CAT	Catalase
CETP	Proteína de transferência de colesterol esterificado
DP	Dieta padrão
e.p.m.	Erro padrão da média
GSH	Glutationa redutase
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HFD	<i>High fat diet</i> -dieta hiperlipídica
IKK β	Inibidora do NF- κ B
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IL-17	Interleucina 17
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-2	Interleucina 2
IL-33	Interleucina 33
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
ILC2s	Células linfoides inatas do tipo 2
INF- γ	Interferon-gama
IRS-1	Receptores de insulina 1
JNK	Quinases c-Jun N-terminal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
M1	Macrófagos pró-inflamatórios
M2	Macrófagos do tipo 2
MCP	Proteína quimioatraente de monócitos

MPO	Mieloperoxidase
NK	<i>Natural Killer</i>
OEBT	Óleo essencial da <i>Baccharis trimera</i>
SOD	Superóxido dismutase
Th1	T helper 1
Th17	Células T do tipo 17
Th2	T helper 2
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
Treg	T regulatórias
TTG	Teste de tolerância à glicose
TTI	Teste de tolerância à insulina
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1: (A) e (B) Evolução da massa corporal dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 39 respectivamente. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni. *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo DP.

Fig. 2: (A) e (B) Ingestão alimentar dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 35 respectivamente. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pelo teste *t* de Student. **** $p < 0,0001$.

Fig. 3: (A) e (B) Índice de adiposidade e (C) e (D) massa total dos tecidos adiposos dos camundongos Swiss e C57BL/J6 tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo DP.

Fig. 4: (A) e (B) Níveis séricos de ALT dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 40 respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo DP ou % $p < 0,05$ e %% $p < 0,01$, quando comparado ao grupo OEBT 100.

Fig. 5: (A) e (B) Níveis séricos de AST dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 41 respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$

e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ e quando comparado ao grupo DP.

Fig. 6: (A) e (B) Níveis séricos de Fosfatase Alcalina dos camundongos *Swiss* e C57BL/J6, respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo DP. Pág. 42

Fig. 7: (A) e (B) Níveis séricos de HDL dos camundongos *Swiss* e C57BL/J6, respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. ** $p < 0,01$ e **** $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo DP. # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$, quando comparado ao grupo HFD. Pág. 44

Fig. 8: (A) e (B) Níveis séricos de Triglicérides dos camundongos *Swiss* e C57BL/J6, respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo DP e \$ $p < 0,05$; \$\$\$ $p < 0,001$ quando comparado ao grupo OEBT Pág. 44

Fig. 9: (A) e (B) Níveis séricos de VLDL dos camundongos *Swiss* e C57BL/J6, respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. \$\$\$ $p < 0,001$; \$ $p < 0,05$ quando comparado ao grupo OEBT 1. Pág. 45

Fig. 10: (A) e (B) Níveis séricos de Colesterol total dos camundongos *Swiss* e C57BL/J6, respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ Pág. 45

e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo DP.

Fig. 11: (A) e (B) Níveis séricos de LDL dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 46 respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo DP.

Fig. 12: (A) e (B) Níveis séricos de Ureia dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 47 respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo DP.

Fig. 13: (A) e (B) Níveis séricos de Creatinina dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 47 respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. Não houve diferença estatística entre os grupos DP, HFD, OEBT 1. 10 e 100 nas duas linhagens Swiss e C57BL/J6.

Fig. 14: (A) e (B) Níveis séricos de Glicose dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 48 respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$, quando comparado ao grupo DP, \$\$ $p < 0,01$ quando comparado ao grupo OEBT 1 e # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo HFD.

Fig. 15: TTI Pré-tratamento - (A) e (B) Glicemia dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 50 respectivamente, no período de 120 minutos. (C) e (D) AUC dos camundongos Swiss e

C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey ou ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, quando comparado ao grupo DP.

Fig. 16: TTG Pré-tratamento - (A) e (B) Glicemia dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 52 respectivamente no período de 120 minutos. (C) e (D) AUC dos camundongos Swiss e C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey ou ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo DP ou % $p < 0,05$ quando comparados os grupos OEBT 1 e 100 em relação ao grupo DP.

Fig. 17: TTI Pós-tratamento - (A) e (B) Glicemia dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 53 respectivamente no período de 120 minutos. (C) e (D) AUC dos camundongos Swiss e C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via ou duas vias seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, quando comparado ao grupo DP.

Fig. 18: TTG Pós-tratamento - (A) e (B) Glicemia dos camundongos Swiss e C57BL/J6, Pág. 54 respectivamente no período de 120 minutos. (C) e (D) AUC dos camundongos Swiss e C57BL/J6. Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=9-11) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey ou ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, quando comparado ao grupo DP.

Fig. 19: (A) e (B) IL-4 e IL-10 do Tecido adiposo (TA) dos camundongos C57BL/J6, Pág. 57 respectivamente, tratados por 28 dias. Os resultados foram expressos como média $\pm$

e.p.m (n=5-7) e a significância estatística foi determinada pela ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, quando comparado ao grupo DP.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das rações utilizadas na dieta padrão e hiperlipídica (HFD). Pág. 29

Tabela 2 – Peso relativo e absoluto dos órgãos (fígado, baço, rins e coração) de camundongos *Swiss* e C57BL/J6 tratados por 28 dias com diferentes doses do óleo essencial de *B. trimera* (OEBT). Pág. 37

Tabela 3 – Dosagem de parâmetros bioquímicos (SOD, CAT, MPO e GSH) do fígado de camundongos *Swiss* e C57BL/J6 tratados por 28 dias com as doses de 1, 10 ou 100 mg/kg do óleo essencial de *B. trimera* (OEBT). Pág. 39

RESUMO

A obesidade é uma desordem metabólica caracterizada pelo acúmulo de gordura no corpo que representa um risco à saúde do indivíduo. Esse acúmulo leva ao desenvolvimento de um processo inflamatório crônico de baixo grau e tem sido associado a doenças como diabetes *mellitus* tipo 2, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas. No tecido adiposo, ocorrem mudanças no perfil das células imunes e na produção de adipocinas podendo comprometer a sensibilidade à insulina. Além desse processo inflamatório característico na obesidade, também ocorrem mudanças no perfil lipídico causada por uma dislipidemia instalada em animais obesos. A relação entre obesidade e doenças metabólicas torna as vias inflamatórias um interessante alvo terapêutico. Muitos produtos naturais são utilizados na medicina popular para perda de peso se tornando alvos terapêuticos interessantes. A *Baccharis trimera* Less (DC), conhecida como carqueja, é utilizada pela população para perda de peso e alguns estudos apontam para um possível efeito antiobesogênico. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial de *Baccharis trimera* (OEBT) em camundongos obesos que consumiram dieta hiperlipídica nas linhagens *Swiss* e C57BL/J6. Camundongos machos *Swiss* e C57BL/J6 foram submetidos a indução de obesidade por meio da ingestão de uma dieta hiperlipídica no período de 12 semanas e foram tratados oralmente com OEBT nas doses de 1, 10 ou 100 mg/kg. Nesse estudo foram avaliadas a massa corporal, ingestão alimentar, índice de adiposidade, peso de órgãos (fígado, rins, baço e coração) e a massa dos três tecidos adiposos (epididimal, retroperitoneal e visceral). Foram analisados também os parâmetros relacionados à dislipidemia, tolerância à insulina e à glicose desses animais obesos tratados com OEBT bem como sua possível ação anti-inflamatória. Como resultado observou-se que após as 12 semanas com a dieta hiperlipídica os animais da linhagem *Swiss* apresentaram apenas alterações na massa corporal e no índice de adiposidade. Entretanto, os camundongos da linhagem C57BL/J6 apresentaram alterações na massa corporal, índice de adiposidade, dislipidemia, resistência à insulina e alterações nos mediadores anti-inflamatórios, quando comparado aos animais tratados com a dieta padrão. Neste trabalho, foi possível concluir que a linhagem *Swiss* não foi efetiva como modelo experimental para a instalação de uma inflamação metabólica causada pela ingestão de uma dieta hiperlipídica durante 12 semanas. Em contrapartida, os resultados indicam que a linhagem de camundongos C57BL/J6 foi capaz de desenvolver alterações morfológicas e induzir a dislipidemia e resistência à insulina com o uso da dieta. O tratamento dos animais C57BL/J6 com o OEBT resultou em diminuição dos níveis de ALT no fígado e em uma ação anti-inflamatória pelo aumento da IL-10 no tecido adiposo epididimal nos animais submetidos a dieta hiperlipídica.

Palavras chave: *Baccharis trimera* Less. DC; óleo essencial; obesidade; dieta hiperlipídica; dislipidemia; inflamação.

ABSTRACT

Obesity is a metabolic disorder characterized by the accumulation of fat in the body that represents a risk to the health of the individual. This accumulation leads to the development of a low-grade chronic inflammatory process and has been associated with diseases such as type 2 diabetes mellitus, cardiovascular diseases and neurodegenerative diseases. In adipose tissue, changes in the profile of immune cells and in the production of adipokines occur, which may compromise insulin sensitivity. In addition to this inflammatory process characteristic of obesity, there are also changes in the lipid profile caused by dyslipidemia installed in obese animals. The relationship between obesity and metabolic diseases makes inflammatory pathways an interesting therapeutic target. Many natural products are used in folk medicine for weight loss becoming interesting therapeutic targets. *Baccharis trimera*, known as gorse, is already used by the population for weight loss and some studies have pointed out its possible antiobesogenic effect. The objective of this work was to evaluate the effect of *Baccharis trimera* Less (DC) essential oil (EOBT) in obese mice with a high fat diet in the Swiss and C57BL / J6 strains. Male Swiss and C57BL / J6 mice were subjected to an obesity induction by eating a high-fat diet over a 12-week period and were treated with EOBT in three different doses. Body mass, food intake, adiposity index, organ weight (liver, kidneys, spleen and heart) and the mass of the three adipose tissues (epididymal, retroperitoneal and visceral) were evaluated. In this study, parameters related to dyslipidemia, insulin and glucose tolerance tests of these obese animals treated with EOBT were analyzed. As a result, it was observed that after 12 weeks with the high fat diet, the Swiss line animals showed only changes in body mass and in the adiposity index. However, C57BL / J6 mice showed changes in body mass, adiposity index, dyslipidemia, insulin resistance and changes in anti-inflammatory mediators, when compared to animals treated with the standard diet. In this work, it was possible to conclude that the Swiss strain was not effective in the proposed model for the installation of a metabolic inflammation caused by the ingestion of a high fat diet (during 12 weeks). However, our observations indicate that the C57BL / J6 mouse strain was able to develop morphological changes, dyslipidemia and insulin resistance. EOBT, at a dose of 1 mg / kg, had a beneficial effect on the liver by decreasing ALT levels and we also proved its anti-inflammatory action in the three doses tested due to the increase in IL-10 in the epididymal adipose tissue.

Keywords: *Baccharis trimera* Less. DC; essential oil; obesity; high fat diet; dyslipidemia; inflammation.

1- INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença que tem atingido proporções epidêmicas levando 2,8 milhões de pessoas a morte a cada ano em decorrência do excesso de peso¹. A prevalência da obesidade triplicou entre os anos de 1975 e 2016 afetando pessoas de todas as faixas etárias. No ano de 2016, 1,9 bilhões de pessoas no mundo todo estavam com sobrepeso e 650 milhões de pessoas foram consideradas obesas e na atualidade a obesidade é considerada um problema de saúde pública mundial¹. A taxa de obesidade no Brasil cresceu 60% em dez anos, passando de 11,8% para 18,9% no período de 2006 a 2016. A prevalência da obesidade duplica a partir dos 25 anos de idade e é maior entre os que tem menos escolaridade².

A obesidade é definida como um excesso de gordura no corpo que representa um risco à saúde do indivíduo.¹ Um dos principais parâmetros para mensurar a taxa de obesidade é por meio do índice de massa corporal (IMC) que considera a massa corporal do indivíduo e a altura. Um indivíduo com um IMC superior ou igual a 30 é considerado obeso¹. A obesidade é causada pelo aumento do consumo energético combinado com a diminuição no gasto energético que pode gerar um aumento progressivo do tecido adiposo podendo levar a um comprometimento da saúde do indivíduo³. Esse balanço energético positivo gera um estresse homeostático, particularmente nos adipócitos⁴.

A obesidade é uma desordem metabólica que está intimamente relacionada com uma inflamação crônica de baixo grau e tem sido associada a doenças como diabetes *mellitus* tipo 2, asma, câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas^{5,6}. O tecido adiposo é o principal local de armazenamento de energia, responsável pela regulação metabólica e pelo balanço energético⁷. A sustentação do balanço energético positivo pode levar o indivíduo a um quadro de hipersecreção de leptina, insulina e catecolaminas. Em resposta ao excesso de nutrientes, os adipócitos aumentam em número (hiperplasia) e em volume (hipertrofia) para se adequarem às necessidades de armazenamento

lipídico. Esse aumento dos adipócitos, quando atinge seu limite de expansão, gera um estresse mecânico no tecido adiposo que tem como resposta o início de um processo inflamatório⁴.

O gatilho inicial que gera o quadro inflamatório na obesidade ainda é pouco compreendido. Existem algumas hipóteses que foram sugeridas pela literatura, tais como o desbalanço entre o consumo e gasto energético, aumento da permeabilidade intestinal ou ainda componentes da dieta⁴. Outra hipótese do gatilho inicial do quadro inflamatório da obesidade é a rápida expansão do tecido adiposo que pode fornecer um estresse mecânico no tecido, levando a hipóxia e a morte celular de adipócitos⁴.

Os primeiros indícios que apoiaram a ideia de que a obesidade tinha relação com a inflamação surgiram há aproximadamente 50 anos quando foi constatado o aumento nos níveis plasmáticos de fibrinogênio em pacientes obesos⁸. A partir dos anos 90, pesquisadores observaram o aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF- α) no tecido adiposo de roedores obesos e a melhoria da resistência à insulina após a neutralização de TNF- α . Posteriormente, surgiram vários estudos que relacionam inflamação e obesidade.⁸ Atualmente sabe-se que além do TNF- α , outros mediadores inflamatórios como as interleucinas 6 e 1 beta (IL-6, IL-1 β) e a proteína quimioatraente de monócitos (MCP)-1 estão relacionados com essa resposta inflamatória^{9,10}.

No tecido adiposo, estão presentes células imunes que são responsáveis pela manutenção da integridade e da sensibilidade do tecido. Essas células imunes podem sofrer mudanças durante o desenvolvimento da obesidade¹¹. No indivíduo saudável, células imunes trabalham no seu estado do tipo 2 ou T helper 2 (Th2) e têm como principal regulador a interleucina 33 (IL-33), citocina constitutiva secretada por células epiteliais. A IL-33 é responsável pela indução de células linfoides

inatas do tipo 2 (ILC2s) a gerarem citocinas como interleucinas 5 e 13 (IL-5 e IL-13), que podem ativar eosinófilos^{4,12,13}.

Eosinófilos são os principais secretores de interleucina 4 (IL-4) no tecido adiposo, que tem papel importante na polarização de macrófagos do tipo 2 (M2). Os macrófagos M2, no tecido adiposo saudável, são dominantes e responsáveis pela produção de marcadores anti-inflamatórios como a interleucina 10 (IL-10). Associada com a adiponectina (produzida por adipócitos), a IL-10 favorece um ambiente anti-inflamatório que promove a manutenção da sensibilidade à insulina no adipócito. Dessa forma, numa condição de equilíbrio energético, adipócitos e células imunes trabalham em coordenação no armazenamento e mobilização de energia em resposta a demanda energética do organismo^{4,11,14}.

No indivíduo obeso, as células imunes assumem um estado do tipo 1, que têm como regulador principal o TNF- α , que é secretado pelos adipócitos ou pelas células imunes e está relacionado com a preservação da integridade do tecido em resposta ao excesso de oferta de nutrientes^{4,11}. O aumento na massa do tecido adiposo leva a mudança no perfil da produção de adipocinas¹¹. A disfunção homeostática causada pelo aumento progressivo do tecido adiposo leva também ao aumento da expressão de outros mediadores como IL1- β , IL-6 e MCP-1. Esses mediadores inflamatórios têm várias atuações, por exemplo, o TNF- α e IL-6 podem induzir lipogênese hepática e aumentar a produção de triglicerídeos pelo fígado^{15,16}. O mediador MCP-1 causa aumento da infiltração de macrófagos e auxilia no processo de resistência à insulina. Não somente o mediador inflamatório MCP-1, mas outros fatores podem estar envolvidos na infiltração de macrófagos no tecido adiposo^{17,18}. Em tecidos adiposos de ratos obesos já foi observado um aumento da infiltração de macrófagos pró-inflamatórios (M1). Os macrófagos assumem esse perfil pró-inflamatório através de estímulos de mediadores como o interferon-gama (INF- γ) que é produzido por células *Natural Killer* (NK) e também por células T helper 1 (Th1) em resposta a um estresse metabólico¹⁹. As células Th1

além de produzirem INF- γ , produzem altas quantidades interleucina 2 (IL-2) que estimula a proliferação de células T, incluindo as CD4+ numa resposta autócrina²⁰. O envolvimento das células Th1 na obesidade é bem estabelecido, pois existem relatos que indivíduos obesos possuem alta quantidade dessas células no tecido adiposo visceral, quando comparados com indivíduos saudáveis¹⁹. As células T do tipo 17 (Th17) que também têm papel importante no desenvolvimento da obesidade²¹, são encontradas no tecido adiposo e são responsáveis por secretar interleucina 17 (IL-17)²¹ cuja função é recrutar neutrófilos para o local da inflamação²¹. Outros tipos celulares como as células T do tipo 2 (Th2) são células imunes que secretam as citocinas IL-4, IL-5 e IL-6¹⁹. Poucos estudos têm detalhado o papel anti-inflamatório que essas células exercem no indivíduo obeso, porém estudos realizados por Winer e colaboradores (2009)²² revelaram um número reduzido de células Th2 no tecido visceral de camundongos obesos. Outras células que residem no tecido adiposo são as células T regulatórias (Treg), que estão envolvidas na resposta inflamatória e em obesos as células Treg estão em números reduzidos o que proporciona um ambiente favorável para a ativação imune, que pode levar a um aumento de macrófagos M1 no tecido adiposo podendo afetar negativamente a sensibilidade à insulina^{6,11,19,23}. Outras células do sistema imune, tais como mastócitos e células NK, também se encontram aumentadas no tecido adiposo de obeso³.

Xu, H. *et al.* (2003)²⁴ relataram, no tecido adiposo, aumento da expressão de genes relacionados a macrófagos na terceira semana de ingestão de dieta hiperlipídica (HFD) com aumento intenso na 16ª e 26ª semanas de tratamento²⁴. Outro estudo mostrou elevação na infiltração de macrófagos com 8 semanas de dieta hiperlipídica, aumentando progressivamente até o final da indução com 16 e 20 semanas²⁵. Xu (2003)²⁴ e Strissel (2007)²⁵ relacionaram o aumento da infiltração de macrófagos com a morte celular de adipócitos e indicaram a hipótese de que esses macrófagos podem ser responsáveis pela remoção e remodelação do tecido adiposo. Adipócitos mortos se acumulam no tecido adiposo formando estruturas chamadas *crown-like* que promove recrutamento de macrófagos pró-

inflamatórios, e esse processo contribui para o aumento da presença de macrófagos no tecido adiposo²⁶. A inflamação encontrada em tecidos de roedores obesos também foi relatada em humanos, Hotamisligil *et al.*, (1995)²⁷ observaram aumento da produção de citocinas inflamatórias no tecido adiposo de humanos obesos, quando comparados aos indivíduos saudáveis.³

Essa inflamação sistêmica induzida pela obesidade se origina predominantemente no tecido adiposo e os mediadores inflamatórios envolvidos nesse processo podem causar resistência à insulina^{3,11}. Há tempos estuda-se a relação da resistência à insulina com inflamação e há 35 anos o primeiro mediador apontado como responsável pelo processo foi TNF- α , que poderia ter um papel importante nessa relação³. Estudos mostraram que adipócitos tratados com TNF- α apresentaram diminuição da sinalização da insulina e consequentemente diminuição da entrada de glicose nas células²⁸. Várias vias metabólicas diferentes podem ser ativadas em resposta ao excesso de nutrientes e podem desencadear uma resposta inflamatória a esse estresse gerado no indivíduo obeso que poderá acarretar na resistência à insulina³.

A insulina e o glucagon são considerados os principais reguladores do suprimento da energia celular, equilíbrio de macronutrientes e da manutenção adequada das concentrações de glicose no sangue²⁹. A insulina, produzida pelas células β no pâncreas, ativa processos anabólicos facilitando a difusão da glicose para os músculos e adipócitos, aumentando a ativação da glicólise e síntese de proteínas ou ácidos graxos, respectivamente^{29,30}. Além disso, a insulina também suprime a produção hepática de glicose (gliconeogênese)²⁹. Quando ocorre um comprometimento no reconhecimento da insulina pelas células, a glicose não é utilizada, acarretando no aumento da glicemia, isso provoca maior produção de insulina pelas células β caracterizando o nível inicial da resistência à insulina³⁰. Se esse ambiente resistente à insulina se mantiver durante um longo período, pode ocorrer um desgaste das células β , que cada vez mais terão que produzir altas quantidades de insulina em decorrência da demanda, o que leva a permanência da glicemia em elevados níveis³⁰.

Além do comprometimento da sensibilidade à insulina, a obesidade pode prejudicar órgãos como o fígado³¹. O fígado é responsável pelo metabolismo das lipoproteínas, participando da produção e/ou liberação de todas as classes de partículas de lipoproteínas, além disso, o fígado é também um importante centro de metabolismo do colesterol^{32,33,31}. O acúmulo de lipídeos pode levar a um comprometimento na sinalização da insulina neste órgão podendo culminar num quadro de resistência à insulina³⁴. A resistência à insulina desencadeia o aumento da atividade da lipase hormônio-sensível e lipólise no tecido adiposo resultando no aumento de ácidos graxos livres na circulação, o que provoca maior síntese de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) no fígado, e posterior quadro de hipertrigliceridemia³⁴. A hipertrigliceridemia junto com o aumento de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a diminuição das lipoproteínas de alta densidade (HDL) caracterizam a dislipidemia aterogênica³¹. A dislipidemia aterogênica está intimamente relacionada com doenças cardiovasculares e a obesidade é um importante fator de risco para essa doença³⁵.

Atualmente são poucos os medicamentos aprovados para o tratamento de obesidade, além disso o uso de alguns desses medicamentos têm sido relacionados com efeitos colaterais como distúrbios gastrointestinais, doenças cardiovasculares, entre outras^{36,37}.

No Brasil em 2006 foi aprovada uma proposta de Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC-SUS), tendo como objetivo central incentivar a pesquisa com fitoterápicos a partir de plantas medicinais com o intuito de resgatar e valorizar o uso de plantas medicinais e também validar cientificamente seu uso e produção³⁸.

A relação entre obesidade, tecido adiposo e doenças metabólicas torna as vias inflamatórias um interessante alvo terapêutico para o tratamento da obesidade, porém os ensaios clínicos realizados até o momento foram insatisfatórios e exigem mais estudos⁴. Além disso, plantas medicinais que são

utilizadas popularmente para perda de peso tornam-se uma alternativa terapêutica interessante para a investigação de um possível medicamento antiobesogênico³⁸.

Baccharis trimera Less (DC) é uma planta nativa do Brasil, amplamente encontrada em regiões tropicais e popularmente conhecida no Brasil como “Carqueja”³⁹. Na medicina popular é utilizada na forma de chá para o alívio de sintomas de hipertensão, reumatismo, diabetes, entre outras⁴⁰. Além dessas aplicações, seu chá também é usado para perda de peso e desordens hepáticas, sendo uma das plantas mais citadas popularmente⁴¹. Essa planta também possui diversas ações farmacológicas comprovadas, como por exemplo, ação antimicrobiana, antiulcerogênica, anti-inflamatória e analgésica^{40,41}. Nascimento e colaboradores (2017)³⁶ realizaram um estudo em ratos diabéticos que indicou um efeito hipoglicêmico da fração aquosa da *B. trimera*. Além do mais, o extrato metanólico da *B. trimera* causou diminuição da massa corporal e dos níveis de colesterol em ratos obesos tratados por 35 dias e também a inibição *in vitro* de lipase pancreática³⁸. Além disso, estudos realizados em nosso laboratório comprovaram que o óleo essencial da *B. trimera* possui efeito gastroprotetor, cicatrizante e anti-inflamatório⁴². Esses estudos fornecem importantes indicativos da ação antiobesogênica da *B. trimera* e que pretendemos investigar nesse projeto⁴¹.

CONCLUSÃO

Em resumo, até o momento, foi possível concluir que a linhagem Swiss não é eficaz no modelo proposto para a instalação de uma inflamação metabólica causada pela ingestão de uma dieta hiperlipídica diferentemente da linhagem C57BL/J6 que foi capaz de desenvolver além de alterações morfológicas, dislipidemia, resistência à insulina e também alterações na produção de citocinas anti-inflamatórias. O tratamento dos animais com o OEBT, na dose de 1 mg/Kg apresentou ação benéfica no fígado através da diminuição dos níveis de ALT e também pela ação anti-inflamatória do óleo, nas três doses testadas, em decorrência do aumento da IL-10 no TA epididimal desses animais.

5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO World Health Organization. (2019). Available at: <https://www.who.int/>.
2. Brasil. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilancia em Saúde. *VIGITEL BRASIL 2010 inear capital r região UF Tend . linear UF. Vigitel* (2011).
3. Gregor, M. F. & Hotamisligil, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu. Rev. Immunol.* **29**, 415–445 (2011).
4. Reilly, S. M. & Saltiel, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat. Rev. Endocrinol.* **13**, 633–643 (2017).
5. Hotamisligil, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* **444**, 860–867 (2006).
6. Olefsky, J. M. & Glass, C. K. Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance. *Annual Review of Physiology* **72**, (2010).
7. White, U. & Ravussin, E. Dynamics of adipose tissue turnover in human metabolic health and disease. *Diabetologia* **62**, 17–23 (2019).
8. Rocha, V. Z. & Folco, E. J. Inflammatory Concepts of Obesity. *Int. J. Inflam.* **2011**, 1–14 (2011).
9. Berg, A. H. & Scherer, P. E. Adipose Tissue, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Circ. Res.* **96**, 939–949 (2005).
10. Shoelson, S. E. Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **116**, 1793–1801 (2006).
11. Wensveen, F. M.*et al.*The ‘Big Bang’ in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose

tissue inflammation. *Eur. J. Immunol.* **45**, 2446–2456 (2015).

12. Doherty, T. A. At the Bench: Understanding group 2 innate lymphoid cells in disease. *J. Leukoc. Biol.* **97**, 455–467 (2015).
13. Moro, K. *et al.* Innate production of T H 2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit + Sca-1 + lymphoid cells. *Nature* **463**, 540–544 (2010).
14. Singh, P. *et al.* Differential effects of leptin on adiponectin expression with weight gain versus obesity. *Int. J. Obes.* **40**, 266–274 (2016).
15. Grunfeld, C. *et al.* Search for mediators of the lipogenic effects of tumor necrosis factor: potential role for interleukin 6. *Cancer Res.* **50**, 4233–4238 (1990).
16. Feingold, K. R. & Grunfeld, C. Tumor necrosis factor-alpha stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo. *J. Clin. Invest.* **80**, 184–190 (1987).
17. Lackey, D. E. & Olefsky, J. M. Regulation of metabolism by the innate immune system. *Nat. Rev. Endocrinol.* **12**, 15–20 (2016).
18. Lumeng, C. N., *et al* Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes* **56**, 16–23 (2007).
19. Herck, M. A. V. *et al.* The differential roles of T-cells in non-alcoholic fatty liver disease and obesity. *Front. Immunol.* **10**, 82 (2019).
20. Parkin, J. *et al.* (2001) An overview of the immune system. *Nursing standard (Royal College of Nursing (Great Britain))*. **23**, (2001).
21. Chehimi, M., Vidal, H. & Eljaafari, A. Pathogenic role of IL-17-producing immune cells in

obesity, and related inflammatory diseases. *J. Clin. Med.* **6**, 68 (2017).

22. Winer, S. *et al.* Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy: CD4⁺ T cells control glucose homeostasis. *Nat. Med.* **15**, 921–929 (2009).
23. Cipolletta, D. Adipose tissue-resident regulatory T cells: Phenotypic specialization, functions and therapeutic potential. *Immunology* **142**, 517–525 (2014).
24. Xu, H. *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **112**, 1821–1830 (2003).
25. Strissel, K. J. *et al.* Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications. *Diabetes* **56**, 2910–2918 (2007).
26. Wu, H. & Ballantyne, C. M. Metabolic inflammation and insulin resistance in obesity. *Circ. Res.* 1549–1564 (2020). doi:10.1161/CIRCRESAHA.119.315896
27. Hotamisligil, G. S. *et al.* Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **95**, 2409–2415 (1995).
28. Hotamisligil, G. S. *et al.* Tumor necrosis factor α inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**, 4854–4858 (1994).
29. 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). *J. Vis. Exp.* **2018**, 1–12 (2018).
30. Ahmed, B., Sultana, R. & Greene, M. W. Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomed. Pharmacother.* **137**, 111315 (2021).

31. Deprince, A., Haas, J. T. & Staels, B. Dysregulated lipid metabolism links NAFLD to cardiovascular disease. *Mol. Metab.* **42**, 101092 (2020).
32. Uchida, N. S. *et al.* Hepatoprotective effect of citral on acetaminophen-induced liver toxicity in mice. *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* **2017**, 1–9 (2017).
33. Liu, D. *et al.* Dietary supplementation of apple phlorizin attenuates the redox state related to gut microbiota homeostasis in C57BL / 6J mice fed with a high-fat diet. *J. Agric. Food Chem.* **69**, 198–221 (2020).
34. Prasun, P. Mitochondrial dysfunction in metabolic syndrome. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* **1866**, 165838 (2020).
35. Stadler, J. T. & Marsche, G. Obesity-related changes in high-density lipoprotein metabolism and function. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 1–28 (2020).
36. De Souza Marinho Do Nascimento, D. *et al.* *Baccharis trimera* (Less.) DC exhibits an anti-adipogenic effect by inhibiting the expression of proteins involved in adipocyte differentiation. *Molecules* **22**, 1–16 (2017).
37. Palatty, P. L. & Saldanha, E. Pharmacotherapy for weight management. *J. Assoc. Physicians India* **60**, 34–40, 45 (2012).
38. Souza, S. De, Pereira, L. & Souza, A. Estudo da atividade antiobesidade do extrato metanólico de *Baccharis trimera* (Less.) DC. *Rev. Bras.* **93**, 27–32 (2012).
39. Besten, M. A. *et al.* Chemical composition of volatiles from male and female specimens of *Baccharis trimera* collected in two distant regions of southern brazil: a comparative study using chemometrics. *Quim. Nova* **36**, 1096–1100 (2013).

40. dos Reis Lívero, F. A. *et al.* Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* promotes gastroprotection and healing of acute and chronic gastric ulcers induced by ethanol and acetic acid. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **389**, 985–998 (2016).
41. Cercato, L. M., White, P. A. S., Nampo, F. K., Santos, M. R. V. & Camargo, E. A. A systematic review of medicinal plants used for weight loss in Brazil: Is there potential for obesity treatment? *J. Ethnopharmacol.* **176**, 286–296 (2015).
42. Bueno, G. *et al.* The essential oil from *Baccharis trimera* (Less.) DC improves gastric ulcer healing in rats through modulation of VEGF and MMP-2 activity. *J. Ethnopharmacol.* **271**, 113832 (2021).
43. Waterman, P. G. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. *Biochem. Syst. Ecol.* **24**, 594 (1996).
44. 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).
45. Winterbourn, C. C. *et al.* The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J. Lab. Clin. Med.* **85**, 337–341 (1975).
46. Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology.* **105**, 121–126 (1984).
47. Faure, P. & Lafond, J.-L. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. in *Analysis of Free Radicals in Biological Systems* 237–248 (Birkhäuser Basel, 1995). doi:10.1007/978-3-0348-9074-8_17
48. Wang, C.-Y. & Liao, J. K. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance.

Methods in molecular biology. **821**, (2012)

49. Sugama, J., *et al.*. Enteropeptidase inhibition improves obesity by modulating gut microbiota composition and enterobacterial metabolites in diet-induced obese mice. *Pharmacol. Res.* 105337 (2020). doi:10.1016/j.phrs.2020.105337
50. Poon, K. Behavioral feeding circuit: dietary fat-induced effects of inflammatory mediators in the hypothalamus. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **11**, 1–12 (2020).
51. Lai, Y. S. *et al.* Mass-spectrometry-based serum metabolomics of a C57BL/J6J mouse model of high-fat-diet-induced non-alcoholic fatty liver disease development. *J. Agric. Food Chem.* **63**, 7873–7884 (2015).
52. Sladek, C. D. *et al.*. The “metabolic sensor” function of rat supraoptic oxytocin and vasopressin neurons is attenuated during lactation but not in diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* **310**, R337–R345 (2016).
53. Grasa-López, A. *et al.* *Undaria pinnatifida* and fucoxanthin ameliorate lipogenesis and markers of both inflammation and cardiovascular dysfunction in an animal model of diet-induced obesity. *Mar. Drugs* **14**, 148 (2016).
54. Lutz, T. A. & Woods, S. C. Overview of animal models of obesity. *Curr. Protoc. Pharmacol.* 1–22 (2012). doi:10.1002/0471141755.ph0561s58
55. Barrett, P., Mercer, J. G. & Morgan, P. J. Preclinical models for obesity research. *DMM Dis. Model. Mech.* **9**, 1245–1255 (2016).
56. Sharma, B. R. *et al.*. *Caulerpa okamurae* extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and prevents high-fat diet-induced obesity in C57BL/J6 mice. *Nutr. Res.* **47**, 44–52 (2017).

57. Baldassano, S. *et al.* Glucagon-like peptide-2 treatment improves glucose dysmetabolism in mice fed a high-fat diet. *Endocrine* **54**, 648–656 (2016).
58. Prior, R. L. *et al.* Whole berries versus berry anthocyanins: Interactions with dietary fat levels in the C57BL/J6J mouse model of obesity. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 647–653 (2008).
59. 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).
60. 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).
61. Pomplun, D. *et al.* Reduced expression of mitochondrial frataxin in mice exacerbates diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 6377–6381 (2007).
62. Cinti, S. *et al.* Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* **46**, 2347–2355 (2005).
63. van der Heijden, R. A. *et al.* High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/J6j mice. *Aging (Albany. NY).* **7**, 256–268 (2015).
64. Shoelson, S. E. *et al.* Inflammation and insulin resistance find the latest version : Review series Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* **116**, 1793–1801 (2006).
65. Glass, Christopher K. & Olefsky, J. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metabolism* **15**, 635–645 (2014).
66. Sheedfar, F., *et al.* Liver diseases and aging: friends or foes? *Aging Cell.* **6**, 950–954 (2013).

doi:10.1111/accel.12128

67. Ohara, R. *et al.* *Terminalia catappa* L. infusion accelerates the healing process of gastric ischemia-reperfusion injury in rats. *J. Ethnopharmacol.* **256**, 112793 (2020).
68. Henao-mejia, J. *et al.* Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature.* **7384**, 179-185 (2012).
69. Panteghini, M. & Bais, R. Serum Enzymes. in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* (eds. Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer, C. T.) 404–434 (Elsevier, 2018).
70. Zhang, Y. *et al.* Function Insoluble dietary fiber derived from brown seaweed *Laminaria japonica* ameliorate obesity-related features via modulating gut microbiota. *Food & Function.* **2**, 587-601 (2020).
71. Wu, Y., Sun, H., Yi, R., Tan, F. & Zhao, X. Anti-obesity effect of Liupao tea extract by modulating lipid metabolism and oxidative stress in high-fat-diet-induced obese mice. *J Food Sci.* **1**, 215-222 (2020).
72. Bentala, H. *et al.* Removal of phosphate from lipid A as a strategy to detoxify lipopolysaccharide. *Shock* **18**, 561–566 (2002).
73. Xiang, A. S. & Kingwell, B. A. Rethinking good cholesterol: a clinicians' guide to understanding HDL. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **7**, 575–582 (2019).
74. Golomb, B. A., Dang, T. T. & Criqui, M. H. Peripheral arterial disease: morbidity and mortality implications. *Circulation* **114**, 688–699 (2006).

75. Van der Steeg, W. A. *et al.* High-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein particle size, and apolipoprotein A-I: significance for cardiovascular risk. The IDEAL and EPIC-Norfolk Studies. *J. Am. Coll. Cardiol.* **51**, 634–642 (2008).
76. Qi, Y. *et al.* Cholesterol-overloaded HDL particles are independently associated with progression of carotid atherosclerosis in a cardiovascular disease-free population: A community-based cohort study. *J. Am. Coll. Cardiol.* **65**, 355–363 (2015).
77. Guyton, A. C. & Hall, J. E. *Tratado de fisiologia médica.* (2017).
78. Guzik, T. J. *et al.* The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. *Cardiovasc. Res.* **113**, 1009–1023 (2017).
79. West, D. B. *et al.* Dietary obesity in nine inbred mouse strains. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* **262**, R1025-1032 (1992).
80. Surwit, R. S. *et al.* Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/J6J and A J mice. *Metabolism* **44**, 645–651 (1995).
81. 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 Res.* **1047**, 137–147 (2005).
82. Calco, G. N., Fryer, A. D. & Nie, Z. Unraveling the connection between eosinophils and obesity. *J. Leukoc. Biol.* **108**, 123–128 (2020).
83. Wu, D. *et al.* Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science.* **332**, 243–247 (2011).

84. Bolus, W. R., Kennedy, A. J. & Hasty, A. H. Obesity-induced reduction of adipose eosinophils is reversed with low-calorie dietary intervention. *Physiol. Rep.* **22**, e13919 (2018).
85. Choi, E. W. *et al.* Fas mutation reduces obesity by increasing IL-4 and IL-10 expression and promoting white adipose tissue browning. *Sci. Rep.* **10**, 1–14 (2020).
86. Cercato, L. M., *et al.* A systematic review of medicinal plants used for weight loss in Brazil: Is there potential for obesity treatment? *Journal of Ethnopharmacology* **176**, 286-296 (2015).