

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE COPAÍBA NO TECIDO ADIPOSEO MARROM DE RATOS COM OBESIDADE HIPOTALÂMICA

MOREIRA, Thalyta.
URRUTIA, Marianela Andrea Díaz.

RESUMO

A obesidade, uma condição crônica e complexa, está ligada ao desequilíbrio entre ingestão calórica e gasto energético. O tecido adiposo marrom (TAM), ao contrário do tecido adiposo branco (TAB), é especializado em termogênese devido à proteína desacopladora 1 (UCP-1) nas suas mitocôndrias, o que aumenta o gasto energético. Estudos recentes indicam que componentes da copaíba, especialmente o β -cariofileno, podem ativar vias metabólicas do TAM. Este estudo analisou o efeito da suplementação com óleo de copaíba no TAM de ratos com obesidade hipotalâmica. Após aprovação do Comitê de Ética sob protocolo 13-20, parte dos animais foram induzidos à obesidade com glutamato monossódico (MSG), enquanto o grupo controle recebeu solução salina. Do dia 30 ao 90, subgrupos de ambos foram suplementados com óleo de copaíba ou solução salina. Foram medidos o índice de Lee, peso dos animais e do TAM, e realizada análise histológica. A obesidade aumentou significativamente o índice de Lee e o peso dos animais; a suplementação com óleo de copaíba não afetou esses parâmetros, mas aumentou significativamente o peso do TAM. A obesidade reduziu o número de núcleos no TAM, mas essa redução não foi significativa no grupo MSG suplementado. Os resultados indicam que o óleo de copaíba pode regular o TAM, possivelmente via β -cariofileno, que atua como agonista do receptor canabinóide tipo 2 (CB2), ativando o PPAR γ . Conclui-se que o óleo de copaíba apresenta potencial para modulação do TAM, mas são necessárias pesquisas para confirmar esses efeitos e investigar se ocorre a atividade termogênica no TAM.

PALAVRAS-CHAVE: Tecido Adiposo Marrom, Obesidade, Proteína Desacopladora 1.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o número de pessoas com obesidade tem se tornado uma preocupação crescente para a saúde pública. De acordo com estimativas realizadas em 2023 pela Federação Mundial da Obesidade (do inglês: *World Obesity Federation* - WOF), até 2035, cerca de 4 milhões de pessoas serão afetadas por essa condição. Além disso, a entidade revela que, no Brasil, a projeção para o mesmo ano, é de que 41% da população adulta seja classificada como obesa (WOF, 2023).

Uma análise sistemática, realizada por Murray *et al.* (2020), acentua ainda mais a gravidade desse cenário. O estudo investigou 87 fatores de risco em 204 países e territórios entre 1990 e 2019, abrangendo seu impacto para a saúde humana. Entre os fatores analisados, o alto índice de massa corporal (IMC), destacou-se, revelando uma tendência de crescimento preocupante ao longo dos anos. Ademais, a pesquisa revelou que, durante esse período, nenhum país ou território obteve sucesso na redução da proporção dos indivíduos com IMC elevado.

Sob essa perspectiva, a obesidade é uma condição de saúde crônica e metabolicamente complexa, influenciada por uma variedade de fatores, incluindo aspectos genéticos, metabólicos,

psicossociais e culturais, além de fatores nutricionais, que desempenham um papel significativo em sua etiologia e persistência (Cuppari, 2018). Sua origem está associada a um desequilíbrio entre a ingestão calórica e o gasto energético, que promove a expansão do tecido adiposo (TA) (Marcelin *et al.*, 2019). O crescimento do TA, ocorre devido ao acúmulo de ácidos graxos e triglicerídeos, predominantemente presentes no tecido adiposo branco (TAB), cuja principal função é o armazenamento de gordura (Wang *et al.*, 2022; Ross, Pawlina, Barnash, 2012). Porém em indivíduos obesos, o TAB está associado a um estado pró-inflamatório crônico de baixo grau, devido à sua capacidade aumentada de secretar moléculas com ação pró-inflamatória, contribuindo para a patogênese de várias doenças, como as doenças crônicas não transmissíveis, acidente vascular encefálico, infertilidade e alguns tipos de cânceres (Wang *et al.*, 2022; Marreiro, 2013; Lysen, Israel, 2017).

Em contrapartida, o TA não se restringe apenas ao TAB. Entre as classificações existentes, encontra-se o tecido adiposo multilocular, ou marrom (TAM) (Ross, Pawlina, Barnash, 2012). Mediante a esse contexto, observa-se que o TAM se diferencia do TAB tanto em termos de sua estrutura celular quanto à função que desempenha no corpo humano. Abrahamsohn (2018), descreve o TAM contendo múltiplas gotículas lipídicas e número aumentado de mitocôndrias; por efeito da rica presença dessa organela no tecido, ele possui como função primordial a termogênese. Dessa forma, essa ação está ligada a presença da proteína desacopladora 1 (do inglês: *uncoupling protein 1* - UCP-1), presente nas mitocôndrias do TAM, que atua dissipando a energia gerada pelo acúmulo de prótons na forma de calor, por meio do uso de ácido graxos, aumentando o gasto energético do indivíduo (Marreiro, 2013; Gaspar *et al.*, 2021). Devido a essa característica, o TAM tem sido objeto de estudos que buscam melhorar sua eficiência como potencial tratamento para a obesidade (Gaspar *et al.*, 2021).

Abordagens que obtiveram efeito na regulação positiva do TAM atribuíram esse benefício à ativação do receptor nuclear ativado por proliferador de peroxissoma γ (do inglês: *peroxisome proliferator-activated receptor γ* - PPAR γ) (Zhu *et al.*, 2020). Além do seu papel na adipogênese, o PPAR γ induz a expressão de genes específicos do TAM, como o regulador do domínio PR contendo 16 (do inglês: *regulator PR domain containing 16* - PRDM16), o coativador gama 1 alfa (do inglês: *coactivator 1-alpha* - PGC-1 α) e a UCP1, que participam da diferenciação de adipócitos marrons, biogênese e respiração mitocondrial, além de ativarem mecanismos termogênicos do TAM (Fenzl, Kiefer, 2014; Zhu *et al.*, 2020).

Estudos recentes têm relacionado componentes encontrados em plantas à via do PPAR γ . Entre esses compostos está o β -cariofileno, principal componente da fração sesquiterpênica do óleo-resina de *Copaifera officinalis*, conhecido como copaíba (Romero, 2007). Youssef, El-Fayoumi, Mahmoud (2019) confirmam o papel do β -cariofileno na via do PPAR γ , atuando como agonista completo do receptor canabinóide tipo 2 (CB2), o qual por sua vez ativa o PPAR γ .

Nesse contexto, diante do crescente cenário da obesidade, é inegável a necessidade de explorar estratégias para a prevenção e o manejo dessa condição. A ativação do TAM, especialmente mediante a via do PPAR γ , surge como uma abordagem promissora. O composto β -cariofileno, encontrado na copaíba, atua como agonista do CB2, ativando indiretamente o PPAR γ , sugerindo um potencial significativo para novas intervenções terapêuticas contra a obesidade. Portanto, este trabalho teve o intuito de avaliar as possíveis mudanças no TAM, em decorrência da suplementação com óleo de copaíba em ratos *wistar* com obesidade hipotalâmica.

2 METODOLOGIA

Este estudo trata-se de uma pesquisa experimental, quantitativa e descritiva, que avalia aspectos específicos relacionados à mudança do TAM.

A presente pesquisa contou com a colaboração do Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabolismo (LAFEM) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). A entidade forneceu os tecidos de TAM de 22 ratos previamente eutanasiados, provenientes de um projeto avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da Unioeste, conforme estabelecido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sob o protocolo 13-20, datado em 13 de abril de 2020.

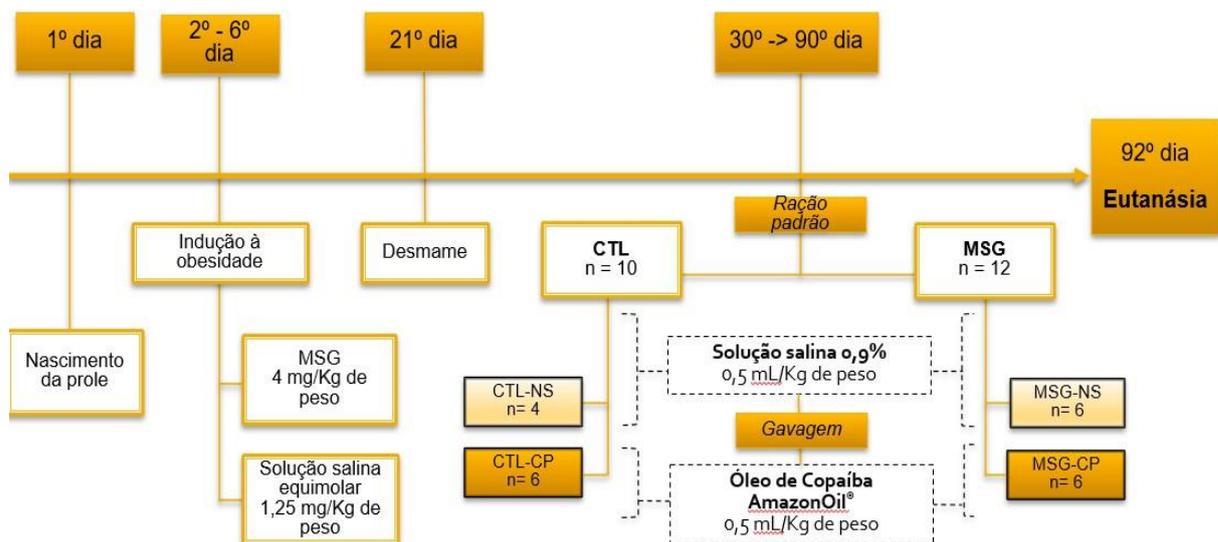
Após o nascimento, durante os primeiros cinco dias de vida, parte dos animais foram submetidos à indução da obesidade mediante uma injeção cervical subcutânea de glutamato monossódico (MSG), na dose de 4mg/kg de peso corporal, seguindo o protocolo de Olney (1969). Ratos do grupo controle (CTL) receberam, no mesmo período, solução salina equimolar (1,25mg/kg de corporal). Todos os animais foram desmamados aos 21 dias de vida e mantidos em condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro / escuro de 12 / 12 horas, recebendo água potável e ração padrão (Biobase®) *ad libitum*.

Posteriormente, do dia 30 a 90, uma fração dos grupos CTL e MSG receberam a suplementação com óleo de copaíba (CP) (AmazonOil®). Segundo dados oferecidos pela empresa,

o óleo apresenta 41,48% de β -cariofileno na fração sesquiterpênica, que corresponde a 72% do total do óleo. Para tal, cada animal foi pesado individualmente e recebeu o óleo na dose de 0,5ml/kg de peso corporal. Conforme o estudo de Vieira (2011), o óleo foi administrado por gavagem, utilizando uma seringa acoplada à sonda orogástrica. Os animais Não Suplementados (NS) receberam volume equivalente de solução salina 0,9%. A suplementação ocorreu três vezes por semana, em dias alternados. Ao final desse processo, foram formados quatro grupos: CTL-NS: Grupo controle não suplementado; CTL-CP: Grupo controle suplementado com óleo de copaíba; MSG-NS: Grupo obeso não suplementado; MSG-CP: Grupo obeso suplementado.

Aos 92 dias de vida, após 48 horas da suplementação e um jejum prévio de 12 horas, os animais foram pesados e o comprimento Naso-Anal (cm) (CNA) foi mensurado, para posterior cálculo do Índice de Lee (IL) ($\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)} \div \text{CNA (cm)} \times 1000}$) (Bernardis, 1970). Em seguida, foi realizada a eutanásia onde a cavidade interescapular dos animais foi laparotomizada e os depósitos de TAM foram retirados, lavados, pesados e armazenados. Na Figura 1 se apresenta o delineamento experimental utilizado na presente pesquisa.

Figura 1 – Delineamento Experimental



Legenda: CTL: Controle; MSG: Obesidade; NS: Não suplementado; CP: Suplementado com óleo de copaíba.
 Fonte: Autora (2024).

Após a retirada do TAM, o mesmo foi inicialmente fixado em solução ALFAC por 24 horas, transferido para álcool 70% e submetido a uma série de desidratação em álcool crescente, 80%, 90%, 95% e 100%. Posteriormente, os tecidos passaram por diafanização em xilol para logo serem emblocados em Paraplast®. Os blocos foram seccionados em cortes semi-seriados (descarte de 5

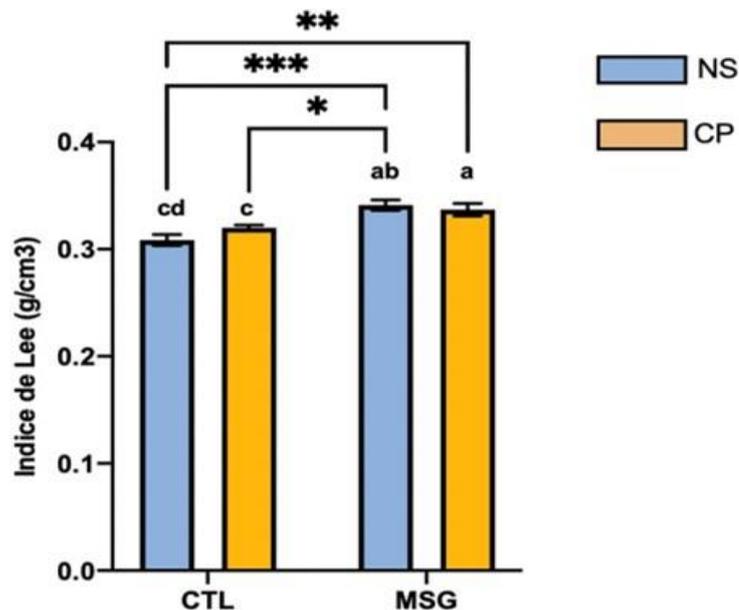
cortes entre o corte selecionado) no micrótomo (Olympus) com uma espessura de 5µm, e foram corados com Hematoxilina e Eosina (H&E) (Junqueira e Junqueira 1983). Foram montadas três lâminas, cada uma contendo três cortes por animal. Um total de nove fotos por animal foi obtido com o auxílio de um fotomicroscópio (Olympus DP71), utilizando a objetiva de 40x para registro das imagens. A análise histológica foi realizada utilizando o programa *Image J Pro Plus*, onde foram avaliados, da imagem total o número de núcleos do TAM.

Os resultados foram submetidos à análise da Distância de Cook, para verificação de dados fora da curva. Os pressupostos de normalidade e Homocedasticidade serão testados a partir da análise Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Dados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) e submetidos a análise de variância (ANOVA). Quando F foi significativo foi aplicado pós-teste de Turkey ($p < 0,05$) para avaliar diferenças entre os grupos. Análise estatística e gráficos foram elaborados com auxílio do *Program Graph Pad Prism* (versão 8.0).

3 ANÁLISES E DISCUSSÕES

O grupo MSG, apresentou o status de obesidade confirmada pelo IL (Bernardis, 1970). Outrossim, os animais submetidos ao tratamento exibiram um IL significativamente maior em comparação com o grupo CTL, evidenciando uma diferença estatística ($p < 0,0001$), observada na Figura 2. No entanto, a suplementação com CP não exerceu um efeito significativo neste aspecto ($p = 0,4413$).

Figura 2 - Análise estatística do Índice de Lee dos Animais.

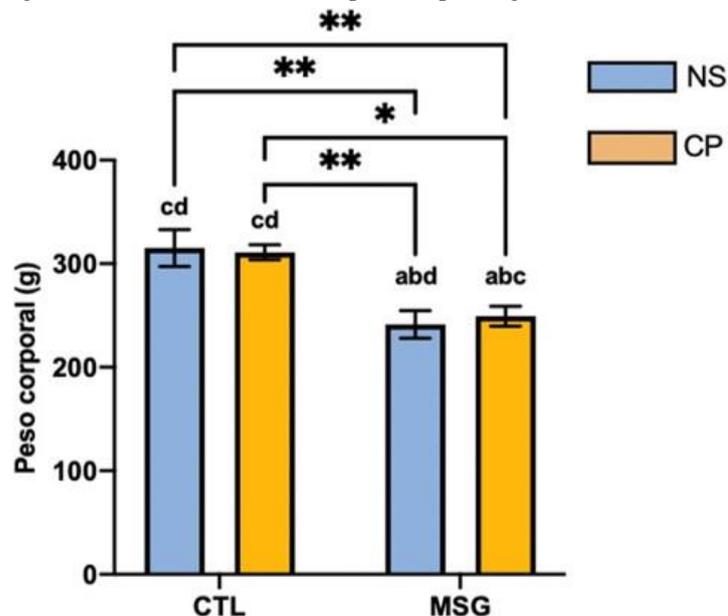


Legenda: CTL: Controle; MSG: Obesidade; NS: Não suplementado; CP: Suplementado com óleo de copaíba.
 Fonte: Autora com auxílio do programa *Graphpad Prism* (2024).

Os resultados aqui encontrados, revelam uma associação interessante com estudos anteriores que empregaram tratamentos análogos. Por exemplo, Yamamoto *et al.* (1993) observaram que camundongos submetidos ao MSG durante os primeiros cinco dias de vida, embora com uma dose ligeiramente diferente de 2 mg/kg de peso corporal, exibiram um IL superior ao grupo controle após atingirem 8 semanas de idade. Além disso, outra pesquisa conduzida pelo grupo de Hernández-Bautista *et al.* (2014) relatou resultados paralelos ao iniciar o tratamento de MSG com 2 mg/kg de peso corporal, no segundo e quarto dia pós-natais, e posteriormente aumentando a dose para 4 mg/kg de peso corporal, no sexto, oitavo e décimo dias. Essa observação sugere que, independentemente das variações nas doses utilizadas nos diferentes estudos, a obesidade foi consistentemente observada nesses animais.

Ratos submetidos ao tratamento com MSG apresentaram atrofia no crescimento. A obesidade induzida influenciou significativamente esse fator ($p < 0,0001$), conforme demonstrado na Figura 3. Ademais, não houve diferença significativa entre os grupos NS e CP, indicando que a suplementação não foi eficaz em mitigar os efeitos da obesidade no crescimento dos ratos ($p = 0,8859$).

Figura 3 – Análise estatística do peso corporal (g) dos animais.



Legenda: CTL: Controle; MSG: Obesidade; NS: Não suplementado; CP: Suplementado com óleo de copaíba.
 Fonte: Autora com auxílio do programa *Graphpad Prism* (2024).

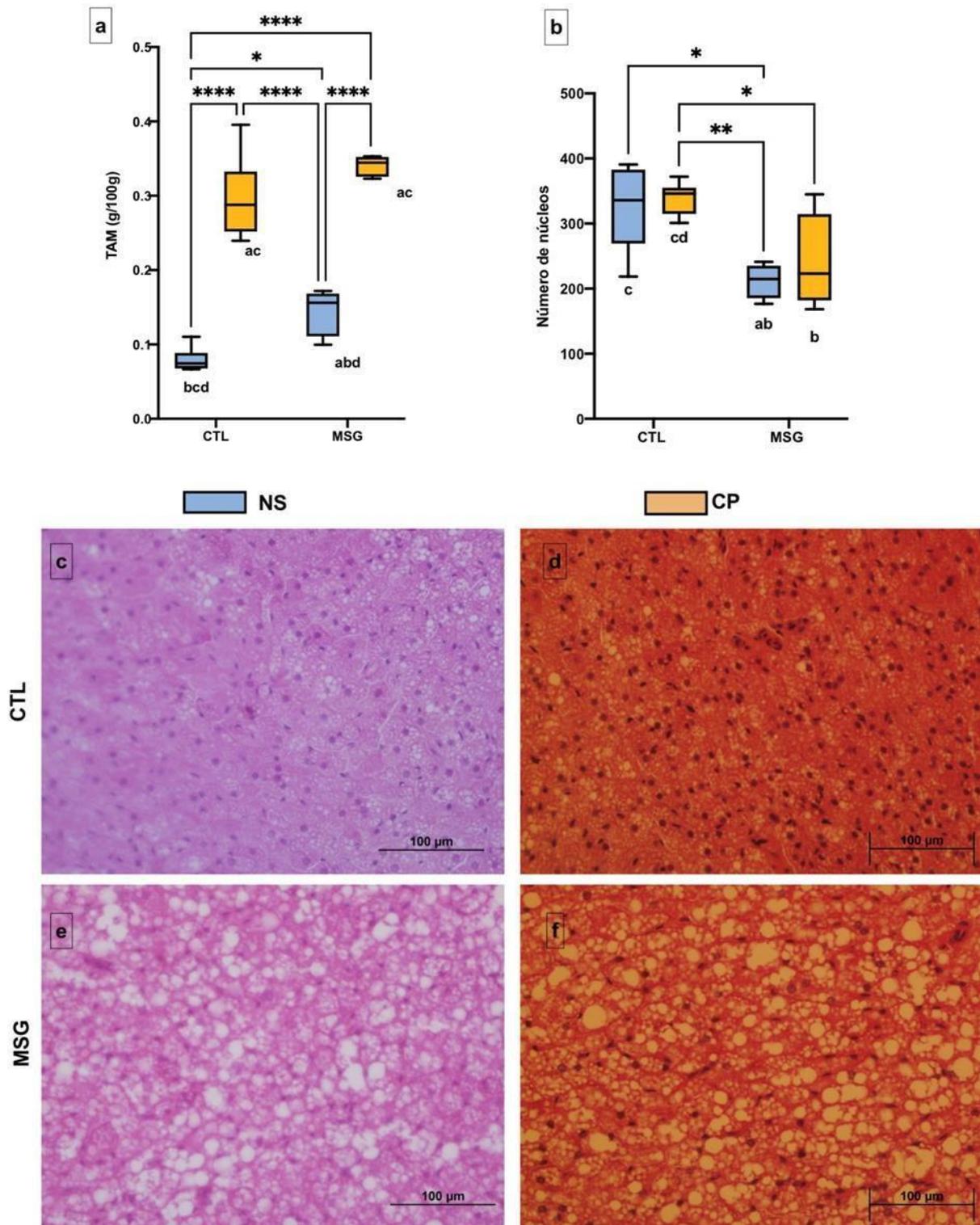
A administração subcutânea de MSG em ratos neonatos ocasiona danos ao hipotálamo, com destaque para o núcleo hipotalâmico arqueado (ARQ), em que ocorre a destruição de uma significativa proporção dos neurônios que o compõem (Olney 1969).

A ablação dessa estrutura compromete parte do eixo somatotrófico, uma vez que a secreção hipofisária de GH é regulada pelo hipotálamo por meio do hormônio liberador de GH (GHRH) (Paula *et al.*, 2021; Jr Martinelli, Custódio, Aguiar-Oliveira, 2008). As lesões causadas ao ARQ já foram associadas a diminuição de 90% dos níveis de GH devido à perda desse fator liberador (Maiter *et al.*, 1991). Acerca dessa lógica, estudos mais recentes confirmam essa associação, mostrando que, além da lesão previamente demonstrada, a administração de MSG também compromete a eminência mediana, que é responsável pelo transporte dos hormônios liberadores produzidos no hipotálamo para hipófise anterior (Paula *et al.*, 2021; Yin, Gore, 2010). Isso explicaria, no contexto do presente estudo, o retardo de crescimento encontrado nos animais do grupo MSG.

A obesidade aumentou significativamente ($p = 0,0006$) o peso do TAM, como observado na comparação entre os grupos CTL-NS e MSG-NS. Além do mais, a suplementação com CP apresentou uma diferença estatística notável ($p < 0,0001$), observada principalmente entre os grupos NS e CP, superando os efeitos do MSG. Esses achados sugerem um possível papel terapêutico do CP na modulação do TAM em contextos de obesidade.

Em relação ao número de núcleos, os animais CTL-NS foram os que apresentaram a maior quantidade dessas estruturas em comparação a todos os outros grupos. Sendo assim, a obesidade se configura como o fator determinante da análise estatística encontrada ($p = 0,0002$) evidenciada pela diferença entre o grupo CTL-NS e MSG-NS. No entanto, foi observado que os animais do grupo MSG-CP, não apresentaram diferença estatisticamente significativa do grupo CTL-NS, sugerindo um papel positivo da suplementação ($p = 0,3454$). Na Figura 4 apresenta-se a análise estatística do peso do TAM (g), número de núcleos e análise histológica.

Figura 4 – Análise estatística do peso do TAM (g), número de núcleos e análise histológica.



Legenda: TAM: Tecido Adiposo marrom; CTL: Controle; MSG: Obesidade; NS: Não suplementado; CP: Suplementado com óleo de copaíba. Figura a: análise estatística do peso do TAM; Figura b: análise estatística do número de núcleos do TAM; Figura c: análise histológica do número de núcleos do grupo CTL-NS; Figura d: análise histológica do número de núcleos do grupo CTL-CP; Figura e: análise histológica do número de núcleos do grupo MSG-NS; Figura f: análise histológica do número de núcleos do grupo MSG-CP.

Fonte: Autora com auxílio do programa *Graphpad Prism* (2024).

A ampliação do TAM é conhecida por aumentar a produção de calor e a atividade termogênica, promovendo um maior gasto energético. Logo, esse efeito é mediado pela expressão elevada de PRDM 16, que aumenta o número de adipócitos marrons e subsequentemente a expressão de UCP-1 nas mitocôndrias, estimulando programas termogênicos (Liang *et al.*, 2021).

Estudos realizados com camundongos, induzidos à obesidade com uma dieta rica em gordura e suplementados por berberina, explicam as vias associadas à maior atividade do TAM (Xu *et al.*, 2021). A berberina aumentou a via AMPK/SIRT, que ativou seletivamente o PPAR γ , e recrutou o coativador PRDM 16 no TAM. Isso resultou no aumento do peso do TAM dos animais, similarmente ao que observamos com a suplementação de CP em nosso estudo. Para corroborar ainda mais o papel do PPAR γ na adipogênese, Shibata, Eguchi e Wada (2023) utilizaram camundongos deficientes em genes específicos para PPAR γ no TAM. Destarte, os resultados são intrigantes, visto que a deleção de PPAR γ nos adipócitos marrons resultou em um branqueamento severo no TAM e reduziu a expressão de genes específicos desse tecido, como a UCP-1, indicando que a PPAR γ é essencial para a manutenção e função dos adipócitos marrons, além de ser necessário para uma termogênese adequada. Outros estudos também afirmam que a utilização de antagonistas de PPAR γ , reduz os níveis de mRNA de UCP1, PRDM 16, PGC-1 α , sugerindo que a ativação do PPAR γ aumenta a expressão de genes do TAM (Zhu *et al.*, 2020).

Embora estudos que associam diretamente a ativação de PPAR γ à suplementação com CP não sejam conhecidos até o momento, a ativação de outras vias, que implicam no PPAR γ , está associada ao composto β -cariofileno, que como mencionado anteriormente, representa 29,87% do óleo de copaíba utilizado neste estudo.

Uma pesquisa, realizada por Youssef, El- Fayoumi, Mahmoud (2019), utilizou β -cariofileno em ratos da linhagem *wistar*, encontrando resultados positivos associados às vias previamente descritas. A suplementação com β -cariofileno resultou na redução do índice de gordura visceral, diminuição dos marcadores de inflamação, aumento do potencial antioxidante (principalmente da glutathiona reduzida) e ampliação da expressão de PPAR γ e PGC-1 α . Dessa maneira, os autores atribuíram todos esses efeitos benéficos à atuação do β -cariofileno, como agonista completo do CB2, que ativa o PPAR γ . Portanto, sugerimos que o aumento do TAM decorrente da suplementação com CP observado em nossos resultados pode estar relacionado com alguma via que ative o PPAR γ .

A obesidade foi identificada como um fator determinante para o aumento do TAM e menor número de núcleos em nosso estudo, corroborando resultados semelhantes já documentados

(Yoshioka, Yoshida, Kondo, 1991). Todavia, os resultados encontrados por esses pesquisadores demonstraram que os animais tratados com MSG apresentaram redução na taxa metabólica e defeitos na atividade termogênica do TAM. Além disso, estudos mais recentes também corroboram esse efeito, mostrando que a expressão da PRDM16 foi significativamente menor em grupos de camundongos tratados com MSG (Liang *et al.*, 2021). Contudo, como mencionado anteriormente, o aumento do TAM observado parece estar mais relacionado à suplementação do que à obesidade induzida pelo MSG. Portanto, não se deve descartar a hipótese de que a suplementação pode afetar positivamente o TAM, uma vez que estudos que suplementaram outros compostos também observaram um aumento desse tecido, porém com ele atuando de forma ativa (Xu *et al.*, 2021). Ademais, a ausência de diferença estatística observada entre os grupos MSG-CP e CTL-NS, no que se refere ao número de núcleos, também sugere um efeito positivo da suplementação com CP.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por fim, concluímos que o óleo de copaíba apresenta potencial para a modulação do TAM em ratos com obesidade hipotalâmica, evidenciado pelo aumento desse tecido nos animais suplementados. Além disso, o óleo de copaíba mitigou as diferenças observadas no número de núcleos entre os grupos CTL-NS e MSG-CP. No entanto, não foram identificados efeitos positivos da suplementação no índice de Lee e no peso corporal.

Sugere-se que a ativação indireta do PPAR γ pelo β -cariofileno forneça uma base plausível para os efeitos positivos observados. No entanto, é crucial que outros estudos sejam realizados para confirmar essas hipóteses. É necessário, portanto, avaliar a atividade termogênica do TAM nos animais obesos suplementados, para comprovar se realmente há uma ativação desse tecido. Para isso, recomenda-se analisar a expressão gênica do TAM, incluindo genes como a UCP-1, PRDM 16, e PGC-1 α . Ademais, deve-se conduzir um estudo mais aprofundado sobre a interação entre o β -cariofileno e PPAR γ .

Em suma, este estudo contribuiu significativamente para o entendimento e desenvolvimento de estratégias inovadoras no combate à obesidade, utilizando recursos naturais promissores como o óleo de copaíba.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSHON, P. Tecido adiposo. *In: Histologia Básica: Texto e Atlas*. Editora Guanabara Koogan, 2018.
- AMAZON OIL. **Óleo essencial de Copaiba** - *Copaifera officinalis*. 2024. Disponível em: <https://amazonoil.com.br/produtos-da-floresta/oleo-essencial-de-copaiba/>. Acesos em: 12 de maio de 2024.
- BERNARDIS, L. L. Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's "nutritive ratio" in rats with hypothalamic obesity. *Experientia*, v. 26, n. 7, p. 789-790, 1970.
- CUPPARI, Lilian; **Nutrição clínica no adulto**. 4. ed. Barueri: Manole, cap 8., 2018.
- FENZL, A.; KIEFER, F. W. Brown adipose tissue and thermogenesis. **Hormone molecular biology and clinical investigation**, v. 19, n. 1, p. 25-37, 2014.
- GASPAR, R. C.; PAULI, J. R.; SHULMAN, G. I.; MUÑOZ, V. R. An update on brown adipose tissue biology: a discussion of recent findings. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 320, n. 3, p. E488-E495, 2021.
- HERNÁNDEZ-BAUTISTA, R. J.; ALARCÓN-AGUILAR, F. J.; ESCOBAR- VILLANUEVA, M. D. C.; ALMANZA-PÉREZ, J. C.; MERINO-AGUILAR, H.; KONIGSBERG FAINSTEIN, M.; LÓPEZ-DIAZGUERRERO, N. E. Biochemical alterations during the obese-aging process in female and male monosodium glutamate (MSG)-treated mice. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 7, p. 11473-11494, 2014.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos Editora, 1983.
- LIANG, J.; JIA, Y.; YAN, H.; SHEN, Q.; BIAN, W.; ZHAO, D.; ... YANG, M. Prdm16-Mediated Browning is Involved in Resistance to Diet-Induced and Monosodium Glutamate-Induced Obesity. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, p. 4351- 4360, 2021.
- LYSEN, K. L; ISRAEL A. D. Nutrição no controle de massa corporal. *In: MAHAN K. L; RAYMOND. L. J; Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2018. Cap. 21, p. 1462.
- MAITER, D.; UNDERWOOD, L. E.; MARTIN, J. B.; KOENIG, J. I. Neonatal treatment with monosodium glutamate: effects of prolonged growth hormone (GH)-releasing hormone deficiency on pulsatile GH secretion and growth in female rats. **Endocrinology**, v. 128, n. 2, p. 1100-1106, 1991.
- MARCELIN, G.; SILVEIRA, A. L. M.; MARTINS, L. B.; FERREIRA, A. V.; CLÉMENT, K. Deciphering the cellular interplays underlying obesity-induced adipose tissue fibrosis. **The Journal of clinical investigation**, v. 129, n. 10, p. 4032-4040, 2019.



- MARREIRO, D. N. Obesidade. In: COZZOLINO, S. M. P; COMINETTI, C. **Bases Bioquímicas e Fisiológicas da Nutrição: Nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. 1. ed. Barueri: Manole, 2013. Cap. 42, p. 914-915.
- MARTINELLI JR, C. E.; CUSTÓDIO, R. J.; AGUIAR-OLIVEIRA, M. H. Fisiologia do eixo GH-sistema IGF. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, p. 717-725, 2008.
- MURRAY, C. J.; ARAVKIN, A. Y.; ZHENG, P.; ABBAFATI, C.; ABBAS, K. M.; ABBASI-KANGEVARI, M.; ... BORZOU EI, S. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The lancet**, v. 396, n. 10258, p. 1223-1249, 2020.
- OLNEY, J. W. Brain Lesions, Obesity, and Other Disturbances in Mice Treated with Monosodium Glutamate. **Science**, v. 164, n. 3880, p. 719-721, mai. 1969.
- PAULA, D. G.; BOHLEN, T. M.; ZAMPIERI, T. T.; MANSANO, N. S.; VIEIRA, H. R.; GUSMAO, D. O.; ... FRAZAO, R. Distinct effects of growth hormone deficiency and disruption of hypothalamic kisspeptin system on reproduction of male mice. **Life Sciences**, v. 285, p. 119970, 2021.
- ROMERO, A. L. **Contribuição ao conhecimento químico do óleo-resina de copaiba: configuração absoluta de terpenos**. 2007. 204p. Tese (Doutorado em Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2007.
- ROSS, H. M; PAWLINA, W; BARNASH, A. T. **Atlas de histologia descritiva**. 1. ed. São Paulo: Artmed, 2012.
- SHIBATA, Y.; EGUCHI, J.; WADA, J. Brown Adipose Tissue PPAR γ Is Required for the Insulin-Sensitizing Action of Thiazolidinediones. **Acta Med Okayama**, v. 77, n. 3, p. 243-254, 2023.
- VIEIRA, A. P. B. M. **Efeitos da suplementação dos óleos de linhaça e castanha- do-Pará sobre parâmetros clínicos e laboratoriais de ratos com obesidade induzida por dieta de cafeteria**. 2011. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2011.
- WANG, L.; LIU, Y.; HU, F.; ZHOU, Z.; WANG, L.; LIU, Y.; ... ZHOU, Z. The potential mechanisms of white adipose tissue browning: a novel target for the treatment of obesity. **Nutrición Hospitalaria**, v. 39, n. 2, 2022.
- WOF. World Obesity Federation. **World Obesity Atlas 2023**. Disponível em: https://s3-eu-west-1.amazonaws.com/wof-files/World_Obesity_Atlas_2023_Report.pdf. Acesso em: 12 de maio de 2024.
- XU, Y.; YU, T.; MA, G.; ZHENG, L.; JIANG, X.; YANG, F.; ... CAO, L. Berberine modulates deacetylation of PPAR γ to promote adipose tissue remodeling and thermogenesis via AMPK/SIRT1 pathway. **International Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 12, p. 3173, 2021.

YAMAMOTO, T.; MATSUO, S.; UESHIMA, Y.; INOUE, F.; KINUGASA, A.; SAWADA, T. Plasma levels of insulin-like growth factor-I are reduced at one week of age in monosodium L-glutamate-treated mice. **Endocrine journal**, v. 40, n. 4, p. 461-465, 1993.

YIN, W.; GORE, A. C. The hypothalamic median eminence and its role in reproductive aging. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1204, n. 1, p. 113-122, 2010.

YOSHIOKA, K.; YOSHIDA, T.; KONDO, M. Reduced brown adipose tissue thermogenesis and metabolic rate in pre-obese mice treated with monosodium-L- glutamate. **Endocrinologia japonica**, v. 38, n. 1, p. 75-79, 1991.

YOUSSEF, D. A.; EL-FAYOUMI, H. M.; MAHMOUD, M. F. Beta-caryophyllene alleviates diet-induced neurobehavioral changes in rats: The role of CB2 and PPAR- γ receptors. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 110, p. 145-154, 2019.

ZHU, R.; WEI, J.; LIU, H.; LIU, C.; WANG, L.; CHEN, B.; ... & ZHANG, D. Lycopene attenuates body weight gain through induction of browning via regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ in high-fat diet-induced obese mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 78, p. 108335, 2020.