



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**



FACULTAD DE BIOLOGÍA

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

Opción: Biotecnología Alimentaria

**EFECTO GASTROPROTECTOR,
HEPATOPROTECTOR Y ANTIINFLAMATORIO
DE *Callistemon citrinus* EN RATAS BAJO UNA
DIETA RICA EN GRASA Y AZÚCAR**

Tesis

PRESENTA

Biól. Jonathan Saúl Piñón Simental

Como requisito para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias Biológicas

Asesora de tesis:

Dra. Patricia Ríos Chávez

Morelia, Michoacán, marzo 2023



**EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL
LABORATORIO DE FITOBIOQUÍMICA (B4) DE LA
FACULTAD DE BIOLOGÍA (U.M.S.N.H) BAJO LA
DIRECCIÓN DE LA D.C. PATRICIA RÍOS CHÁVEZ**



Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo de la beca brindada durante la realización de mi proyecto de maestría.

Doy gracias a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y a la Facultad de Biología por darme la oportunidad de desarrollarme académicamente, en el ámbito profesional y para la obtención del grado de maestro en ciencias dentro del programa institucional de posgrados de calidad.

Agradezco a la Doctora Patricia Ríos Chávez por ser mi asesora de tesis, por su apoyo a lo largo de este camino y por motivarme a seguir creciendo en el ámbito de la investigación y como profesionista, además le doy gracias por abrir las puertas de su laboratorio y darme la oportunidad para el desarrollo del presente trabajo.

Agradezco a mis sinodales Dra. Esperanza Meléndez Herrera, Dra. Martha Estrella García Pérez, Dr. Asdrúbal Aguilera Méndez y al Dr. Daniel Godínez Hernández, quienes me apoyaron durante esta trayectoria con sus observaciones, en el desarrollo de la metodología del presente proyecto y por su valioso conocimiento.

Doy las gracias a mis padres, hermanos y a mi familia por todo su apoyo a lo largo de mi vida, ya que son una parte fundamental en mi camino y gracias a su compañía he podido lograr y alcanzar lo que me propongo, así mismo, me motivan a seguir siempre hacia adelante.

Agradezco a Leticia Núñez Landa por su compañía y motivación, por su presencia en mi vida ya que me motiva a ser mejor cada día.

Por último y no menos importante, agradezco a mis compañeros y amigos de laboratorio por el apoyo que me ayudó a seguir adelante en nuestros proyectos de investigación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	28
1.1. Tejido adiposo, estrés oxidante y la inflamación	28
1.2.1.1 Leptina	30
1.2.1.2 Adiponectina	31
1.2.1.3 Factor de necrosis tumoral alfa	32
1.2.1.4 Interleucina 6	33
1.2.2 Inflamación y su relación con el estrés oxidante	34
1.2.2.1 Ciclooxygenasas	36
1.2.2.2 Lipoxigenasas	37
1.2.2.3 Mieloperoxidasa	38
1.2.2.4 Productos avanzados de la oxidación de proteínas	39
1.2. Antiinflamatorios no esteroideos y sus efectos negativos en el organismo	39
1.3. Actividad farmacológica de los metabolitos secundarios de las plantas	41
1.4. <i>Callistemon citrinus</i>	42
1.5.1. Antecedentes directos	43
2. JUSTIFICACIÓN	44
3. HIPÓTESIS	45
4. OBJETIVOS	45
4.1. Objetivo General	45
4.2. Objetivos Específicos	45
5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	46
6. RESULTADOS	47
6.1. Capítulo 1: Efecto gastroprotector y antiinflamatorio de <i>Callistemon citrinus</i> en ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y azúcar	47
Resumen	47

Abstract	48
Introducción	49
Materiales y métodos	51
Resultados	57
Discusión	67
Conclusión.....	77
Literatura citada.....	78
6.2. Capítulo 2: Efecto hepatoprotector y antiinflamatorio de <i>Callistemon citrinus</i> en un modelo de inducción de úlceras gástricas en ratas obesas.....	90
Resumen	90
Abstract	91
Introducción.....	92
Materiales y métodos	95
Resultados	95
Discusión.....	102
Conclusión.....	110
Literatura citada.....	110
7. CONCLUSIÓN GENERAL Y PERSPECTIVAS	121
8. LITERATURA CITADA	122
9. ANEXOS	135

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de procesos inflamatorios relacionados con la obesidad.....	30
Figura 2. Árbol de <i>Callistemon citrinus</i>	42
Figura 3. Estrategia experimental utilizada en el presente trabajo.....	46
Figura 4. Ganancia de peso final de los grupos alimentados durante 15 semanas con una dieta alta en grasa y azúcar y el extracto de <i>C. citrinus</i>	58
Figura 5. Lesiones macroscópicas en los diferentes grupos experimentales (a) Control; (b) HFSD + IND; (c) Indometacina (Ind); (d) HFSD + <i>C. citrinus</i> + Ind; (e) <i>C. citrinus</i> + Ind; (f) Omeprazol + Ind.....	62
Figura 6. Efecto de <i>Callistemon citrinus</i> sobre las lesiones histopatológicas gástricas generadas por la indometacina (IND) en ratas con una dieta alta en grasas (HFSD)....	63
Figura 7. Actividad enzimática de la mieloperoxidasa de los grupos experimentales administrados con indometacina y el extracto de <i>C. citrinus</i> en estómago.....	64
Figura 8. Efecto de la indometacina y el extracto de <i>C. citrinus</i> sobre la actividad enzimática de la ciclooxigenasa 1 y 2 en estómago.....	65
Figura 9. . Efecto de la indometacina y el extracto de <i>C. citrinus</i> sobre la actividad enzimática de la 5-lipoxigenasa en estómago.....	66
Figura 10. Efecto de <i>Callistemon citrinus</i> sobre las modificaciones histopatológicas generadas en el hígado de ratas con una dieta alta en grasas (HFSD) y administradas con indometacina (IND).....	97
Figura 11. Actividad enzimática de la mieloperoxidasa en hígado.....	98
Figura 12. Actividad enzimática de la ciclooxigenasa 1 y 2 en hígado.....	99
Figura 13. Actividad enzimática de la 5-lipoxigenasa en hígado.....	100

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Puntaje histopatológico determinado en los cortes histológicos en el estómago de ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar y administradas con indometacina.....	57
Tabla 2. Efecto de <i>Callistemon citrinus</i> sobre los parámetros morfológicos en las ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar.....	59
Tabla 3. Efecto de <i>Callistemon citrinus</i> sobre los parámetros bioquímicos determinados en suero de las ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar.....	60
Tabla 4. Tasa de ulceración en la mucosa gástrica y porcentaje de inhibición de lesiones en el estómago de ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar y administradas con indometacina.....	61
Tabla 5. Biomarcadores de la inflamación en el estómago de ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y azúcar y administradas con indometacina.....	67
Tabla 6. Biomarcadores de la inflamación en el hígado de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar y administradas con indometacina.....	101

RESUMEN

Antecedentes: La obesidad es uno de los problemas de salud que acontecen a nivel mundial. Esta enfermedad se reconoce como un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones del sistema digestivo y junto con el consumo inadecuado de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), favorecen el desarrollo de patologías como el cáncer gástrico, diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, el hígado graso no alcohólico, etc. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto gastroprotector, hepatoprotector y antiinflamatorio de un extracto de *Callistemon citrinus* en ratas obesas en un modelo de inducción de úlceras por indometacina.

Métodos: Se recolectaron hojas de *C. citrinus* para la elaboración del extracto, el que fue administrado en el modelo experimental, en 6 grupos (n=5) de ratas de la cepa Wistar mantenidas en condiciones estándar durante 15 semanas. Los animales fueron alimentados con dieta normal para roedor (control), una dieta rica en grasa y azúcar (HFSD) y un grupo HFSD con la administración diaria del extracto de *C. citrinus* (250 mg/kg p.o). Al término de la inducción de la obesidad se añadieron tres grupos más, uno administrado a dosis única del extracto de *C. citrinus* (250 mg/kg p.o), otro grupo con omeprazol (30 mg/kg p.o) y un grupo tratado con indometacina (IND). Todos los grupos al finalizar la decimoquinta semana se mantuvieron en ayuno de 24 h con acceso a agua, posteriormente se les administró una dosis de IND (30 mg/kg p.o) pasadas 4 h se llevó a cabo la eutanasia. Se determinó el efecto del extracto sobre el peso y sobre el perfil bioquímico de las ratas; así como la actividad gastroprotectora y hepatoprotectora a nivel macroscópico mediante el índice de úlceras y el porcentaje de inhibición de úlceras en el estómago. Además, se realizó un análisis microscópico mediante cortes histológicos. El impacto de los tratamientos sobre la actividad antiinflamatoria de las enzimas mieloperoxidasa (MPO), ciclooxigenasa 1 y 2 (COX-1/2), lipoxigenasa (5-LOX) y sobre los biomarcadores inflamatorios productos avanzados de la oxidación de proteínas (AOPP), adiponectina, leptina, malondialdehído y 4-hidroxinonenal (MDA/4-4-HNE), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 6 (IL-6) fue posteriormente determinado.

Resultados: El extracto etanólico de hojas de *Callistemon citrinus* presentó una actividad reductora sobre la ganancia de masa corporal, en el perfil bioquímico, la actividad de las enzimas y biomarcadores involucrados durante un proceso oxidante-inflamatorio en el hígado y estómago en ratas ocasionado por la ingesta de una dieta alta en grasa y sacarosa en un modelo de inducción de úlceras gástricas por indometacina.

Conclusión: El efecto gastroprotector y hepatoprotector del extracto de *Callistemon citrinus* observado en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y sacarosa administradas con indometacina, sugiere su potencial como una alternativa complementaria y alternativa (CAM) capaz de disminuir los efectos adversos de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos durante la obesidad.

Palabras clave: Gastroprotector, obesidad, *Callistemon citrinus*, hepatoprotector, antiinflamatorios no esteroideos.

ABSTRACT

Background: Obesity is one of the health problems occurring worldwide, being recognized as a risk factor in complications of the digestive system and together with inadequate consumption of anti-inflammatory drugs steroids (NSAIDs), promote the development of pathologies such as gastric cancer, type 2 diabetes mellitus, cardiovascular diseases, nonalcoholic fatty liver, etc. The aim of this study was to evaluate the gastroprotective, hepatoprotective and anti-inflammatory effects of a *Callistemon citrinus* leaf extract in obese rats in an indomethacin ulcer induction model.

Methods: *C. citrinus* leaves was used in the experimental model. 30 Female Wistar rats were randomly into 6 groups (n=5) of rats of the Wistar. They were fed normal rodent diet (control), a group fed a diet rich in fat and sugar (HFSD) and an HFSD group plus daily administration of *C. citrinus* extract (250 mg/kg p.o). At the end of fifteen weeks, three more groups were included, one administered at a single dose of the extract of *C. citrinus* (250 mg/kg p.o), another group with omeprazole (30 mg/kg p.o) and a group treated with indomethacin (IND). All groups at the end of the fifteenth week were kept in fasting of 24 h with access to water, then administered a dose of IND (30 mg/kg p.o) after 4 h was performed euthanasia. Morphometrical and biochemical parameters were measured, also a histological analysis was performed. Finally, anti-inflammatory activity of myeloperoxidase (MPO), cyclooxygenase 1 and 2 (COX-1/2), lipoxigenase (5-LOX) and inflammatory biomarkers as: advanced protein oxidation products (AOPP), adiponectin, leptin, malondialdehyde and 4-hydroxynonenal (MDA/4-4-HNE), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6) were measured.

Results: *Callistemon citrinus* leaf extract presented a reducing activity on body mass gain, in the biochemical profile, as well as the decreased activity of the enzymes and biomarkers involved during an oxidizing process inflammatory in the liver and stomach in rats produced by the intake of high-fat-sucrose in a model of indomethacin gastric ulcers in rats.

Conclusion: The gastroprotective and hepatoprotective effect of *Callistemon citrinus* extract in rats fed with high-fat-sucrose diet and one dose of indomethacin, suggests its potential as a complementary alternative medicine (CAM) able to reduce the adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs in obesity.

Key words: Gastroprotector, obesity, *Callistemon citrinus*, hepatoprotective, non-steroidal anti-inflammatory.

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es considerada como una enfermedad multifactorial, ya que son varios los aspectos que promueven el desarrollo y establecimiento de esta enfermedad. La Organización mundial de la salud define como obesidad a la acumulación excesiva de grasa que perjudica el estado normal de salud y que directamente se relaciona con un Índice de masa corporal mayor o igual a 30 Kg/m² (OMS, 2023).

La acumulación excesiva de tejido adiposo en los tejidos y órganos está directamente relacionada con el desarrollo de complicaciones que agravan el estado de salud, por lo tanto, disminuyen la calidad de vida de las personas con obesidad. Se conoce que la obesidad (Ilich *et al.*, 2014; Blüher, 2019) y el uso inadecuado de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) favorecen un estadio inflamatorio en el organismo (Li *et al.*, 2012). Lo que permite reconocerlos como factores de riesgo que favorecen el desarrollo de afectaciones a nivel del tracto gastrointestinal (Kim *et al.*, 2017; Ruiz-Hurtado *et al.*, 2021), promueven el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (Longo *et al.*, 2019), generan afectaciones funcionales en el hígado (Bindu *et al.*, 2020), enfermedades cardiovasculares (Ghosh *et al.*, 2015), osteoartritis y algunos tipos de cáncer como el gástrico (Boylan *et al.*, 2014). Además, se conoce que inducen la pérdida del funcionamiento normal de las células, así como daños a nivel sistémico debido a esto incrementan el riesgo de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Hofbauer *et al.*, 2007; Sverdén *et al.*, 2019).

1.1. Tejido adiposo, estrés oxidante y la inflamación

El tejido adiposo posee diversas funciones entre las que se encuentran la capacidad de almacenar triacilglicéridos y su movilización. Además de poseer actividad endocrina, la cual regula la producción y secreción de diversos componentes, que permiten el funcionamiento adecuado en el organismo, así como la regulación del metabolismo y del balance energético (Henry *et al.*, 2012; Choe *et al.*, 2016). Durante la obesidad aumenta la deposición del tejido adiposo en el organismo, lo que conlleva al establecimiento de un proceso oxidante-inflamatorio (Federico *et al.*, 2007), lipotoxicidad que repercuten en la alteración de la homeostasis de la glucosa, pérdida de la funcionalidad de la mitocondria, hiperinsulinemia y estrés oxidante celular (Chait y den Hartigh, 2020; Longo *et al.*, 2019). El tejido adiposo es un tipo

especializado del tejido conectivo conformado principalmente por células llamadas “adipocitos”, células endoteliales, preadipocitos, fibroblastos, células del músculo liso y diversos tipos de células inmunológicas (Jankovic *et al.*, 2015). Por lo tanto, en el organismo existen diversos tipos de tejido adiposo, de tal manera, son clasificados en: tejido adiposo blanco (WAT) el cual se encuentra en mayor cantidad y almacena gran parte de los triacilglicéridos provenientes de la dieta (Shoelson *et al.*, 2007; Koppen y Kakhoven, 2010; Saely *et al.*, 2012), tejido adiposo marrón involucrado en el proceso de la termogénesis (BAT) (Frühbeck *et al.*, 2009; Saely *et al.*, 2012; Giralt y Villarroya, 2013; Kahn *et al.*, 2019) y tejido adiposo beige (BeAT), que bajo ciertas condiciones puede formar parte del tejido adiposo blanco o marrón según los requerimientos homeostáticos del organismo (Jankovic *et al.*, 2015). Debido a la capacidad secretora que posee el tejido adiposo es posible atribuirle actividades sistémicas, ya que libera una gran cantidad de moléculas, entre ellas las adipocinas (quimiocinas, citocinas, hormonas, etc.) entre ellas la leptina (Chait y den Hartigh, 2020), factores de crecimiento, moléculas quimiotácticas, enzimas, además de factores proinflamatorios como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Así mismo, libera a la adiponectina y al TNF-B cuya actividad antiinflamatoria ha sido reportada (Henry *et al.*, 2012; Choe *et al.*, 2016). Se conoce que el consumo excesivo de alimentos con alto contenido de grasas y carbohidratos (HFSD) promueve un exceso de acumulación de grasa y con ello una funcionalidad anormal del sistema inmunológico. Se conoce que la expansión del tejido adiposo blanco visceral, activa la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS, respectivamente), ocasionando un estrés oxidante celular que coadyuva la liberación de adipocinas y citocinas proinflamatorias en diferentes órganos durante la obesidad y el desarrollo de la resistencia a la insulina como se observa en la figura 1 (Ham *et al.*, 2013).

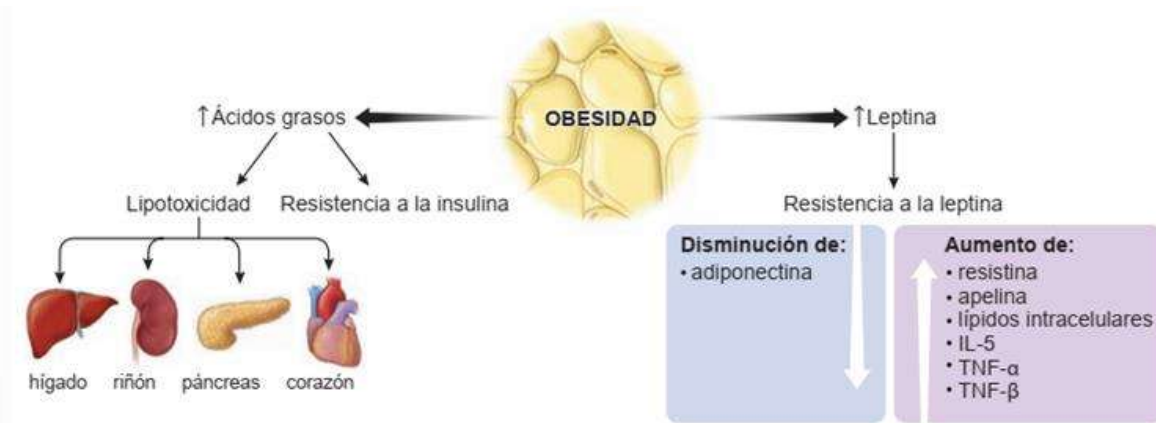


Figura 1. Representación de procesos inflamatorios relacionados con la obesidad (Vázquez-Vela *et al.*, 2008).

1.2.1.1 Leptina

La leptina es una adipocina que se encarga principalmente de reducir la ingesta de alimentos, el peso y la deposición de grasa, así como el incremento en el gasto energético en mamíferos, es producida mayoritariamente en el tejido adiposo blanco; sin embargo, se sintetiza también en la placenta, en la mucosa fúndica gástrica y en el músculo esquelético (Ahima y Flier, 2000; Lafontan y Girard, 2008). En el estómago es producida por las células principales, además se sabe que el tipo de dieta puede favorecer la liberación gástrica de la leptina (Sáinz *et al.*, 2014). Se le ha reconocido al gen que la produce como (gen de la obesidad *ob gen*) (Coelho *et al.*, 2011). Actúa a nivel del hipotálamo para reducir el apetito y estimular la saciedad. Durante la obesidad los niveles de leptina se encuentran elevados en el organismo de roedores y humanos, debido al aumento en la deposición de tejido adiposo y junto con el aumento del tamaño de los adipocitos se favorece la hiperleptinemia que resulta principalmente de la resistencia a la leptina para unirse a su receptor (LEPR-B) en el cerebro (Myers *et al.*, 2010).

Esto conlleva a la generación de diversas modificaciones homeostáticas entre las que se encuentran la inhibición de la actividad del hipotálamo para controlar el apetito, la reducción de la termogénesis en el tejido adiposo y la disminución en la oxidación de los ácidos grasos (Munzberg *et al.*, 2004). Además, genera un proceso de estrés oxidante celular, una disminución de la actividad antioxidante y bajo una condición inflamatoria en presencia de algunas citocinas como el (TNF- α , IL-6, IL-1) favorecen el incremento en los niveles de la leptina y viceversa (Manna y Jain, 2015; Sirico *et al.*, 2018). Se conoce que la leptina es un regulador importante en la

respuesta inmunológica, promueve un estado de inflamación debido a que induce la activación y proliferación de linfocitos T con ello favorece el estado proinflamatorio en el organismo (Saucillo *et al.*, 2014; Engin, 2017).

1.2.1.2 Adiponectina

La adiponectina es una adipocina liberada únicamente por los adipocitos (Dulloo *et al.*, 2010; Sirico *et al.*, 2018), sin embargo, se ha identificado recientemente su expresión en el estómago de ratones (Kentish *et al.*, 2015; Idrizaj *et al.*, 2018), presenta dos receptores que permiten su actividad biológica (AdipoR1 y AdipoR2) (Kadowaki y Yamuchi, 2005; Yadav *et al.*, 2013). Posee principalmente actividad antiinflamatoria, favorece la sensibilidad y disminución del desarrollo de la resistencia a la insulina (Yamauchi *et al.*, 2014), reduce los daños ocasionados durante el hígado graso no alcohólico (NAFLD en inglés), la aterosclerosis (Henry *et al.*, 2012). Además, promueve la pérdida de peso mediante el aumento de la oxidación de los ácidos grasos (Ronti *et al.*, 2006), reduce la gluconeogénesis, mejora la glucólisis en el hígado (Stern *et al.*, 2016; Khoramipour *et al.*, 2021) y tiene actividad antioxidante (Tiaka *et al.*, 2011). Así mismo, se le atribuyen actividad antiaterogénica, pro-apoptótica en modelos de cáncer en líneas celulares de estómago (Tiaka *et al.*, 2011).

Se ha demostrado que el mal funcionamiento de los adipocitos genera la disminución de la expresión y liberación de la adiponectina durante la obesidad, enfermedad que se asocia con el estrés oxidante mitocondrial y del retículo endoplásmico. Así mismo, en un estado inflamatorio se promueve la infiltración de células inmunológicas y junto con la liberación de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6, IL-18, leptina), favorecen la inflamación crónica en el organismo (Wang y Dubois, 2012; Parida *et al.*, 2019). En diversos estudios se han demostrado los efectos benéficos de la adiponectina durante un estado inflamatorio en modelos murinos y humanos, ya que promueve la reducción de los daños ocasionados durante la diabetes mellitus tipo 2, el NAFLD y en enfermedades cardiovasculares (Ouchi *et al.*, 2011). Reduciendo la producción del TNF- α , IL-6, en los niveles de la proteína C reactiva (biomarcador de un estadio agudo de inflamación), actúa sobre los macrófagos suprimiendo la polarización del estado M1 y regulando los niveles

de la proteína quimioatrayente de monocitos 1, así mismo, aumenta los niveles de la IL-10 cuya actividad principal es la antiinflamatoria (Fang y Judd, 2018; Choi *et al.* 2020).

1.2.1.3 Factor de necrosis tumoral alfa

El TNF- α es una citocina secretada por el tejido adiposo y por células del sistema inmunológico (monocitos, linfocitos, macrófagos), juega un papel importante en diversas funciones fisiológicas en los mamíferos: regula el ritmo circadiano, la temperatura corporal, el sueño y el apetito (Strieter *et al.*, 1993). Así mismo, está involucrado en la sobrevivencia, proliferación, cambios morfogenéticos y en la apoptosis de las células de manera normal manteniendo la homeostasis del organismo (Brenner *et al.*, 2015; Ruder *et al.*, 2019). Sin embargo, en condiciones anormales y patológicas como en las infecciones, daño o lesión generada por el consumo de AINEs y alcohol de manera inadecuada o en el desarrollo de tumores se favorece la expresión y liberación del TNF- α , jugando un papel importante en el desarrollo de las afectaciones a nivel gástrico, ya que inicia la respuesta de la fase aguda inflamatoria junto con la infiltración de células del sistema inmunológico (Almasaudi *et al.*, 2016; Aziz *et al.*, 2019; Souders *et al.*, 2022). Así mismo bajo condiciones que involucran la expansión del tejido adiposo favorece el desarrollo y complicaciones de la resistencia a la insulina (Lumeng y Saltiel, 2011; Ouchi *et al.*, 2011).

En humanos la expresión del TNF- α en el tejido adiposo se asocia con el IMC alto, el porcentaje de grasa corporal y la hiperinsulinemia, se conoce que la disminución de peso corporal reduce los niveles de esta citocina (Gomez-Delgado *et al.*, 2014). Es una citocina de gran interés en los mamíferos ya que la hipertrofia generada durante la obesidad favorece el aumento de las citocinas proinflamatorias en el organismo, entre ellas la IL-6; así mismo, la hiperleptinemia de forma indirecta favorece un estado proinflamatorio (Emílio-Silva *et al.*, 2020). En conjunto promueven e incrementan la producción de diferentes especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno como el (anión superóxido $O_2^{\cdot-}$, peroxinitrito $ONOO^{\cdot-}$) a partir del aumento de la actividad de la NADPH oxidasa mitocondrial (Shen y Pervaiz, 2006; Wang *et al.*, 2009; Blaser *et al.*, 2016; Dlodla *et al.*, 2018). Cabe destacar que

el TNF- α posee dos receptores (TNF-R1 y TNF-R2) que permiten su función en el organismo. Se conoce que, cuando se une al receptor 1 favorece la generación de daños hacia la mucosa gástrica, así mismo, promueve la infiltración de neutrófilos en ratones administrados con indometacina un AINE inhibidor de las isoformas de la ciclooxigenasa (Souza *et al.*, 2004).

1.2.1.4 Interleucina 6

La interleucina 6 (IL-6) es una citocina liberada por el tejido adiposo blanco, por macrófagos activados y por monocitos, es de gran importancia ya que tiene una actividad doble, bajo condiciones normales actúa como una citocina de defensa ya que promueve la producción y liberación de las proteínas de la fase inflamatoria aguda (como la proteína C reactiva y la amiloide A sérica) de los hepatocitos, cuya función es la inducción de una respuesta inmunológica y la señalización celular durante la inflamación (Cronstein, 2007; Choy y Rose-John, 2017). Mientras que, durante la inflamación crónica asociada a la obesidad, el incremento excesivo de los niveles de la IL-6, induce una respuesta inmunológica más fuerte y prolongada mediante el reclutamiento de monocitos, la diferenciación y activación de los linfocitos T, B, de los macrófagos, de la MCP-1 y otras citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina 1 (Gabay, 2006; Henry *et al.*, 2012). Así mismo, esta involucrada en la resistencia a la insulina hepática (Ouchi *et al.*, 2011), ya que favorece una condición inflamatoria que daña la producción y función de la insulina en las células β del páncreas y de la leptina, lo que conlleva al desequilibrio homeostático de la glucosa (Chait y den Hartigh, 2020).

Cabe destacar que el uso inadecuado de los AINEs y del alcohol son factores predisponentes al daño hepático y gastrointestinal principalmente, en ese sentido, la indometacina (un AINE) en modelos murinos favorece el aumento excesivo de la producción de la interleucina 6 y del TNF- α , así como la disminución de la IL-10 (Hatware *et al.*, 2018). Además, promueve la generación de estrés oxidante celular mediante el aumento en la producción de ROS y RNS y la disminución de la actividad antioxidante en diferentes órganos (Chen *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016; Katary y Salahuddin, 2017; Eraslan *et al.*, 2020).

1.2.2 Inflamación y su relación con el estrés oxidante

La inflamación es un proceso fisiológico que involucra (un daño, la reparación y la resolución) en el organismo en respuesta a un estímulo que puede ser (físico, químico y biológico), los cuales favorecen la migración de células inmunológicas, la liberación de citocinas y factores de coagulación para eliminar y reparar el daño en el organismo (Monteiro y Azevedo, 2010; Maturana y Gritsenko, 2019). Esta condición se caracteriza por el aumento en la vasodilatación, en la permeabilidad vascular, el aumento de migración de las células inmunológicas entre ellos los neutrófilos, macrófagos, linfocitos, entre otras, la producción y liberación de adipocinas y citocinas (Fernández-Sánchez *et al.*, 2011). Se conoce que, de acuerdo con el tiempo de duración del proceso inflamatorio puede clasificarse en dos clases, inflamación aguda que actúa en condiciones de infección en el organismo y crónica cuando el fenómeno que activa la respuesta es constante y llega a dañar a los tejidos (Ellulu *et al.*, 2015; Waluga *et al.*, 2015; Pahwa *et al.*, 2020).

Un estado constante de inflamación en el organismo conlleva al incremento en la generación de ROS y RNS que favorecen la lipoperoxidación (LPO) y la generación de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (AOPP), por otro lado, da lugar al incremento de la actividad de enzimas como la mieloperoxidasa, xantina oxidasa, ciclooxigenasas y lipoxigenasas (Federico *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2014; Hussain *et al.*, 2016; Oishi y Manabe, 2018; Oguntibeju, 2019). A nivel mundial, es de gran interés conocer que las enfermedades reconocidas como crónico-inflamatorias entre ellas, la obesidad, la diabetes, las alergias, las cardiovasculares, las neurodegenerativas, la artritis reumatoide, alergias articulares y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, entre otras, son estadios que mantienen en continuo estado inflamatorio al organismo (Mazzoli *et al.*, 2019). Además, dicha condición inflamatoria se ve favorecida e incrementada por el consumo de fármacos que repercuten sobre el daño hepático y gastrointestinal (Burukoglu *et al.*, 2014; Waluga *et al.*, 2015). Debido a esta desregulación homeostática es posible ligar al estrés oxidante y la inflamación (Bulua *et al.*, 2011; Battino *et al.*, 2021).

La ingesta de ácidos grasos insaturados de las series omega 3, 6 y 9 actúan como intermediarios que son importantes para la mediación del proceso inflamatorio, en la señalización celular, expresión de genes, en el metabolismo de lípidos y en el desarrollo de enfermedades metabólicas del organismo (Johnson y Bradford, 2014; Dasilva y Medina, 2019). Lo que permite reconocer que, durante la obesidad generada por la ingesta alta de almidones y azúcares refinados, de diferentes tipos de grasas (trans, saturadas, insaturadas) y principalmente de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) de las series omega 6 y 9 que derivan del ácido linoleico y oleico respectivamente; dan lugar al aumento en la deposición del tejido adiposo, indirectamente generan el aumento de ROS, aumentan la producción de mediadores, entre ellos los eicosanoides (prostaglandinas de la serie 2 y leucotrienos de la serie 4) que favorecen el estado proinflamatorio (Ruiz-Núñez *et al.*, 2013; Johnson y Bradford, 2014). Aunado a una ingesta baja de PUFAs de la serie 3 generados a partir del ácido α -linolénico, como el ácido docosahexaenoico (DHA) y eicosapentanoico (EPA), generan una disminución de los diferentes mediadores involucrados en la resolución del proceso inflamatorio entre ellos, las prostaglandinas y leucotrienos (de la serie 3 y 5, respectivamente), de las lipoxinas, epóxidos, resolvinas, protectinas y maresinas (Krishnamoorthy y Honn, 2006; Johnson y Bradford, 2014; Dasilva y Medina, 2019).

El ácido araquidónico (AA, 20:4) es un ácido graso omega 6 que proviene de los alimentos ingeridos, puede generarse a partir de los fosfolípidos de la membrana celular, además puede formarse a partir de la elongación del ácido linoleico (LA, 18:2n-6) (Hanna y Aziz Hafez, 2018). Cabe destacar que la expresión y activación de la fosfolipasa A₂ (PLA₂) que promueve la liberación en un solo paso de AA, depende del acomplamiento de los receptores toll 4 (TLR₄), de receptores purinérgicos y de estímulos inflamatorios (Dennis y Norris, 2015). Por lo que, dichos procesos favorecen que el AA libre se difunda hacia otras células, se reincorpore nuevamente en los fosfolípidos o que se metabolice, así mismo, se localiza en la mayoría de las células y se almacena en vacuolas lipídicas en diferentes células inmunológicas como los macrófagos, a la vez, es abundante en músculo esquelético, cerebro, hígado, pulmones, entre otros (Hanna y Aziz Hafez, 2018). El

metabolismo del AA se produce a través de 4 reacciones enzimáticas principalmente: 1) Ciclooxygenasas; 2) Lipoxigenasas; 3) Citocromo P₄₅₀ y 4) rutas de la anandamida (Hanna y Aziz Hafez, 2018). Por otro lado, el AA y el ácido linoleico son susceptibles al ataque de las ROS y RNS que dan lugar a la autooxidación de ambos ácidos favoreciendo la generación del proceso de lipoperoxidación produciendo el aumento de los niveles del 4-4-HNE y MDA (Burnett y Levy, 2012; Morrow *et al.*, 1990).

1.2.2.1 Ciclooxygenasas

Las isoformas de las ciclooxygenasas (COX) llamadas también prostaglandinas G/H sintasas son enzimas cuya función principal es llevar a cabo la oxidación del ácido araquidónico para formar intermediarios inestables (PGG₂ y PGH₂). Los cuales en función a las sintasas e isomerasas selectivas en cada célula y tejido subsecuente toman como sustrato al PGH₂ y generan diversos “prostanoides” como las prostaglandinas (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}), la prostaciclina (PGI₂) y al tromboxano (TXA₂) (Bhattacharyya *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2021). Cabe destacar que la producción de los respectivos prostanoides dependen de la expresión diferencial de las enzimas, destacando que durante la inflamación se inducen modificaciones en la expresión, así como la respectiva unión a su receptor correspondiente para inducir la bioactividad de los prostanoides (Hanna y Aziz Hafez, 2018; Zhong *et al.*, 2019).

Existen dos isoformas de las ciclooxygenasas, la isoforma (COX-1) se expresa constitutivamente a menudo en la mayoría de las células, favoreciendo la activación de la inflamación aguda a una corta exposición con lipopolisacárido (LPS) y suprime la síntesis de leucotrienos (Naraba *et al.*, 1998). Por otro lado, la isoforma (COX-2) es inducible bajo un estado de inflamación y aumenta en función a estímulos como a endotoxinas, citocinas, hormonas y factores de crecimiento después de 3 a 24 h del estímulo (Brock *et al.*, 1999; García-LaFuente *et al.*, 2009). A la COX-1 se le atribuyen efectos benéficos en el tracto gastrointestinal, ya que mantienen la integridad de la mucosa gástrica, debido a la síntesis de la prostaglandina PGE₂ y la prostaciclina PGI₂ (Williams *et al.*, 2000; Bindu *et al.* 2020). Una modificación sobre la expresión de las isoformas favorece afectaciones importantes sobre el tracto

gastrointestinal (Vane, 1996; Vane *et al.*, 1998). Se sabe que el incremento en los niveles de COX-2 promueve la disminución de citocinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10, IL-13, etc., (Bakhle y Botting, 1996) y activa a diferentes factores de crecimiento y de citocinas proinflamatorias (Hatazawa *et al.*, 2006). Se conoce que el 4-4-HNE un producto de la lipoperoxidación (LPO), activa la expresión de la COX-2 promoviendo un estado proinflamatorio (McGarry *et al.*, 2018), durante la inflamación dicha enzima es secretada por los macrófagos M₁, además, se asocia con la activación del factor nuclear Kappa B (NF-κB) (Wlodarczyk y Nowicka, 2019) factor involucrado durante la inflamación y el desarrollo de cáncer en diferentes órganos (Gambhir *et al.*, 2015).

1.2.2.2 Lipoxigenasas

Las lipoxigenasas (LOX) son una familia de enzimas que catalizan la dioxigenación del ácido araquidónico en los diferentes carbonos dentro del AA (5, 8, 12, 15-lipoxigenasas) (Iranshahi *et al.*, 2009). Manteniendo la síntesis de mediadores cuya actividad es la quimioatrayente, modifican la vascularidad, el balance de fluidos, la inmunidad y las respuestas al dolor, además forman parte de la cascada inflamatoria en el organismo (Burnett y Levy, 2012). La 5-LOX en dicha ruta es la más estudiada debido a su importancia dentro de un proceso inflamatorio, se conoce que requiere de la participación de la proteína activadora de la 5-LOX (FLAP en inglés) para que lleve a cabo su actividad (Wang *et al.*, 2021). Lo que deriva en la formación del ácido hidroperoxieicosatetraénoico (5, 8, 12, 15-HPETE_s), un intermediario originado a partir de las lipoxigenasas, dicho subproducto se convertirá en el precursor llamado (LTA₄) por actividad de la leucotrieno sintasa dando lugar finalmente a la síntesis de los leucotrienos (LTB₄, LTC₄, LTD₄ y LTE₄) (Hanna y Aziz Hafez). Por otro lado, el ácido HPETE, puede reducirse por actividad de las peroxidasa para formar ácidos monohidroxieicosatetraénoicos (HETE_s) los cuales dan lugar a la síntesis de lipoxinas y hepoxilinas con actividad antiinflamatoria (Wang *et al.*, 2021). Se conoce que el aumento de la actividad de la 5-LOX se asocia con la generación de leucotrienos que favorecen un estado proinflamatorio en monocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos y macrófagos, cuyas células liberan enzimas degradadoras y citocinas e inducen el dolor, además, se producen diferentes ROS vía lipoxigenasa a partir del AA (Cho *et al.*, 2011; Burnett y Levy, 2012; Bhattacharyya *et al.*, 2014).

Así mismo, el LTB₄ actúa como un potente quimioatrayente de diferentes células inmunológicas, destacando que al bloquear a la (COX-2) la vía de la LOX sigue produciendo potentes mediadores de la inflamación (García-LaFuente *et al.*, 2009). Muchos de los productos generados vía 5-LOX se asocian con el desarrollo y complicación de enfermedades cardiovasculares, problemas gastrointestinales como el cáncer gástrico que se favorece con la presencia de *Helicobacter pylori* (García-LaFuente *et al.*, 2009; Wisastra y Dekker, 2014).

1.2.2.3 Mieloperoxidasa

La mieloperoxidasa (MPO) pertenece a una subfamilia de peroxidasas, es una enzima cuya función principal es la de defensa antibacterial en condiciones normales (Sladoje *et al.*, 2017), mientras que durante el estrés oxidante y en la inflamación generada durante la obesidad y en otras patologías, produce compuestos altamente reactivos que promueven el mal funcionamiento celular (Khan *et al.*, 2018). La MPO está relacionada con la activación y reclutamiento de células inmunológicas (neutrófilos, linfocitos, monocitos y macrófagos), durante el proceso inflamatorio incrementan su actividad, utiliza al H₂O₂ y al anión cloro (Cl⁻) para formar el HOCl (ácido hipocloroso) y al reaccionar con diversas RNS puede formar cloruro de nitrilo NO₂Cl que se caracteriza por ser altamente reactivo (Bhattacharyya *et al.*, 2014; Gil-Cardoso *et al.*, 2017).

Un aumento de la actividad de la MPO se relaciona con la producción de la ditirosina y de aldehídos provenientes de la LPO que en conjunto promueven la generación de daño a las proteínas celulares, ocasionadas durante el estrés oxidante y la inflamación (Dhiman *et al.*, 2009). Debido a que los neutrófilos expresan en gran cantidad a la MPO, es posible utilizar a esta enzima como un marcador de neutrófilos en el organismo (Rensen *et al.*, 2009). Esto conlleva al incremento de la secreción de adipocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6, IL-8, etc.) (Vedova *et al.*, 2019). Un incremento en la actividad de esta enzima se ha asociado a diversas patologías, entre ellas, las ocasionadas por la obesidad (resistencia a la insulina, hipertensión y fallos en el corazón) (Piek *et al.*, 2019).

1.2.2.4 Productos avanzados de la oxidación de proteínas

Durante los estadios inflamatorios, la activación y migración de diferentes células inmunológicas y la liberación de citocinas proinflamatorias junto con la producción excesiva de ROS favorecen en conjunto la pérdida de homeostasis y buen funcionamiento celular lo que conlleva a la afectación directa sobre diferentes órganos (Witko-Sarsat *et al.*, 1998). Durante el ataque oxidante sobre las proteínas presentes en las células y por ende sobre los residuos de aminoácidos que las conforman, hacen que este daño sea irreversible favoreciendo la pérdida de función de las proteínas, entre ellas, la enzimática, señalización, transporte, etc. Así mismo, los daños hacia las proteínas están relacionados con los productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs), por lo que es posible utilizar estos productos como biomarcadores de daño sobre las biomoléculas (Kaneda *et al.*, 2002). Cuando existe una oxidación directa sobre la tirosina (Tyr), se produce la ditirosina, generada por mecanismos que pueden involucrar una agregación proteica, fragmentación y formación de enlaces entrecruzados, que demuestran un daño a las proteínas *in vitro*, al lograr aislar estos residuos a partir de plasma, se denominaron “productos avanzados de la oxidación de proteínas” (AOPP) en pacientes con diálisis (Witko-Sarsat *et al.*, 1996). Los AOPP pueden ser utilizados como biomarcadores de un estado oxidante-inflamatorio (Capeillère-Blandin *et al.*, 2004; Hanasand *et al.*, 2012).

1.2. Antiinflamatorios no esteroideos y sus efectos negativos en el organismo

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) pertenecen a un grupo de medicamentos que son utilizados para el tratamiento de las enfermedades que caracterizadas por la presencia de fiebre, el dolor, desórdenes musculoesqueléticos, durante la osteoartritis y en la artritis reumatoide, así como en otras comorbilidades (Crofford, 2013; Ghosh *et al.*, 2015). A nivel mundial constituyen el 5 al 10 % de las prescripciones médicas que se realizan en un año y aproximadamente más de 30 millones de personas adultas toman alguno de los integrantes de este grupo de fármacos cada día (Bindu *et al.*, 2020; Szeto *et al.*, 2020). Los AINEs son clasificados generalmente en base a la selectividad inhibitoria sobre las isoformas de la ciclooxigenasa. Los AINEs pueden inducir diversos efectos adversos sobre el tracto gastrointestinal, renal, hepatotoxicidad e incrementa el riesgo

de ataques al corazón y accidentes cerebrovasculares, entre otras afectaciones que conllevan al aumento de la mortalidad y morbilidad a nivel mundial (Ghosh *et al.*, 2015; Bjarnason *et al* 2018). Así mismo, el uso de estos fármacos favorece el aumento en la producción de estrés oxidante celular, de un estadio inflamatorio en el organismo y el aumento en la migración de células inmunológicas (Yadav *et al.*, 2013; Bhattacharyya *et al.*, 2014; Bindu *et al.*, 2020). Entre los efectos adversos de los AINEs se encuentra la generación de úlceras gástricas y duodenales, se conoce que el 40 % de la población que usa algún AINE desarrolla complicaciones en el tracto gastrointestinal, además, si se utilizan de manera prolongada favorece un 35 a 60 % la erosión, un 10 a 15 % la ulceración agresiva y <1 % la aparición de hemorragias y perforación (Ruiz-Hurtado *et al.*, 2021). Así mismo, se conoce que el uso inadecuado de los AINEs favorece más fuertemente el desarrollo de ulceraciones gástricas que las duodenales, el 8.6 % de pacientes con una úlcera que sangra y el 23.5 % con una úlcera perforada pueden morir en tan solo 30 días (Sverdén *et al.*, 2019). Los AINEs tienen efectos adversos negativos cuando se consumen de manera inadecuada ya que pueden inhibir a la COX-1 (Silva *et al.*, 2017) y aumentar a la COX-2 dando lugar al desequilibrio en el funcionamiento normal de la mucosa gástrica lo que favorece el aumento del estrés oxidante y el desarrollo de un proceso inflamatorio en el organismo (Hussain *et al.*, 2016).

El hígado es uno de los órganos más importantes en el organismo de los mamíferos, su función principal es la metabolizadora, detoxificante y almacenadora de glucógeno, entre otras. Actúa como un órgano accesorio del sistema digestivo (Waluga *et al.*, 2015). Se conoce que algunos integrantes de los AINEs como el ibuprofeno y el diclofenaco están listados dentro de los 15 fármacos que generan eventos adversos a nivel mundial (Sriuttha *et al.*, 2018). Entre los factores que se modifican durante el uso de los AINEs (ibuprofeno, diclofenaco, sulindac, etc) se encuentra la elevación de los niveles séricos de aminotransferasas, fosfatasa alcalina y la bilirrubina. Además, las personas con alguna de las alteraciones del síndrome metabólico o con una esteatosis hepática están predispuestas al daño hepático si hacen uso de algún integrante de los AINEs ya que, tienden a presentar niveles plasmáticos mayores (Bessone, 2010). Por lo cual, estas alteraciones

conlleven al desarrollo de lesión hepática inducida por medicamentos idiosincrática, así mismo, las personas con una enfermedad crónica hepática preexistente, pueden desarrollar hepatotoxicidad severa al usar la indometacina (LiverTox, 2018). Además, se conoce que a nivel mundial los AINEs son responsables del 10 % de los casos DILI (lesión hepática inducida por medicamentos) reportados (Nikose *et al.*, 2015; Meunier y Larrey, 2018).

1.3. Actividad farmacológica de los metabolitos secundarios de las plantas

A lo largo del paso del tiempo el uso de las plantas con fines médicos ha sido documentado en las grandes poblaciones que permanecen en el mundo actual. Cerca del 80 % de la población mundial utiliza la medicina tradicional, por medio de la utilización de extractos de plantas como principal fuente de atención médica (Sandhya *et al.*, 2006; Süntar, 2019). Además del uso en la medicina, se les ha utilizado en el ámbito industrial, agrológico y alimenticio, para la obtención y elaboración de productos, que son altamente demandados a nivel mundial. Con el paso del tiempo los datos que demuestran el número de metabolitos secundarios en las plantas han incrementado año tras año, en los últimos 40 años el análisis de estos compuestos ha progresado demasiado (Okada *et al.*, 2010). Con esto, se reconocen principalmente tres clases de metabolitos secundarios en función a su origen biosintético: los terpenoides, alcaloides y fenoles, los cuales poseen integrantes con alto potencial farmacológico (Dewick, 2002; Savithramma, 2011; Anurag *et al.*, 2014). Con ello han permitido reconocer actividades farmacológicas de los metabolitos secundarios sobre una gran variedad de patologías asociadas a una mala alimentación, en procesos inflamatorios, en ciertos tipos de cáncer, etc., por medio de la elaboración de múltiples combinaciones fitoquímicas, que promueven efectos sinérgicos positivos frente enfermedades de importancia mundial, promoviendo así innovación farmacológica que disminuya los efectos indeseados de los fármacos sintéticos (Howes *et al.*, 2018; Kasprzak *et al.* 2018).

Diversos estudios han permitido elucidar los compuestos mayoritarios en las hojas de *C. citrinus* reconociendo a los monoterpenos (1,8-cineol, limoneno, α -terpineol, ácido gálico, etc.) (Petronilho *et al.*, 2013; Shaha y Salunkhe, 2014; Khanh *et al.*,

2016). Se le han atribuido actividades benéficas a los compuestos mayoritarios presentes en las hojas, flores y frutos, en diversas enfermedades que involucran a un estadio inflamatorio (Martins *et al.*, 2017).

1.4. *Callistemon citrinus*

Esta planta ornamental pertenece a la familia Myrtaceae la cual, contiene aproximadamente 34 especies (Das *et al.*, 2008). Es conocida principalmente como escobillón o (Bottlebrush) en inglés, es una planta con punto de origen en Australia, actualmente debido a su fácil crecimiento se encuentra ampliamente distribuida en otros países, entre los usos que se le han dado se encuentra en la forestería, producción de aceites esenciales y en la maderería (Petronilho *et al.*, 2013). Es un árbol pequeño (4-7.5 m de altura), con hojas linear-lanceoladas y siempre verdes, con inflorescencias cilíndricas rojizas, debido a su atractivo es utilizado para decorar sitios urbanos (Spencer y LumLey, 1991). En diversos países se le han utilizado como coadyuvantes de la medicina tradicional, esta planta es utilizada para el tratamiento de las hemorroides en China. Además, posee actividad antibacterial, antifúngica (Gupta *et al.*, 2008) y antihelmíntica (Pal y Pathak, 2007). Debido a esto diversos estudios se han dirigido a la investigación de los extractos de esta planta para conocer, si poseen potencial uso farmacológico como coadyuvante que disminuya el desarrollo de patologías de importancia mundial.



Figura 2. Árbol de *Callistemon citrinus*

1.5.1. Antecedentes directos

Callistemon citrinus ha sido utilizada en diferentes estudios que han permitido comprobar sus efectos terapéuticos durante diversas patologías de interés médico a nivel mundial. Sudhakar *et al.*, en el (2006) y Kumar *et al.*, en el (2011) utilizaron a *C. citrinus* en un modelo de inducción de edema por medio de carragenano (sustancia que potencia la inflamación en diferentes tejidos y órganos). Obteniendo como resultado que el extracto posee efectos analgésicos y antiinflamatorios frente al uso de carragenano y que *C. citrinus* mantiene un comportamiento similar a drogas control (aspirina y diclofenaco). Sugiriendo que el extracto puede reducir los efectos negativos del uso de fármacos sintéticos a largo plazo.

Petronilho *et al.*, 2013., determinaron la composición terpénica en el extracto etanólico de las hojas y flores de *C. citrinus*, los mayores constituyentes monoterpénicos en las hojas fueron el 1,8-cineol, limoneno, α -terpineol y p-cimeno, mientras que en las flores fue el mirtanol. Los sesquiterpenos mayoritarios en las hojas fueron el espatulenol y viridiflorol, el rosifoliol y espatulenol en las flores. Así mismo, presenta dos fenoles (el ácido elágico y la quercetina) Concluyendo que los componentes presentes en las hojas y flores se modifican en función a la edad de la planta, por lo tanto, esto permite generar nuevas líneas de investigación farmacológica, que permita reconocer el potencial bioactivo de los componentes predominantes en *C. citrinus*.

Sampath *et al.*, en el 2016 determinaron la capacidad antioxidante de los extractos de *C. citrinus*, utilizando diversos solventes para su elaboración. Concluyeron que el extracto hexánico promovió el incremento el contenido de fenoles y flavonoides; sin embargo, tuvo una actividad antioxidante menor a los extractos metanólicos y etanólicos. Lo que sugiere que los fitoconstituyentes mayoritarios en las hojas de *C. citrinus* poseen una gran capacidad antioxidante y que el uso de otros solventes permitiría conocer eficazmente los beneficios de estos fitocompuestos. En el 2017, Sampath *et al.*, modificaron las técnicas de separación de los compuestos mayoritarios en esta planta, lograron determinar, que en un modelo *in vitro* de

leucemia, los extractos etanólicos y metanólicos, no poseen efectos citotóxicos sobre las células cancerígenas. Sin embargo, mediante un proceso de purificación el extracto hexánico, se generó citotoxicidad en este modelo celular, debido al contenido de 1,8-cineol, el cual genera un ambiente prooxidante que activa el proceso apoptótico de las células cancerígenas.

López-Mejía *et al.*, en el 2019 y 2021 determinaron que el extracto etanólico de *C. citrinus* a una dosis de (250 mg/kg), posee un efecto quimiopreventivo contra el cáncer de colon inducido en ratas Wistar mediante la 1,2-dimetilhidrazina (DMH). Ya que disminuye la cantidad de fosas crípticas aberrantes, el tamaño de los tumores, así mismo, posee efectos antioxidantes ya que incrementa la actividad de las enzimas detoxificantes de la segunda fase (glutación-S-transferasa y quinona reductasa). Además, induce una actividad protectora en las diferentes zonas del colón, hígado, corazón y riñón mediante el aumento de la actividad enzimática antioxidante (SOD, CAT, GPx), de la actividad de la paraoxonasa 1 (PON1), en el contenido de glutación reducido (GSH) y la disminución del proceso de lipoperoxidación ocasionado por la DMH, mediante la reducción de los niveles de malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (4-HNE). Por lo que, las cualidades que presenta son de gran importancia para determinar su posible efecto gastroprotector y hepatoprotector en ratas que se alimentaron con una dieta alta en grasa y azúcar en un modelo de inducción de úlceras gástricas por AINEs.

2. JUSTIFICACIÓN

Se conoce que los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) favorecen la aparición de efectos adversos sobre el tracto gastrointestinal cuando se consumen inadecuadamente. Estos efectos podrían agravarse cuando son administrados en individuos obesos, potenciando los daños producidos por la obesidad, favoreciendo un estado oxidante-inflamatorio agresivo y constante que podría impactar directamente en el buen funcionamiento del organismo. La presente investigación busca determinar si el extracto etanólico de hoja de *C. citrinus* posee un efecto gastroprotector, hepatoprotector y antiinflamatorio en ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) obesas en un modelo de inducción de úlceras gástricas por consumo

de indometacina, un AINE conocido por sus efectos gastrolesivos. Lo anterior en aras de promover el uso de plantas medicinales mexicanas como *C. citrinus* con alto potencial farmacológico, como medicina complementaria y alternativa (CAM) dirigida a disminuir los efectos colaterales generados por el uso de AINEs durante la obesidad.

3. HIPÓTESIS

El extracto etanólico de hoja de *C. citrinus* tiene un efecto gastroprotector, hepatoprotector y antiinflamatorio en ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y azúcar, cuando se les inducen úlceras gástricas por indometacina.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Determinar el efecto gastroprotector, hepatoprotector y antiinflamatorio de *C. citrinus* en ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y azúcar, en un modelo de inducción de úlceras gástricas por indometacina.

4.2. Objetivos Específicos

1. Comparar la ganancia de masa corporal y perfil bioquímico de ratas alimentadas con una HFSD y las ratas administradas con la HFSD + *C. citrinus*.
2. Identificar el efecto gastroprotector y antiinflamatorio en el estómago de ratas alimentadas con una HFSD + *C. citrinus*, en un modelo de inducción de úlceras gástricas por indometacina.
3. Determinar el efecto hepatoprotector y antiinflamatorio en el hígado de ratas alimentadas con una HFSD + *C. citrinus*, en un modelo de inducción de úlceras gástricas por indometacina.

5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

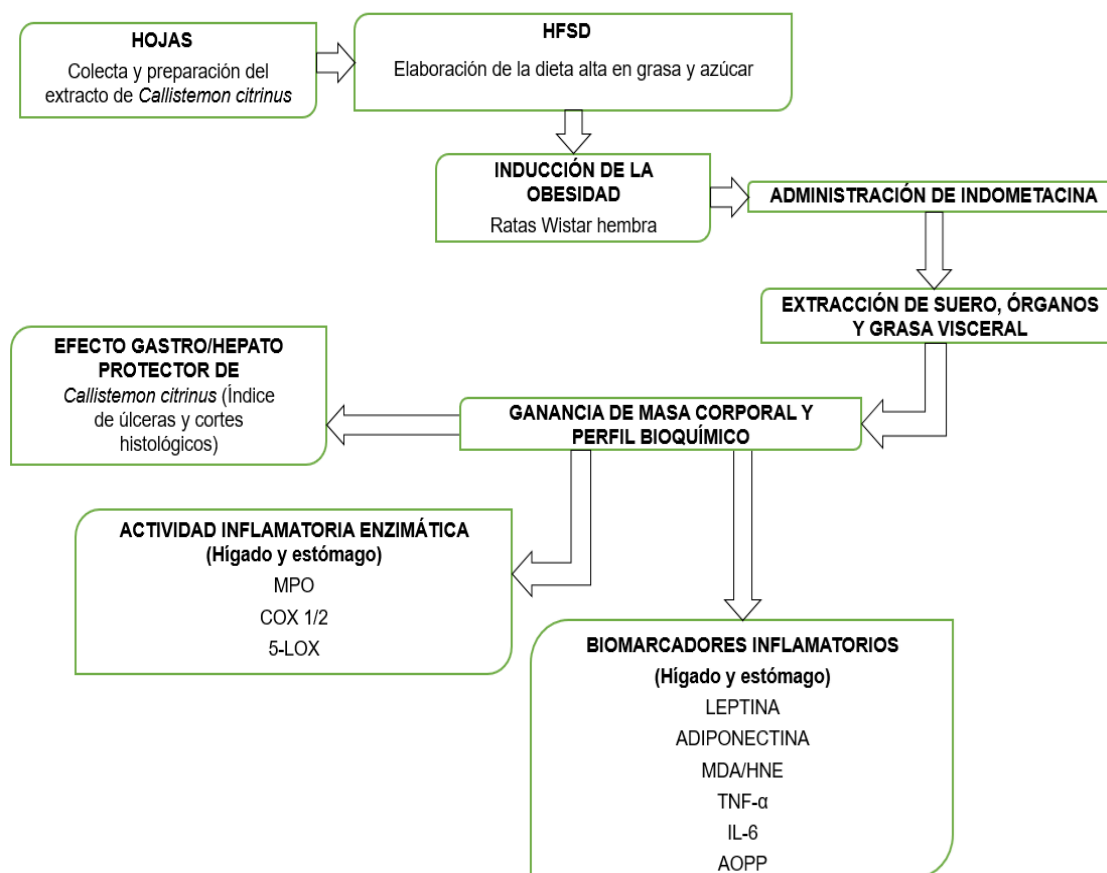


Figura 3. Estrategia experimental utilizada en el presente trabajo.

6. RESULTADOS

6.1. Capítulo 1: Efecto gastroprotector y antiinflamatorio de *Callistemon citrinus* en ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y azúcar

Resumen

La obesidad es una enfermedad causada principalmente por el consumo excesivo de alimentos con un gran aporte calórico, disminución de la actividad física y predisposición genética que contribuyen a su desarrollo. Esta condición presenta varias complicaciones como enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hígado graso y algunos tipos de cáncer como el gástrico, dando lugar a una mala calidad de vida. Tomar dosis altas y prolongadas de AINEs (diclofenaco, ibuprofeno, indometacina, celecoxib) sin supervisión médica, inducen un estado oxidante-inflamatorio que provocan en conjunto daños en la mucosa gástrica e intestinal generando lesiones y mal funcionamiento de los órganos implicados en la absorción y asimilación de los alimentos y fármacos. Por lo tanto, es importante buscar productos naturales con actividad biológica benéfica y pocos efectos secundarios. Se ha reportado que *Callistemon citrinus* posee varias actividades biológicas como antioxidante, antimicrobiano, hepatoprotector y quimioprotector contra el cáncer de colon. Entre los compuestos que le confieren estas propiedades se encuentran los terpenos y los fenoles. Hasta la fecha, no hay informes que se correlacionen con la ingesta de una dieta alta en grasa y azúcar y la predisposición a generar úlceras gástricas más fácilmente. El objetivo de este estudio es determinar el efecto gastroprotector y antiinflamatorio del extracto de hoja de *Callistemon citrinus* en un modelo de inducción de úlceras gástricas en ratas obesas. Se aleatorizaron 30 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) en 6 grupos experimentales (n=5). Ratas del grupo 1 (control) alimentadas con pélets de roedor (marca Rodent diet®); Grupo 2: Dieta con sacarosa (marca Zulka®) alta en grasa (HFSD) con aporte calórico de 5.37 kcal/g; Grupo 3: (HFSD + *C. citrinus*), ratas que se alimentaron con la HFSD más extracto de hoja de *C. citrinus* (250 mg/kg) una vez al día con cánula por vía oral; Grupo 4: Dosis única de indometacina de 30 mg/kg (p.o); Grupo 5: Dosis única de *C. citrinus* de 250 mg/kg + IND y Grupo 6: Dosis única de omeprazol de 30 mg/kg + IND. Todos los grupos ayunaron durante 24 h antes de la administración de indometacina. Los resultados mostraron una disminución del aumento de peso y la

reducción de los parámetros morfológicos y bioquímicos en el grupo HFSD + *C. citrinus* en comparación con el grupo HFSD. Además, el extracto disminuyó la gravedad de las lesiones gástricas inducidas por la indometacina en el grupo alimentado con la dieta hipercalórica a nivel macroscópico, ya que el uso de *C. citrinus* promovió el aumento del porcentaje de inhibición de úlceras. A nivel microscópico disminuyó el índice histopatológico manteniendo la estructura y conformación de la región fúndica del estómago. Por otro lado, redujo la actividad enzimática de la mieloperoxidasa, ciclooxigenasa 2 y 5-lipoxigenasa y los biomarcadores inflamatorios como el TNF- α , la IL-6, los AOPP, el MDA, 4-HNE y la leptina. Además, promovió el aumento en los niveles de la adiponectina y ciclooxigenasa-1 en comparación al grupo HFSD e indometacina. En conclusión, *Callistemon citrinus* protegió contra el efecto negativo de la indometacina en ratas obesas alimentadas con una dieta rica en grasa y azúcar.

Abstract

Obesity is a disease caused mainly by excessive consumption of food with a high caloric intake, decreased physical activity and genetic predisposition that contribute to its development. This condition presents several complications such as cardiovascular diseases, diabetes mellitus type 2, fatty liver and some cancers such as gastric, resulting in a poor quality of life. Taking high and prolonged doses of NSAIDs (diclofenac, ibuprofen, indomethacin, celecoxib) without medical supervision induces an oxidizing state-inflammatory that together cause damage to the gastric and intestinal mucosa generating injury and malfunction of the organs involved in the absorption and assimilation of food and drugs. Therefore, it is important to look for natural products with beneficial biological activity and few side effects. *Callistemon citrinus* has been reported to have several biological activities such as antioxidant, antimicrobial, hepatoprotective and chemoprotective against colon cancer. Among the compounds that give it these properties are terpenes and phenols. Until now, there are no reports that correlate the intake of a diet high in fat and sugar and the predisposition to generate gastric ulcers more easily. The aim of this study was to determine the gastroprotective and anti-inflammatory effect of *Callistemon citrinus* leaf extract in a gastric ulcer induction model in obese rats. Thirty Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were randomized in 6 experimental groups (n=5).

Group 1 (control) rats fed with rodent pellets (brand Rodent diet®); Group 2: Diet with sucrose (brand Zulka®) high in fat (HFSD) with caloric input of 5.37 kcal/g; Group 3: (HFSD + *C. citrinus*), rats fed HFSD plus leaf extract of *C. citrinus* (250 mg/kg) once daily with oral cannula; Group 4: Single dose of indomethacin 30 mg/kg (p.o); Group 5: Single dose of *C. citrinus* 250 mg/kg + IND and Group 6: Single dose of omeprazole 30 mg/kg + IND. All groups fasted for 24 h before indomethacin administration. The results showed a decrease in weight gain and reduction in morphological and biochemical parameters in the HFSD + *C. citrinus* group compared to the HFSD group. In addition, the extract decreased the severity of gastric lesions induced by indomethacin in the group fed with the hypercaloric diet at the macroscopic level, since the use of *C. citrinus* promoted the increase in the percentage of ulcer inhibition. At microscopic level, the histopathological index decreased while maintaining the structure and conformation of the fungal region of the stomach. On the other hand, it reduced the enzymatic activity of myeloperoxidase, cyclooxygenase 2 and 5-lipoxygenase and inflammatory biomarkers such as TNF- α , IL-6, AOPP, MDA, 4-HNE and leptin. In addition, it promoted increased levels of adiponectin and cyclooxygenase-1 compared to the HFSD group and indomethacin. In conclusion, *C. citrinus* protected against the negative effect of indomethacin on obese rats fed a diet rich in fat and sugar.

Palabras clave: Indometacina, parámetros bioquímicos, actividad inflamatoria y enzimática, *Callistemon citrinus*, efecto protector, úlceras gástricas

Introducción

La familia de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen a nivel mundial el 5 al 10 % de las prescripciones médicas realizadas anualmente y cerca de 30 millones de personas adultas toman alguno de los integrantes de los AINEs (Bjarnason *et al.*, 2018; An *et al.*, 2020; Bindu *et al.*, 2020; Szeto *et al.*, 2020). La indometacina pertenece a la familia de los (AINEs) y es utilizada para el tratamiento de enfermedades que involucran el dolor, la fiebre, desórdenes musculoesqueléticos, en el alivio de la osteoartritis y en la artritis reumatoide, entre otras comorbilidades (Ghosh *et al.*, 2015; Maturana y Gritsenko, 2019). Además, es utilizada como modelo estándar para la búsqueda de nuevos compuestos con potencial farmacológico en el tratamiento de las úlceras en el tracto gastrointestinal

(Suleyman *et al.*, 2010; Tammadonfard *et al.*, 2019; Ruiz-Hurtado *et al.*, 2021). Sin embargo, los efectos secundarios negativos que posee sobre el tracto gastrointestinal hacen que su uso sea monitoreado y limitado para reducir las complicaciones de su uso, ya que a nivel mundial constituyen La indometacina promueve la modificación de los factores agresivos que rompen la homeostasis y conformación a nivel celular de la mucosa gástrica, favoreciendo la generación de lesiones en el estómago y primera porción del duodeno mediante la generación de estrés oxidante que promueve un aumento en la producción de los productos finales de la lipoperoxidación resultantes de la oxidación directa de los ácidos grasos de la membrana celular como el malondialdehído y los hidroxialquenos (Almasaudi *et al.*, 2016), un estado proinflamatorio y la disminución o aumento de la actividad de las isoformas de la ciclooxigenasa (Suleyman *et al.*, 2010; Hunt *et al.*, 2015; Tsai y Brooks, 2019). Actualmente no existe algún reporte que indique si un estado de obesidad promueve mayormente las lesiones inducidas por la indometacina en modelos murinos, ya que la obesidad favorece el desarrollo de complicaciones como la diabetes mellitus tipo 2, afectaciones cardiovasculares, hígado graso (Bindu *et al.*, 2020; Longo *et al.*, 2019 y algunos tipos de cáncer como el gástrico (Boylan *et al.* 2014). Estados que involucran una oxidación e inflamación constante que puede intensificarse por el uso de la indometacina (Vane, 1996; Ortega-Pérez. *et al.* 2022). Así mismo, se conoce que el uso inadecuado de los AINEs favorecen más fuertemente el desarrollo de ulceraciones gástricas que las duodenales (Sverdén *et al.*, 2019) Es necesario conocer nuevos candidatos de origen vegetal, cuyos frutos, flores, semillas y entre otras partes de la planta, permitan que los fitoconstituyentes o metabolitos secundarios presentes, permitan ser utilizados para proteger y reducir la inflamación en el organismo asimismo, que posean efectos negativos nulos al ser utilizados (Cheng *et al.*, 2017; Howes *et al.*, 2018; Kasprzak *et al.*, 2018). *Callistemon citrinus* ha sido utilizada en la medicina tradicional de diversos países, para el tratamiento de las hemorroides, disentería, reumatismo, tuberculosis, bronquitis entre otras (Laganà *et al.*, 2020). Así mismo se ha demostrado su actividad antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes* y sobre otro patógenos en alimentos, presenta actividad reguladora sobre la α -glucosidasa (Fayemi *et al.*, 2019), así mismo presenta actividad antioxidante, cardioprotectora, renoprotectora

y quimioprotectora (López-Mejía *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2020; López-Mejía *et al.*, 2021; Ortega-Peréz *et al.*, 2022). Así mismo se ha demostrado que los compuestos mayoritarios presentes en la hoja de *C. citrinus* son el 1,8-cineol, el limoneno y el α -terpineol. Por otro lado, contiene ácido elágico, quercetina y ácido gálico (Petronilho *et al.*, 2013; Ibrahim *et al.*, 2020; Ghosh *et al.*, 2021; Ayala-Ruiz *et al.*, 2022) cuyo sinergismo promueve los efectos benéficos mencionados. Con ello se busca determinar si el extracto etanólico de hoja de *Callistemon citrinus* posee un efecto gastroprotector y antiinflamatorio en un modelo de inducción de úlceras gástricas en ratas con obesidad inducida por la ingesta de una dieta alta en grasa y sacarosa durante 15 semanas, sugiriendo que el uso de la indometacina sobre ratas bajo una comorbilidad presentará un mayor daño que las ratas tratadas únicamente con el fármaco. Permitiendo así conocer si el extracto de hoja de *C. citrinus* protege de los daños ocasionados durante la obesidad y que se pueden potenciar por el uso de la indometacina en el estómago.

Materiales y métodos

Material biológico y elaboración del extracto

Las hojas de *Callistemon citrinus* fueron recolectadas en Morelia, México (19 41 11.3 N de latitud y 101 12 18.4 O de longitud). Un espécimen de la planta fue entregado e identificado por el Herbario de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) con registro EBUM23538. Las hojas frescas se lavaron, secaron y se trituraron para colocarlo en etanol al 96% con una proporción de 1:10 (1 g/10 mL de etanol). El extracto de hoja de *Callistemon citrinus* se mantuvo en oscuridad a temperatura ambiente durante 5 días para la extracción de los compuestos presentes en la hoja. Finalmente, el extracto se concentró en el evaporador rotatorio con eliminación al vacío a 45 °C y se almacenó a 4 °C hasta su uso posterior.

Animales

Se utilizaron ratas blancas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar con 4 meses de edad, todas hembras y con un peso entre los 210 g y 230 g. Criadas y mantenidas en condiciones estándar de bioterio: 12 horas de luz/12 horas oscuridad, humedad

relativa 60-70 %, temperatura promedio de 20 °C, con acceso a comida y agua *ad libitum*. Los animales fueron mantenidos en el Bioterio del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. La atención de los animales y el proceso experimental se llevó a cabo de acuerdo con la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio, de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

Inducción de la obesidad y de las úlceras gástricas

Se utilizó una dieta rica en grasa y azúcar (HFSD) que contenía 40 % de alimento normal (comida de rata marca Rodent diet®), 40 % de margarina y 20 % de sacarosa (marca Zulka®) por cada 100 g de alimento. Esta dieta posee un aporte calórico de 5.37 kcal/g (Roberts *et al.*, 2005; Rahman *et al.*, 2017; Oishi *et al.*, 2018). Se preparó la dieta cada semana y se mantuvo en congelamiento a -20 °C para su preservación. Los animales fueron divididos de manera aleatoria en tres grupos, todos los grupos tuvieron acceso a agua y alimento *ad libitum*, el experimento tuvo una duración de 15 semanas:

Grupo 1 (control, n = 5): Grupo alimentado con pellets de roedor marca (Rodent diet®).

Grupo 2 (HFSD, n = 5): Grupo alimentado con la dieta rica en grasa y sacarosa (HFSD).

Grupo 3 (HFSD + *C. citrinus*, n = 5): Grupo alimentado con la dieta HFSD, además de la administración diaria del extracto etanólico de hoja de *C. citrinus* (p.o), con cánula a una dosis de 250 mg/kg. Diariamente se midió el consumo del alimento y agua, la ganancia de peso en los animales se registró semanalmente durante el modelo experimental. Terminada la decimoquinta semana se añadieron tres grupos experimentales más:

Grupo 4 (Indometacina, n = 5): El grupo 4 se administró con una dosis única de indometacina (30 mg/kg), con cánula (p.o).

Grupo 5 (*C. citrinus* + IND, n = 5): El grupo 5 se administró con una dosis única del extracto etanólico de hoja de *C. citrinus* (250 mg/kg) seguido de indometacina (30 mg/kg), con cánula por vía oral.

Grupo 6 (Omeprazol + IND, n = 5): El grupo 6 se administró con una dosis única de omeprazol (30 mg/kg) seguido de indometacina (30 mg/kg), con cánula por vía oral.

Los grupos experimentales 2, 3, 4, 5 y 6 previos a la administración de la indometacina se mantuvieron en ayuno de 24 h teniendo acceso a agua *ad libitum*. La eutanasia de los animales se realizó con una dosis intraperitoneal de pentobarbital de sodio a dosis de 150 mg/kg, posteriormente se removió el estómago, hígado, riñón, corazón y la grasa visceral de los roedores.

Determinación de la ganancia de masa corporal y del perfil bioquímico

Se determinó el peso final de los grupos 1, 2 y 3 al finalizar el modelo experimental, la circunferencia abdominal, la longitud nariz-ano y nariz-cola se midió con una cinta métrica. El índice de Lee (g/cm) y el porcentaje de grasa (%) presente en el organismo, se determinaron mediante las fórmulas: $[\text{Peso final (g)} / 0.33 / \text{longitud nariz-ano (cm)}]$, $[0.73(\text{índice de Lee} - 0.2808)]$ (Aslani *et al.*, 2016), respectivamente. Así mismo la deposición de la grasa visceral y el peso de los órganos extraídos se pesaron con una báscula digital. Para la determinación del perfil bioquímico se extrajo la sangre de los roedores una vez sacrificados, posteriormente se llevó a cabo la centrifugación de la sangre a 3000 rpm durante 15 min para la obtención de suero. Enseguida se recuperó el sobrenadante (suero) y se determinaron las concentraciones sanguíneas en (mg/dL) de glucosa, colesterol y triacilglicéridos con *kits* comerciales de la marca SPINREACT®. Además, se determinó la concentración de proteínas totales en el hígado y estómago mediante el protocolo descrito por (Bradford, 1976) mediante un micrométodo de la marca (BIO-RAD®).

Determinación de los biomarcadores de la inflamación

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 6 (IL-6), la leptina y la adiponectina se determinaron en el homogenado de hígado y estómago, mediante la técnica de inmunoabsorción enzimática (ELISA) de tipo sándwich con *kits* de la marca Sigma-Aldrich® (RAB0480 TNF- α ; RAB0312 IL-6; RAB0335 Leptina y RAB1136 Adiponectina), siguiendo las especificaciones que establece cada *kit* para su realización.

Para la determinación de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (AOPP) en el hígado y estómago se utilizó el protocolo por Hanasand *et al.*, (2012),

la mezcla de reacción contenía 1 mL de búfer de fosfatos 20 mM pH 7.4, más 50 μ L del homogenado de ambos órganos, más 50 μ L de yoduro de potasio (1.16 M), seguido de 100 μ L de ácido acético. Toda la mezcla se centrifugó a 5,800 g durante 5 min, posteriormente se incubó a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia final a 340 nm. La curva patrón consiste en la cuantificación de los AOPP mediante la formación de iones triyoduro a través de la oxidación del yoduro de potasio con la cloramina-T (Sigma-Aldrich®).

Por otro lado, los productos finales de la lipoperoxidación malondialdehído (mM MDA)/hidroxialquenos (mM 4-HNE) se determinaron mediante el protocolo descrito por Johnston (2007) y Ali *et al.*, (2016) en el homogenado de hígado y estómago cuya mezcla de reacción contenía 650 μ L de 1-metil-2-fenilindol y 200 μ L del homogenado de ambos órganos, respectivamente teniendo un duplicado para cada muestra; se agregó a un tubo 15 μ L de HCl al 37 % para la determinación de (MDA) y al otro tubo se agregaron 15 μ L de ácido metanesulfónico (15.4 M) para la determinación de los (4-HNE). Posteriormente se mezclaron y colocaron en incubación a 45 °C durante 60 min, enseguida se detuvo la reacción colocando los tubos en hielo por 5 min y se centrifugó a 13 g durante 5 min, finalmente se midió la absorbancia a 586 nm.

Mieloperoxidasa

La actividad de la mieloperoxidasa se realizó mediante los protocolos descritos por Suzuki *et al.*, (1983), Andrews y Krinsky, (1986), Márques y Dunford, (1997) en el hígado y estómago. La mezcla de reacción contenía 425 μ L de búfer de fosfatos 200 mM pH 5.4, 10 μ L de H₂O₂ 15 mM, 40 μ L del reactivo 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina (TMB) 20 mM, se mezcló para posteriormente añadir 50 μ L y 25 μ L del homogenado de ambos órganos respectivamente, se incubó la mezcla a 37 °C durante 3 min en oscuridad, enseguida se colocó en hielo durante 3 min y se añadió por último 1 mL de acetato de sodio 200 mM pH 3 para detener la reacción y se leyó la absorbancia a 655 nm durante 3 min tomando la abs inicial y cada minuto.

Ciclooxigenasa 1 y 2

La actividad de COX fue determinada mediante el monitoreo de la actividad peroxidasa de la ciclooxigenasa, el ensayo se basa en la determinación a través de la transformación de ácido araquidónico a PGG₂ seguido de la conversión cuantitativa de PGG₂ a PGH₂ utilizando el sustrato colorimétrico N,N',N'-tetrametil-p-fenilendiamina (TMPD). La actividad de la ciclooxigenasa 1 y 2 se realizó mediante los protocolos descritos por Sainy *et al.*, (2008), Petrovic y Murray, (2010), Kumar *et al.*, (2011), Sudheesh *et al.*, (2018) en el hígado y estómago. La mezcla de reacción para la actividad de la COX-1 y COX-2 se hizo por duplicado, en cada tubo se añadieron 712 µL de búfer Tris-HCl 100 mM pH 8, 31 µL de hematina 15 µM, 31 µL de EDTA 3 µM, enseguida se añadió el homogenado de cada órgano centrifugado previamente a 10,000 g por 15 min, el volumen de muestra fue de 100 µL del homogenado de ambos órganos, respectivamente, posteriormente se añadieron 63 µL del reactivo TMPD 100 mM, posteriormente a uno de los tubos se le añadieron 63 µL de Etoricoxib (un inhibidor selectivo de la COX-2) µL para determinar la actividad de la COX-1 de forma diferencial y finalmente a ambos tubos se le añadieron 63 µL de ácido araquidónico 133 µM como sustrato, se mezcló y se incubó durante 20 min a 25 °C y se leyó la absorbancia a 590 nm.

5-Lipoxigenasa

La actividad de la 5 lipoxigenasa se realizó mediante los protocolos descritos por Jiang *et al.*, (1991), Waslidge *et al.*, (1991), Kumar *et al.*, (2011) en el hígado y estómago. La mezcla de reacción contenía 490 µL de búfer Tris-HCl 50 mM pH 7.4, 10 µL del homogenado previamente centrifugado a 10,000 g por 5 min de ambos órganos, respectivamente, 10 µL de ácido araquidónico 133 µM, posteriormente se mezcló e incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 10 min, se añadieron 490 µL del reactivo FOX (ácido sulfúrico 25 mM, xilenol naranja 100 µM y sulfato ferroso 250 µM diluidos en agua:metanol 1:9 más 100 µL de butilhidroxitolueno como antioxidante), se mezcló y se incubó nuevamente bajo las mismas condiciones mencionadas y se leyó la absorbancia final a 590 nm.

Determinación de las lesiones macroscópicas del estómago y análisis histológico

El estómago se abrió por la curvatura más grande, se extrajo el contenido estomacal y se lavó con solución salina al 0.9 %, posteriormente se fijó el estómago a una superficie para extenderlo adecuadamente, lo que permitió tomar fotografías y observar macroscópicamente las lesiones en la mucosa gástrica que se generaron por la indometacina. El análisis de los daños ocasionados en el estómago fue realizado con el software ImageJ (Wayne Rasband MD, USA) (Tamaddonfard *et al* 2019; Nabil *et al* 2021), que permitió determinar el índice de úlceras (UI) en mm, midiendo el largo de las lesiones y multiplicándolo por el factor de severidad (0= sin lesión, 1= <1 mm, 2= 2–4 mm y 3= >4 mm) (Peskar *et al.*, 2002) y el porcentaje de inhibición de úlceras mediante la fórmula $(((\text{IU indometacina} - \text{UI grupo } C. \text{ citrinus}) / \text{UI indometacina}) * 100)$ (Sabiú *et al.*, 2015; Boyacioglu *et al.*, 2016; Shahin *et al.*, 2018).

Una porción del hígado y estómago se mantuvo en formaldehído al 10 % para su fijación, posteriormente se enjuagaron las muestras con agua de grifo y se llevó a cabo la deshidratación con 3 cambios de alcohol al 95 %, 3 cambios de alcohol absoluto, 1 cambio de alcohol absoluto/xileno, 2 cambios de xileno y 3 cambios de parafina líquida, duración cada cambio 15 min. Posteriormente se llevó a cabo la inclusión en parafina y se realizaron los cortes histológicos con un grosor de 5 µm en un micrótomó (Leica®) enseguida se realizó la tinción con hematoxilina y eosina (H&E). Para la determinación del puntaje histopatológico (score) que se presenta dentro de la (figura 6) en la sección de resultados, considera en conjunto a cuatro factores: la pérdida de células epiteliales de la mucosa gástrica (a), la infiltración de células inmunológicas (d), las erosiones presentes en la lámina propia (b), así como el edema y la disrupción de la submucosa (c). En la cual, a cada factor se le asigna un valor como se representa en la tabla 1, posteriormente se obtuvo el promedio de la suma de cada uno de los factores para la determinación del puntaje histopatológico.

Tabla 1. Puntaje histopatológico determinado en el estómago de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y sacarosa y administradas con indometacina

Factor	Puntaje (Score)
Pérdida de células epiteliales de la mucosa	0=nada; 1=ligero; 2=moderado y 3=severo
Ínfiltración de células inmunológicas	0=1 a 2; 1=2 a 5; 2=6 a 9 y 3≥ 9 (células)
Erosiones en la lamina propia	0=nada; 1=ligero; 2=moderado y 3=severo
Edema y disrupción de la submucosa	0=nada; 1=ligero; 2=moderado y 3=severo
Tomado y modificado de (Luo <i>et al.</i> , 2018)	

Análisis estadísticos

Los datos numéricos obtenidos fueron analizados y procesados utilizando las diferentes herramientas del programa de Microsoft Excel 2019, el análisis estadístico fue generado en el programa JMP versión 8.0 realizando un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey *post hoc* obteniendo la media $\pm$ error estándar con un valor de ($p \leq 0.05$), las gráficas fueron elaboradas en el programa Graphad Prism versión 8.0.

Resultados

Inducción de la obesidad (parámetros morfológicos y bioquímicos)

Se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la ganancia de peso final (figura 4), en los parámetros morfológicos (tabla 2) y bioquímicos (tabla 3) en el grupo alimentado con la dieta alta en grasa y azúcar en comparación al grupo control, indicadores del establecimiento de la obesidad inducida por la dieta. Como se observa en la (figura 4), hubo un aumento del peso final en el grupo alimentado con la HFSD del 22 %. Por otro lado, el peso final del grupo HFSD más el extracto etanólico de *C. citrinus* administrado continuamente a dosis de 250 mg/kg durante 15 semanas incremento únicamente el 7 % comportándose como el grupo control.

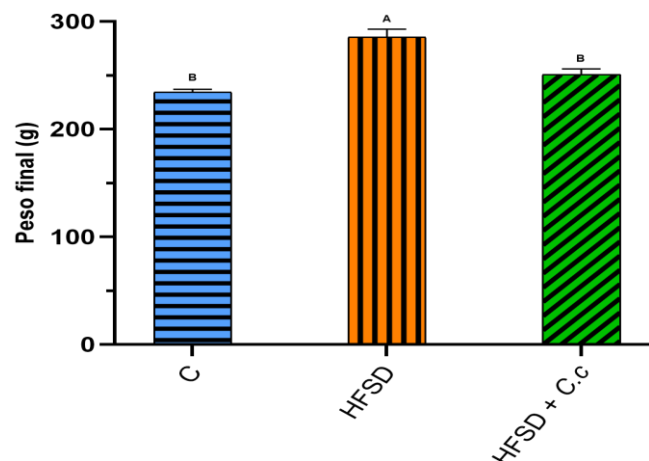


Figura 4. Peso final de los grupos experimentales al termino de la decimoquinta semana. Grupos alimentados con la HFSD durante 15 semanas más el extracto de *C. citrinus*, alores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Se destaca que en el grupo HFSD aumentaron en magnitudes desde 5.5 veces más el porcentaje de grasa, 2.5 veces más la deposición de grasa visceral, así como un índice de Lee con valor de 31 en comparación al grupo alimentado con la dieta normal de roedor, lo que sugiere el establecimiento de la obesidad. De igual forma aumentó la circunferencia abdominal, la longitud nariz-ano, el peso fresco de los diferentes órganos, así mismo, existió una reducción en la ingesta de alimento y agua en comparación con el grupo control (tabla 2).

Tabla 2. Efecto de *Callistemon citrinus* sobre los parámetros morfológicos en las ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar

Parámetros	Control	HFSD	HFSD + <i>C. citrinus</i>
Peso final (g)	234 ± 3 ^B	286 ± 7 ^A	251 ± 5 ^B
Circunferencia abdominal (cm)	20 ± 0.2 ^B	21 ± 0.5 ^A	20 ± 0.2 ^B
Longitud nariz-ano (cm)	21 ± 0.1 ^B	22 ± 0.1 ^A	21 ± 0.3 ^B
Porcentaje de grasa (%)	5 ± 0.9 ^A	28 ± 3.8 ^B	17 ± 1 ^C
Índice de Lee (g/cm)	0.29 ± 0.002 ^B	0.31 ± 0.002 ^A	0.30 ± 0.003 ^{A,B}
Grasa visceral (g)	13 ± 0.6 ^A	34 ± 1.9 ^B	26 ± 0.6 ^C
Peso fresco del hígado (g)	1.6 ± 0.04 ^B	1.8 ± 0.02 ^A	1.5 ± 0.03 ^B
Peso fresco del estómago (g)	7.1 ± 0.5 ^B	9.2 ± 0.1 ^A	7.7 ± 0.1 ^B
Peso fresco del riñón (g)	1.9 ± 0.002 ^B	2.3 ± 0.05 ^A	1.9 ± 0.01 ^B
Peso fresco del corazón (g)	1.16 ± 0.01 ^B	1.34 ± 0.07 ^A	1.02 ± 0.03 ^B
Ingesta de alimento (g/día)	16 ± 0.3 ^A	13 ± 0.3 ^B	10 ± 0.2 ^C
Ingesta de agua (mL/día)	37 ± 0.6 ^A	31 ± 1.8 ^B	23 ± 0.8 ^C

Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes (p≤0.05) prueba de Tukey)

Cabe destacar que el extracto etanólico de hojas de *C. citrinus* administrado continuamente durante 15 semanas promovió la reducción de los parámetros morfológicos analizados, ya que redujo el porcentaje de grasa, el índice de Lee y la grasa visceral un 39 %, 3 % y 24 % respectivamente, al compararlos contra el grupo HFSD (tabla 2). Además, disminuyó el peso fresco de los órganos siendo similares en peso al grupo control. Así mismo, la administración del extracto redujo la ingesta de alimento y agua. Cabe destacar que el efecto reductor sobre los parámetros bioquímicos analizados se mantuvo de igual forma en el grupo administrado continuamente con el extracto de *C. citrinus* al compararlo con el grupo HFSD (tabla 3). Se observó que el extracto disminuyó las concentraciones séricas de glucosa,

colesterol y triacilglicéridos, manteniendo un comportamiento similar al grupo control.

Tabla 3. Efecto de *Callistemon citrinus* sobre los parámetros bioquímicos determinados en suero de las ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar

Parámetros	Control	HFSD	HFSD + <i>C. citrinus</i>
Glucosa (mg/dL)	120 ± 5.3 ^B	151 ± 9.5 ^A	108 ± 3.8 ^B
Colesterol (mg/dL)	51 ± 2.3 ^B	75 ± 2.4 ^A	58 ± 4.5 ^B
Triacilglicéridos (mg/dL)	134 ± 4.6 ^B	162 ± 1.2 ^A	144 ± 2 ^B

Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes (p≤0.05) prueba de Tukey)

Desarrollo de lesiones gástricas (índice de úlceras, % inhibición de úlceras, macroscópicas y cortes histológicos)

En la inducción de úlceras en ratas obesas, se observó en el presente estudio que el uso de indometacina por vía oral favoreció la generación de daños macroscópicos sobre el estómago en los diferentes grupos experimentales. Como se observó en la (tabla 4) el grupo alimentado con la HFSD más la indometacina obtuvo un índice de úlceras de 8 mm (figura 5 B), mientras que el grupo administrado con la indometacina (figura 5 C) obtuvo un índice de 14 mm, por otro lado, en el grupo control (figura 5 A) no se observan los daños sobre la mucosa gástrica. Además, el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* (figura 5 D) inhibió el porcentaje de úlceras un 71 %, así mismo, las administraciones únicas del extracto (figura 5 E) y de omeprazol (figura 5 F), previo a la administración de la indometacina, inhibieron un 67 % y 70 %, respectivamente (tabla 4).

Tabla 4. Tasa de ulceración en la mucosa gástrica y porcentaje de inhibición de lesiones en el estómago de ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasa y azúcar y administradas con indometacina

Grupos	Índice de úlceras (mm)	Porcentaje de inhibición de úlceras (%)
Control	-	-
HFSD + Ind	8 ± 0.29^B	41 ± 1.04^C
HFSD + <i>C. citrinus</i> + Ind	5 ± 1.26^C	71 ± 1.83^B
Indometacina	14 ± 0.41^A	-
<i>C. citrinus</i> + Ind	5 ± 0.28^C	67 ± 1.00^B
Omeprazol + Ind	5 ± 0.41^C	70 ± 1.90^B

Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes (p≤0.05) prueba de Tukey)

Así mismo, los cortes histológicos teñidos con la técnica de (H&E), permitieron identificar las lesiones generadas a nivel celular en los grupos experimentales. Observando que la ingesta de la HFSD más la administración de indometacina (figura 6 B) intensificó el índice histopatológico en el estómago de las ratas obesas en comparación con la administración de la indometacina (figura 6 C) y al grupo control que mostró una estructura morfológica normal de un estómago sano (figura 6 A). Por otro lado, el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* durante 15 semanas redujo el índice histopatológico protegiendo del daño ocasionado por la indometacina durante la obesidad (figura 6 D). Cabe destacar que los grupos administrados con las dosis únicas del extracto de *C. citrinus* y de omeprazol, redujeron similarmente el índice histopatológico inducido por la indometacina (figura 6 E y F), respectivamente.

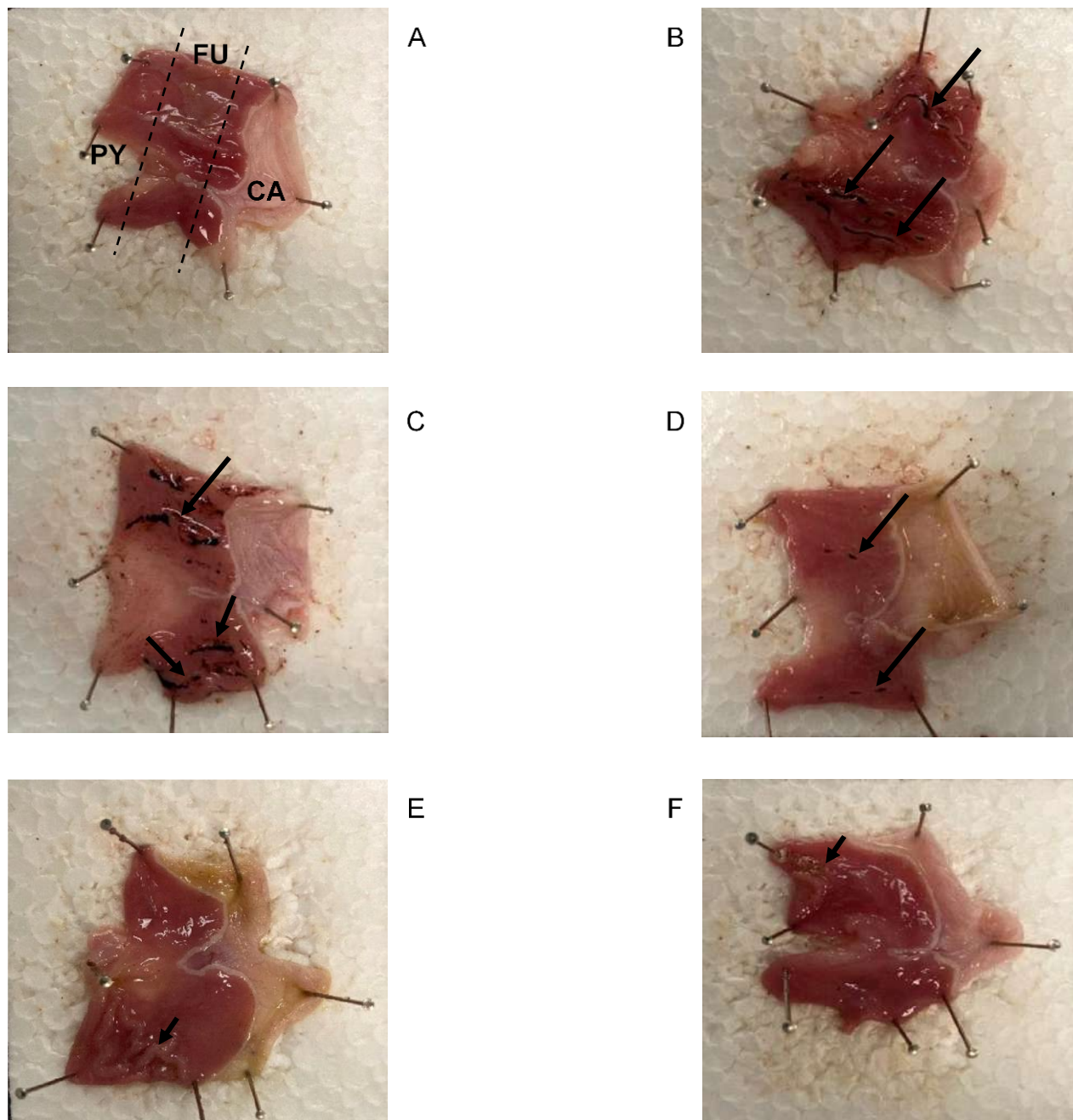


Figura 5. Lesiones macroscópicas en los grupos experimentales. (A) Control; (B) HFSD + IND; (C) Indometacina (Ind); (D) HFSD + *C. citrinus* + Ind; (E) *C. citrinus* + Ind; (F) Omeprazol + Ind. Los grupos B y D fueron tratados durante 15 semanas; mientras que los grupos E y F fueron pre-tratados con *C. citrinus* (250 mg/kg) y omeprazol (30 mg/kg) a dosis única. La indometacina se administró a dosis única de (30 mg/kg). CA: región cardíal, FU: región fúndica y PY: región pilórica.

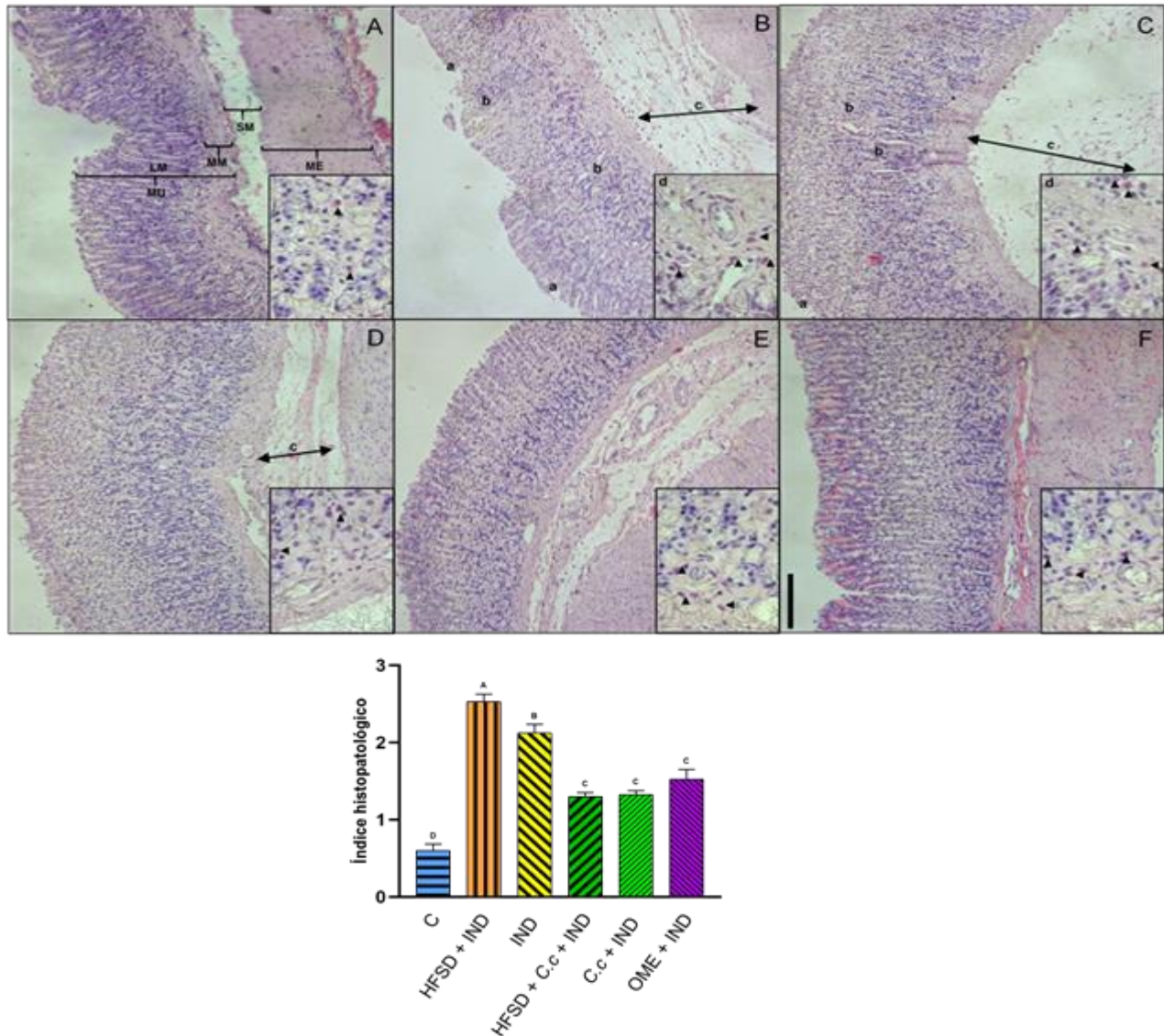


Figura 6. Efecto de *Callistemon citrinus* sobre las lesiones histopatológicas gástricas generadas por la indometacina (IND) en ratas con una dieta alta en grasas (HFSD). Las microfotografías muestran cortes representativos de la región fúndica de las ratas del control (A) y tratados con HFSD + IND (B), IND (30 mg/kg C), HFSD + *C. citrinus* (250 mg/kg) + IND (D), *C. citrinus* + IND (E) y Omeprazol (30 mg/kg) + IND (F). El gráfico muestra los valores del puntaje histopatológico que considera conjuntamente la pérdida de la continuidad epitelial de la mucosa gástrica (a), la erosión presente en la lámina propia (b), el edema y la alteración de la submucosa (c) así como la infiltración de células inmunológicas (d). Mucosa gástrica (MU), muscularis mucosae (MM), submucosa (SM), muscular externa (ME) y lámina propia (LP). Barra de escala = 200 μ m. Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Actividad enzimática de la mieloperoxidasa (MPO)

Se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la actividad enzimática de la

mieloperoxidasa en el grupo alimentado con la HFSD más la administración de indometacina en comparación con el grupo control (figura 7), manteniendo una tendencia a aumentar la actividad en comparación con el grupo administrado con la indometacina. Por otro lado, el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* durante 15 semanas seguido de la indometacina, disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la actividad de la MPO en comparación al grupo HFSD + IND. Así mismo la administración de una sola dosis del extracto mantuvo una tendencia a reducir a la MPO en comparación al grupo IND, mientras que en el grupo omeprazol se comportó de manera similar al grupo dosis única del extracto en comparación con el grupo indometacina.

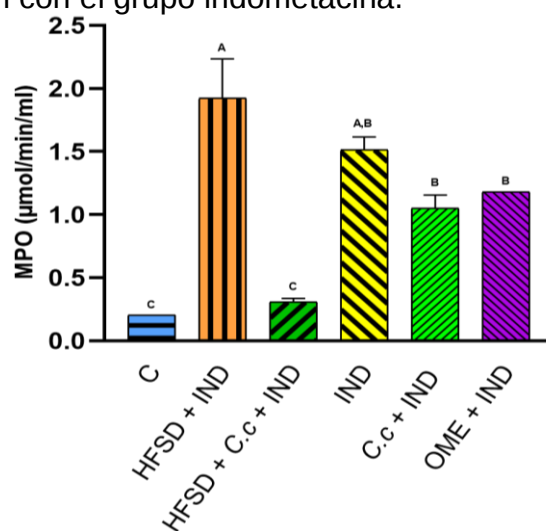


Figura 7. Actividad enzimática de la mieloperoxidasa. Grupos experimentales administrados con indometacina y el extracto de *C. citrinus*, valores expresados con la media y error estándar ($n = 5$; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Actividad enzimática de las ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1/2)

La actividad de las ciclooxigenasas fue modificada en el presente estudio observando que la HFSD más IND favoreció la disminución y aumentó significativo ($p \leq 0.05$) mas intenso de la COX-1 y COX-2, respectivamente en comparación al grupo administrado únicamente con la indometacina y control, mientras que una dosis de indometacina favoreció la disminución y aumento significativo de la COX-1 y COX-2, respectivamente en comparación al grupo control (figura 8).

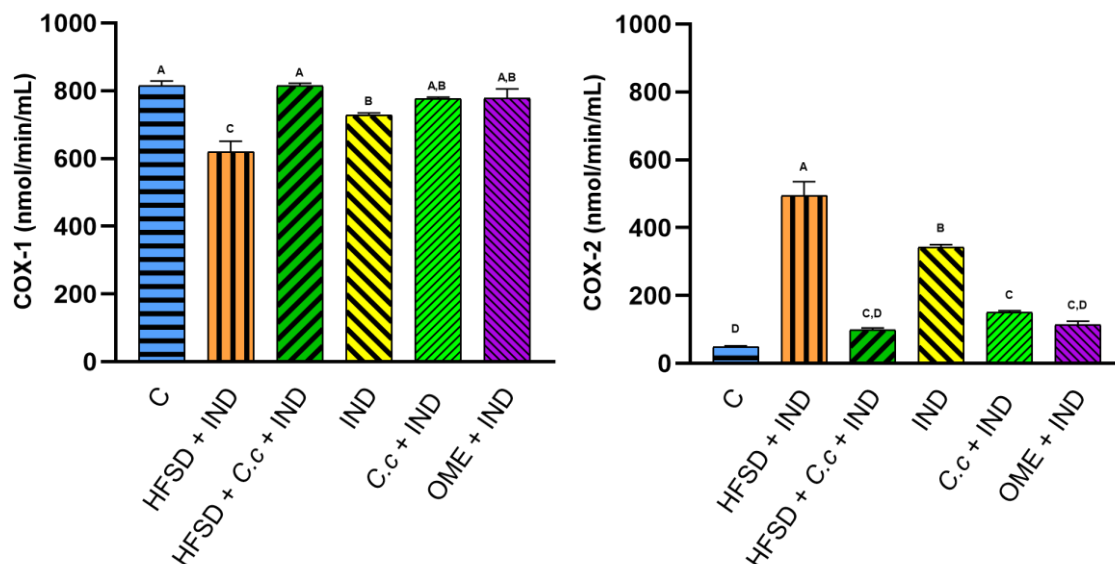


Figura 8. Efecto de la indometacina y el extracto de *C. citrinus* sobre la actividad enzimática de la ciclooxigenasas 1 y 2. Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Por otro lado, en el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* durante las 15 semanas y administrado con la indometacina, aumentó y redujo significativamente la actividad de la COX-1 y COX-2, respectivamente en comparación al grupo HFSD + IND, comportándose como el grupo control (figura 8). Así mismo, la administración única del extracto de *C. citrinus* mantuvo un ligero aumento de la COX-1, mientras que redujo significativamente el nivel de la COX-2 en comparación al grupo IND, dicho comportamiento fue similar al grupo administrado con el omeprazol y la indometacina, actuando como una sola dosis del extracto de *C. citrinus* (figura 8).

Actividad enzimática de la 5-Lipoxigenasa (5-LOX)

Como se observó en el presente trabajo la alimentación con la HFSD + IND generó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la actividad enzimática de la 5-LOX en comparación al grupo control (figura 9), siendo similar la actividad al grupo indometacina. Por otro lado, el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* durante 15 semanas seguido de la indometacina, disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la actividad de la 5-LOX en comparación al grupo HFSD + IND comportándose como el grupo control (figura 9). Así mismo la

dosificación única del extracto y del omeprazol tuvieron una actividad reductora significativa ($p \leq 0.05$) sobre la actividad de la 5-LOX en comparación con el grupo indometacina, manteniendo una tendencia a comportarse como el grupo control y a actuar de manera similar entre sí.

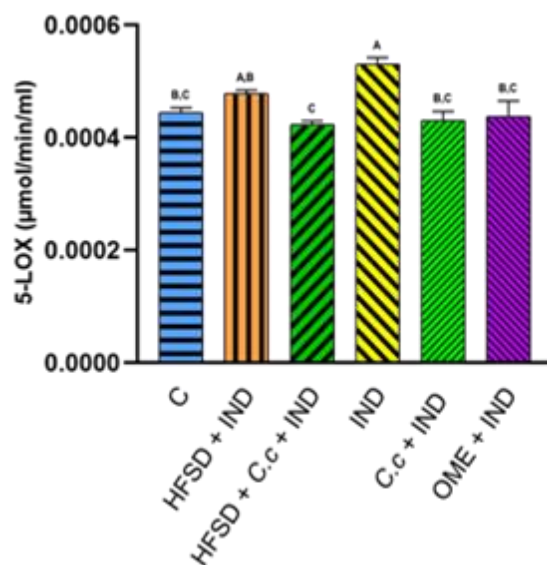


Figura 9. Efecto de la indometacina y el extracto de *C. citrinus* sobre la actividad enzimática de la 5-LOX. Valores expresados con la media y error estándar ($n = 5$; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Biomarcadores de la inflamación

En el presente trabajo se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) mayor sobre los biomarcadores de la inflamación (leptina, AOPP, MDA y 4-HNE, IL-6 y TNF- α) y una reducción significativa de la adiponectina, respectivamente en el grupo alimentado con la HFSD durante 15 semanas más la administración de indometacina (tabla 5), en comparación con el grupo IND y con el grupo control, respectivamente. Mientras que el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de hoja de *C. citrinus* más la dosis de indometacina, disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) los niveles de (leptina, AOPP, MDA y 4-HNE, IL-6 y TNF- α) y aumentó los niveles de la adiponectina, en comparación con el grupo HFSD + IND, manteniendo una tendencia a comportarse como el grupo control. Por otro lado, en el grupo IND existió un aumento significativo ($p \leq 0.05$) sobre los niveles de (leptina, AOPP, MDA y 4-HNE, IL-6 y TNF- α) y una disminución de la adiponectina en comparación al grupo control (tabla 5). Sin embargo, una sola administración del extracto de *C. citrinus* mantuvo una tendencia a reducir los niveles de (leptina, AOPP, MDA y 4-

HNE, IL-6 y TNF- α) y no favoreció el aumento de la adiponectina al compararlo con el grupo IND. Por último, la administración del omeprazol promovió la reducción de los productos de la LPO, mantuvo los niveles de (leptina, adiponectina y AOPP), y elevo los niveles de la IL-6 y del TNF- α en comparación al grupo IND (tabla 5).

Tabla 5. Biomarcadores de la inflamación en el estómago de ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y sacarosa y administradas con indometacina

	Leptina (mg/dL)	Adiponectina (mg/dL)	AOPP (μ mol/L)	IL-6 (mg/dL)	TNF- α (mg/dL)	MDA (mM/mg proteína)	4-HNE (mM/mg proteína)
Control	304.2 $\pm$ 11.68 ^C	27.3 $\pm$ 0.14 ^B	3.8 $\pm$ 0.31 ^C	90.4 $\pm$ 0.52 ^C	1997.0 $\pm$ 269.01 ^D	0.05 $\pm$ 0.00 ^D	0.05 $\pm$ 0.01 ^B
HFSD + Ind	904.7 $\pm$ 9.77 ^A	13.9 $\pm$ 0.25 ^D	6.4 $\pm$ 0.04 ^A	179.5 $\pm$ 12.91 ^A	3489.4 $\pm$ 40.03 ^B	0.18 $\pm$ 0.01 ^A	0.15 $\pm$ 0.02 ^A
HFSD + <i>C. citrinus</i> + Ind	454.6 $\pm$ 16.15 ^B	31.0 $\pm$ 1.60 ^A	2.2 $\pm$ 0.12 ^D	116.6 $\pm$ 0.10 ^{B,C}	3058.1 $\pm$ 17.51 ^C	0.08 $\pm$ 0.00 ^{C,D}	0.07 $\pm$ 0.00 ^{B,C}
Indometacina (Ind)	430.1 $\pm$ 0.65 ^B	17.6 $\pm$ 0.28 ^C	4.9 $\pm$ 0.01 ^B	121.7 $\pm$ 7.47 ^B	2455.7 $\pm$ 17.40 ^D	0.15 $\pm$ 0.02 ^{A,B}	0.09 $\pm$ 0.01 ^{A,B}
<i>C. citrinus</i> + Ind	348.8 $\pm$ 19.57 ^C	12.3 $\pm$ 0.14 ^D	3.6 $\pm$ 0.20 ^C	97.5 $\pm$ 8.20 ^{B,C}	2445.0 $\pm$ 115.38 ^D	0.13 $\pm$ 0.00 ^{A,B}	0.07 $\pm$ 0.00 ^{B,C}
Omeprazol + Ind	490.9 $\pm$ 15.71 ^B	19.4 $\pm$ 0.13 ^C	4.8 $\pm$ 0.12 ^B	154.2 $\pm$ 1.27 ^A	4410.5 $\pm$ 63.02 ^A	0.11 $\pm$ 0.00 ^{B,C}	0.03 $\pm$ 0.00 ^C

Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes (p $\leq$ 0.05) prueba de Tukey)

Discusión

Como se observó en los resultados mencionados en este trabajo, la dieta utilizada favoreció un estado de obesidad mediante el aumento de los parámetros morfológicos y bioquímicos en el grupo HFSD, dichos resultados fueron observados en los trabajos realizados por (Ghaeni Pasavei *et al.*, 2018, Thonusin *et al.*, 2019 y Alkhudhayri *et al.*, 2021) en modelos de inducción de obesidad-resistencia a la

insulina y para la determinación de los daños hepáticos que conlleva el consumo de dietas altas en grasa y azúcar. Además, se conoce que la obesidad favorece una condición que induce un estado oxidante-inflamatorio continuo en el organismo, lo que conlleva al desarrollo de diversas complicaciones asociadas a la obesidad (Blüher *et al.*, 2019; Longo *et al.*, 2019). Por otro lado, es importante destacar que una dieta hipercalórica posee la capacidad de modificar la composición lipídica de la membrana celular, haciendo que la disposición del ácido araquidónico (AA) aumente, haciendo que su metabolismo favorezca la actividad de diferentes enzimas y procesos que coadyuven en el aumento del daño oxidante e inflamatorio en diferentes órganos (Pickens *et al.*, 2017) y que se vió intensificado por la IND en las ratas obesas como se observó en el presente trabajo. Cabe destacar, que en el grupo HFSD + IND se generó un daño mas intenso sobre las lesiones gástricas macroscópicas y microscópicas, sobre las enzimas y biomarcadores involucrados durante la inflamación en comparación con el grupo administrado únicamente con la IND. Lo antes mencionado permite especular que el uso de los antiinflamatorios no esteroideos en personas que padecen obesidad, asociada a un mal estilo de vida, favorecerá el desarrollo de daños más graves sobre el tracto gastrointestinal como se observó en los resultados obtenidos. Por otro lado, una dosis alta de indometacina (30 mg/kg) favorece la generación de daños intensos en las ratas alimentadas con la dieta normal; sin embargo, estos fueron más graves en las ratas con obesidad. Por otro lado, la administración continua del extracto de *Callistemon citrinus* durante las 15 semanas promovió un efecto benéfico acumulativo que dio lugar a la reducción de los diferentes parámetros analizados, protegiendo del daño generado en el estómago ocasionado por la indometacina en las ratas obesas, lo que sugiere que los metabolitos presentes de *C. citrinus* poseen un efecto gastroprotector y antiinflamatorio. Mientras que el uso de una sola dosis del extracto de *C. citrinus* promovió una actividad reductora menos intensa sobre los parámetros analizados, sin embargo, son más altos si se administra el extracto por tiempo prolongado. Además, el extracto mostró un efecto similar al omeprazol lo que sugiere que una sola dosis del extracto puede tener un mecanismo de acción similar al inhibidor de la bomba de protones, por lo que el extracto puede ser un candidato apto para proteger a la mucosa gástrica y disminuir los efectos secundarios que

poseen los fármacos sintéticos sobre el tracto gastrointestinal (Kangwan *et al.*, 2019).

La indometacina es un integrante de los AINEs, que, debido a su alta capacidad de generar daños a nivel gastrointestinal en roedores, permite que sea utilizado en diferentes modelos de inducción de úlceras gástricas e intestinales comparables al humano (Park *et al.*, 2019). Lo que permite identificar nuevos candidatos de origen vegetal cuyos metabolitos mayoritarios posean efectos benéficos en el tratamiento de la obesidad y de los efectos graves que posee la indometacina. La MPO es una enzima involucrada durante un proceso inflamatorio, sus niveles elevados son indicadores de la infiltración de neutrófilos en los tejidos. En función al índice histopatológico obtenido en los cortes histológicos se verificó la presencia de diferentes células inmunológicas, entre ellas los neutrófilos, por lo antes mencionado la migración celular inmune de forma intensa durante un proceso inflamatorio crónico dará lugar a que las células favorezcan la sobreproducción de ROS, RNS y de citocinas que en conjunto intensificarán el estado oxidante-inflamatorio, el cual dañará la capacidad de las células gástricas (mucosas, principales, enteroendocrinas) para producir factores de protección y junto con la reducción de la capacidad de regeneración celular del estómago se desarrollan las úlceras gástricas que favorece la indometacina a dosis altas (Murakami *et al.*, 1999; Polat *et al.*, 2010; Altuner *et al.*, 2020).

Los lípidos y proteínas son blancos importantes durante el estrés oxidante y la inflamación, un aumento en la producción de los radicales libres, de las ROS y RNS favorecen afectaciones importantes en el organismo, se conoce que el radical hidróxilo ($\text{OH}^\bullet$), el anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), el óxido nítrico (NO), así como el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) favorecen el proceso de la lipoperoxidación (McMurray *et al.*, 2016). Un aumento de los niveles del MDA y 4-HNE son altamente tóxicos para las células, ya que pueden favorecer procesos mutagénicos involucrados en el cáncer gástrico (Negre-Salvayre *et al.*, 2008; Grotto *et al.*, 2009; Ayala *et al.*, 2014). Así mismo, un aumento en los niveles de MDA y 4-HNE generan cambios que dañan irreversiblemente a las proteínas, promoviendo la formación de pentosidina,

carbonilos, proteínas entrecruzadas, etc, los cuales se forman a partir de la interacción de los diferentes residuos de aminoácidos con los productos clorados producidos por el aumento en la actividad de la MPO (Witko-Sarsat *et al.*, 1996; Barrera *et al.*, 2016). A la vez se ha reportado que la generación de los productos finales de glicación avanzada (AGEs) durante la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 se asocian con la modificación sobre las proteínas (Qais *et al.*, 2019), favoreciendo el aumento de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (AOPP). Por lo antes mencionado se reconoce a los AOPP como un importante mediador que favorece un proceso oxidante-inflamatorio que promueve la generación de cambios conformacionales, inactivación enzimática y alteraciones en la función celular (Capeillère-Blandin *et al.*, 2004; Ayala *et al.*, 2014; Akinrinde *et al.*, 2020). Se ha reportado que el aumento en el número de neutrófilos y otras células inmunológicas y junto con el aumento de la actividad de la MPO se asocia con el desarrollo de lesiones ateroscleróticas y de la nefritis glomerular. Así mismo, se ha identificado el potencial activador de los AOPP sobre los fagocitos (Capeillère-Blandin *et al.*, 2004). Además, se ha reconocido que a partir de aumento de los niveles del radical (OH^{*}) a partir de la reacción de Fenton actúa como un mecanismo que favorece la formación de los AOPP y con ello el aumento del estrés oxidante celular y la reducción de la actividad antioxidante (Bochi *et al.*, 2014).

La indometacina generó en las ratas obesas una reducción sobre la actividad de la COX-1, enzima constitutiva que se expresa en diferentes órganos bajo condiciones basales, permite la síntesis de diversos componentes que mantienen un funcionamiento protector en la mucosa gástrica. Por otro lado, la indometacina promovió el aumento de los niveles de la COX-2, enzima inducible en el estómago bajo condiciones de daño e inflamación ocasionado por el uso de dosis altas de los AINEs semiselectivos, por el consumo excesivo de alcohol y por el tipo de dieta. (Maity *et al.*, 2009; Chanudom y Tangpong, 2015; Bindu *et al.* 2020). Este desbalance propició la generación de daños más intensos en el estómago de las ratas obesas. Se conoce que las sintasas son específicas y dependen del estado en que se encuentren las células y sus receptores, para dar lugar a la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y prostaciclina bajo condiciones

basales o de daño en el organismo (Wang *et al.*, 2021). La inducción de la COX-2 da lugar a la generación de úlceras gástricas que favorecen la activación de rutas oxidantes-inflamatorias. Se conoce que los AINEs semiselectivos (indometacina, diclofenaco, naproxeno) favorecen la generación de ROS, RNS, TNF- α , IL-1 β , IL-6, así como el aumento de la lipoperoxidación (Cheng *et al.*, 2017). Además, la indometacina genera la reducción de los niveles de la prostaglandina E2 y de la prostaciclina I₂, vía inhibición de la COX-1, dichos compuestos poseen un efecto gastroprotector ya que reducen la secreción de HCl, incrementan el grosor de la capa de mucus, producen bicarbonato y mejoran el flujo sanguíneo en el estómago (Buttgereit *et al.*, 2001; Abdel-Tawab *et al.*, 2020). Por otro lado, la COX-1 esta involucrada en el mantenimiento de la agregación plaquetaria y de la protección de la mucosa gástrica (Suleyman *et al.*, 2010).

Durante la obesidad existe una modificación directa sobre los ácidos grasos presentes en la membrana celular, ya que se promueve la oxidación de estos por acción de diferentes ROS y RNS (OH $^{\bullet}$, O₂ $^{\bullet-}$, NO y el H₂O₂), se sabe que el AA y el ácido linoleico, son altamente susceptibles al ataque de los radicales libres (Hanna y Aziz Hafez, 2018). Aunado a la reducción de la actividad de la COX-1 y el aumento de la COX-2 se produce la activación de la cascada de la inflamación que sintetiza leucotrienos a partir de las diferentes isoformas de las lipoxigenasas. Debido a esto, la disposición elevada del AA y del ácido α -linolénico promueve la disponibilidad de la proteína activadora de la 5-LOX (FLAP) que induce la activación de la vía 5-LOX (Leval, 2002). La cual intensifica el proceso inflamatorio lo que sugiere un aumento en la generación de leucotrienos proinflamatorios a partir de diferentes células inmunológicas como los monocitos, eosinófilos y macrófagos promoviendo la sobreproducción de ROS, RNS y citocinas proinflamatorias (Bhattacharyya *et al.*, 2014). Además, se conoce que el uso de indometacina favorece el aumento de la actividad de la 5-LOX, favoreciendo la respuesta inflamatoria, ya que el leucotrieno B₄ favorece indirectamente el aumento del TNF- α a partir de los neutrófilos (Beserra *et al.*, 2011). Por otro lado, el leucotrieno B₄ tiene actividad vasoconstrictora, además aumenta la permeabilidad vascular y actúa como un potente agente quimiotáctico que favorece la migración y agregación de los neutrófilos con ello, promueve el

aumento de la actividad de la MPO generando daños más severos en el estómago de las ratas obesas tratadas con indometacina (Gil, 2002). Como se observó, la dieta utilizada *per se* intensificó la lipoperoxidación cuando se les administró la indometacina a las ratas obesas, dando lugar al aumento de los niveles del 4-HNE y MDA. Se conoce que el aumento de los productos de la LPO y del estrés oxidante de manera continua se asocia con el aumento en la expresión del gen 5-*lox*, a la vez dicha expresión promueve indirectamente la activación del factor nuclear kappa B (NFkB) (Burnett y Levi, 2012). Se conoce que el uso de dietas hipercalóricas favorece la lipoperoxidación celular en modelos de inducción de obesidad (Zhang *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2016). Así mismo, el uso de indometacina a dosis de (100 mg/kg) da lugar al aumento significativo sobre los productos de la lipoperoxidación (MDA y 4-HNE) en ratas administradas con el AINE lo que sugiere su potencial efecto negativo sobre el tracto gastrointestinal (Balaha *et al.*, 2022).

La obesidad es un factor que predispone al desarrollo de una gran cantidad de patologías de importancia médica a nivel mundial. Como se observó en el presente trabajo existió un efecto negativo que se intensificó por la administración de la indometacina en las ratas obesas, ya que el uso de la dieta hipercalórica potenció el aumento de los niveles de leptina, IL-6 y TNF- α . Por otro lado, promovió la reducción de los niveles de la adiponectina en el estómago. Se conoce que durante la obesidad se favorece el aumento del tejido adiposo lo que conlleva a que los adipocitos funcionen inadecuadamente, lo que da lugar al aumento de la generación y liberación de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 6, la interleucina 1 β , entre otras (Jadeja, 2011; Emílio-Silva *et al.*, 2020; Abdulmalek *et al.*, 2021). Un aumento de los niveles de IL-6 y TNF- α sugieren que en el estómago existe un proceso inflamatorio sobre la mucosa gástrica inducida por la indometacina en las ratas obesas, el cual se ve favorecido por la presencia de diferentes células inmunológicas en los cortes histológicos realizados (basófilos, macrófagos y neutrófilos, etc.) en el sitio dañado, esto conlleva a la generación excesiva de ROS y RNS que favorecen al daño directo de las biomoléculas, observando el aumento sobre los niveles de MDA, 4-HNE y AOPP que se observaron en el presente estudio y que se han reportado en trabajos donde se

favorece un estado proinflamatorio (Katary y Salahuddin, 2017; Eraslan *et al.*, 2020). Se conoce que en la cascada inflamatoria un aumento del TNF- α y de la IL-6, se asocian con la activación de las cinasas (IKK) que fosforilan a la cinasa (I κ B) la cual inhibe al factor nuclear kappa B (NF- κ B), por lo tanto, se libera el NF- κ B que se dirige al núcleo celular para activar genes diana que intensifican la respuesta (Shen y Pervaiz, 2006). A la vez se induce la sobreproducción de radicales libres y la disminución del sistema antioxidante (Santucci *et al.*, 1995; Suzuki *et al.*, 2001; Nabil *et al.*, 2021).

La leptina y la adiponectina son hormonas de gran interés durante la obesidad y sus complicaciones asociadas ya que regulan el metabolismo de lípidos y carbohidratos, el estrés oxidante y un estado crónico de inflamación, lo que incrementa el riesgo a desarrollar enfermedades cardiovasculares, diabetes, ciertos tipos de cáncer y repercutir en la calidad de vida de quien lo padece (Wlodarczyk y Nowicka, 2019). Cuando se acumula la grasa de manera excesiva en el organismo y en los órganos se genera la liberación de adipocinas y citocinas proinflamatorias a partir del tejido adiposo, se conoce que la hiperleptinemia se produce de manera proporcional a la cantidad de grasa en el organismo (Polyzos *et al.*, 2018). La hiperleptinemia favorece el estrés oxidante mitocondrial durante la obesidad ya que promueve la activación de la familia de enzimas (Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa NOX) la cual induce el aumento en la producción de intermediarios reactivos como el radical hidróxilo y el peróxido de hidrógeno (Fortuño *et al.*, 2010). Así mismo, da lugar al aumento del proceso de la lipoperoxidación y de la carbonilación de proteínas, a la vez se ha demostrado que la hiperleptinemia favorece la proliferación de monocitos y macrófagos y con ello generar el aumento de la producción de citocinas proinflamatorias, así como la reducción de la actividad antioxidante (Manna y Jain, 2015). Lo que indica que en el presente trabajo la HFSD utilizada y la indometacina indujeron el aumento de los niveles de la leptina en el estómago actuando como una adipocina proinflamatoria (Saucillo *et al.* 2014; Engin, 2017). Por otro lado, la adiponectina se expresa, se libera en los adipocitos y en el estómago de roedores, Así mismo los niveles de dicha adipocina son inversamente proporcionales a la cantidad de grasa en el organismo (Kentish *et al.*, 2015; Idrizaj

et al., 2018; Chait y Den Hartigh, 2020). Esta hormona es de gran importancia debido a la capacidad antiinflamatoria y antioxidante que posee, ya que se ha demostrado que durante la obesidad la disminución de la adiponectina favorece la reducción de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, así mismo, favorece el aumento de los niveles de la proteína C reactiva y de la IL-6 (Chen *et al.*, 2012; Matsuda y Shinomura, 2013). Así mismo, posee la capacidad de inhibir a diversas citocinas proinflamatorias como al TNF- α , estimula la producción y liberación de citocinas antiinflamatorias como la IL-10 y reduce la migración de células inmunológicas como los macrófagos (Polyzos *et al.* 2018). En el presente estudio se registra por primera vez que la obesidad y el uso de la indometacina favorecen la reducción de los niveles de la adiponectina en el estómago. Se ha demostrado que durante la obesidad y la inflamación se produce una disminución de los niveles de dicha hormona, ya que la presencia de células inmunológicas y sus productos (TNF- α , IL-6, IL-18, leptina) favorecen la disminución en la expresión y liberación de la adiponectina en los adipocitos (Guerre-Millo, 2008; Wang y Dubois, 2012; Parida *et al.*, 2019). Además, al reducir los niveles de la adiponectina disminuye su efecto inhibidor sobre el TNF- α , citocina que al aumentar sus niveles inhibe la producción de la adiponectina (Sethi y Hotamisligil, 2021), se reducen los niveles de la IL-10 con actividad antiinflamatoria y se pierde la actividad benéfica de dicha hormona (Polyzos *et al.*, 2018) dichos efectos son mecanismos que favorecieron el daño en las ratas alimentadas con la HFSD y la indometacina en el presente trabajo.

En el presente trabajo el uso del extracto etanólico de hojas de *Callistemon citrinus* confirma su actividad gastroprotectora y antiinflamatoria debido a sus fitoconstituyentes siendo los más abundantes los monoterpenos (1,8-cineol, el limoneno y el α -terpineol), además de constituirse por ácido gálico, elágico y floroglucinol, cuyas actividades biológicas van desde la antibacterial, antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética, entre otras (Petronilho *et al.*, 2013; Fayemi *et al.*, 2019; Shen *et al.*, 2017; Laganà *et al.*, 2020; Ghosh *et al.*, 2021). Como se observó los compuestos presentes en el extracto promovieron una actividad sinérgica que favoreció en primera instancia la reducción de los parámetros morfológicos y

bioquímicos en las ratas alimentadas con la dieta rica en grasa y sacarosa. Dicho efecto benéfico se le atribuye a la gran capacidad de sus constituyentes ya que se ha reportado que el extracto, así como sus monoterpenos mayoritarios, disminuyen la ganancia de peso, posee actividad antioxidante en diferentes órganos (corazón, hígado y riñón), regulan los niveles de glucosa, TGs y colesterol, así mismo reduce a diversas citocinas proinflamatorias en el hígado de ratas obesas (Ayala-Ruiz *et al.*, 2022; Ortega-Pérez *et al.*, 2022). Además, promovió la protección de las diferentes zonas presentes en el estómago, protegiendo a la mucosa gástrica efecto atribuido al 1,8-cineol y al α -terpineol cuya actividad citoprotectora y gastroprotectora fue determinada por Souza *et al.*, 2011, Rocha-Caldas *et al.*, 2015, Khaleel *et al.*, 2018, reduciendo los daños ocasionados por la indometacina, etanol y etanol/HCl, respectivamente. Se destaca que en diversos extractos de plantas y sus respectivos metabolitos secundarios poseen la capacidad de proteger a las células y de favorecer la recuperación de tejidos mediante la regeneración celular continua (Lim *et al.*, 2020; Nabil *et al.*, 2021; Duan *et al.*, 2022). Además, se ha reconocido que el ácido gálico, elálgico y sus derivados poseen un efecto inhibitor sobre la actividad de la bomba de protones (H^+ , K^+ -ATPasa) en las células parietales, lo que reduce la acidez en el estómago, favorece la actividad antioxidante y reduce el proceso de lipoperoxidación (Farzaei *et al.*, 2015; Pereira Barbosa *et al.*, 2019) protegiendo de los daños inducidos por etanol sobre la mucosa gástrica.

Lo que sugiere que el extracto mantiene los factores protectores de la mucosa gástrica (mucus y bicarbonatos) mediante el aumento del nivel de la COX-1 y la reducción del nivel de la 5-LOX, reduciendo la producción de los leucotrienos que intensifican la respuesta inflamatoria, efecto atribuido al limoneno y al ácido elálgico ya que poseen la capacidad de reducir los niveles del LTB_4 (Farzaei *et al.*, 2015; Vieira *et al.*, 2018). Reduce el impacto agresivo de los factores que predisponen a la afectación de la mucosa gástrica (prostanoides, aumento de la acidez, apoptosis, etc). De acuerdo con la actividad enzimática evaluada el extracto de *C. citrinus* redujo los niveles de la MPO y COX-2, lo que sugiere que el mecanismo de acción que produce el extracto es la capacidad de disminuir la generación de productos clorados, la infiltración inmunológica de células en la mucosa gástrica, la síntesis de

prostaglandinas que favorecen el estado inflamatorio, además de poseer actividad analgésica dichos efectos se le han atribuido al limoneno, al α -terpineol y al 1,8-cineol (Kawata *et al.*, 2008; Yoon *et al.*, 2010; Beer *et al.*, 2017; Khaleel *et al.*, 2018; Pop *et al.*, 2020).

Lo antes mencionado indica que el extracto aunado a la actividad antioxidante que posee promueve una actividad antiinflamatoria. Cabe destacar que, de acuerdo con los biomarcadores de la inflamación analizados, el extracto de *C. citrinus* posee la capacidad de reducir el nivel del TNF- α efecto atribuible al limoneno y α -terpineol, efecto reportado en un modelo de inducción de colitis (Alexandrino *et al.*, 2020). Así mismo, una disminución del TNF- α se asocia con la reducción del desarrollo de enfermedades asociadas a la inflamación del tracto gastrointestinal, el cual se relaciona con la reducción de la microcirculación, esta última mantiene la recuperación de daños gástricos cuando se mantiene funcional (El-Maraghy *et al.*, 2015). La disminución sobre la IL-6 es atribuible al limoneno cuya actividad se reportó en modelos donde se inducen daños sobre el tracto gastrointestinal mediante etanol y ácido acético (Anandakumar *et al.*, 2020). Por lo tanto, una reducción en los niveles de la IL-6 favorece la disminución de diferentes células inmunológicas (neutrófilos, macrófagos y linfocitos), así mismo da lugar a la reducción de agentes oxidantes, enzimas lisosomales que favorecen en daño local sobre los tejidos en las úlceras gástricas (Abdul-Aziz, 2011).

La reducción de los AOPP y del (MDA/4-HNE) se atribuye a la actividad antioxidante de los compuestos presentes en *C. citrinus*, ya que se ha reportado que dichos compuestos reducen los niveles de carbonilación de proteínas (PCO) y sobre los productos de la lipoperoxidación en hígado, riñón y corazón de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa (Ortega-Pérez *et al.*, 2022). Por otro lado, la reducción sobre los niveles de leptina y el aumento de la adiponectina puede asociarse al efecto benéfico de los compuestos presentes en el extracto de *C. citrinus* ya que favorecieron la reducción de la deposición de grasa y de las citocinas proinflamatorias (TNF- α e IL-6) que inducen la hiperleptinemia e hipoadiponectinemia. Al mismo tiempo dichas observaciones permiten reconocer

que los componentes de *C. citrinus* poseen la capacidad de actuar sobre diferentes rutas que involucren la expresión de diversos factores que modulan e intensifican la respuesta inflamatoria como al factor nuclear kappa B (NF- κ B) en el tejido adiposo, en el estómago y en el hígado, principalmente (Vieira *et al.*, 2018). Además, la activación del NF- κ B se asocia con un efecto sinérgico que genera el aumento de diversas moléculas como la IL-2, la IL-6 y enzimas como la iNOS y la COX-2, por lo que un efecto que reduzca la activación de dicho factor favorece un efecto benéfico que reduce a las moléculas mencionadas, reduciendo así el daño inflamatorio, efecto atribuido al fármaco omeprazol, a los terpenos patchulol y α -terpineol (Yadav *et al.*, 2012; Shen *et al.*, 2017; Xie *et al.*, 2020; Bai *et al.*, 2021). Mientras que el limoneno redujo el proceso inflamatorio inducido por el ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico durante la colitis en roedores y en respuesta al contacto entre macrófagos con el lipopolisacárido (LPS) (Yoon *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2018). Así mismo reduce la migración de células inmunológicas lo que conlleva a la reducción en la liberación de las citocinas proinflamatorias, así como la reducción en la producción de ROS y RNS y la disminución de daños sobre los lípidos y proteínas. Por último, al ácido gálico y elágico se le atribuyen efectos benéficos en el tracto gastrointestinal mediante la regulación de mediadores importantes dentro de la respuesta inflamatoria (Kahkeshani *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2020), así mismo, al 1,8-cineol, al limoneno y al α -terpineol se les atribuyen efectos benéficos antioxidantes de defensa en modelos que involucren un estado crónico de inflamación (Murali *et al.*, 2013; Viera *et al.*, 2017).

Conclusión

La administración del extracto etanólico de hoja de *Callistemon citrinus* favoreció la reducción de los parámetros morfológicos (índice de Lee, peso final, deposición de grasa) y de los parámetros bioquímicos (colesterol, glucosa y triacilglicéridos) en las ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y sacarosa. Por otro lado, el extracto de *C. citrinus* disminuye el proceso inflamatorio del estómago, intensificado por la indometacina en las ratas obesas, las cuales mostraron un aumento mayor de las enzimas y biomarcadores involucrados durante la inflamación en comparación a las ratas alimentadas con una dieta estándar de roedor. Lo que sugiere que el extracto

de *Callistemon citrinus* posee un alto potencial farmacológico como una alternativa complementaria y alternativa dada su actividad antiinflamatoria y gastroprotectora.

Literatura citada

- Abdel-Tawab, M. S., Mostafa Tork, O., Mostafa-Hedeab, G., Ewaiss Hassan, M., & Azmy Elberry, D. (2020). Protective Effects of Quercetin and Melatonin on Indomethacin Induced Gastric Ulcers in Rats. *Reports of biochemistry & molecular biology*, 9(3), 278– 290. <https://doi.org/10.29252/rbmb.9.3.278>
- Abdulmalek, S. A., Fessal, M., & El-Sayed, M. (2021). Effective amelioration of hepatic inflammation and insulin response in high fat diet-fed rats via regulating AKT/mTOR signaling: Role of *Lepidium sativum* seed extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 266, 113439. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113439>
- Akinrinde, A. S., Soetan, K. O., & Tijani, M. O. (2022). Exacerbation of diclofenac-induced gastroenterohepatic damage by concomitant exposure to sodium fluoride in rats: protective role of luteolin. *Drug and chemical toxicology*, 45(3), 999–1011. <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1802478>
- Alexandrino, T. D., Moya, A. M. T. M., de Medeiros, T. D. M., Morari, J., Velloso, L. A., Leal, R. F., Bicas, J. L. (2020). Anti-inflammatory effects of monoterpenoids in rats with TNBS- induced colitis. *PharmaNutrition*, 14, 100240. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2020.100240>
- Alkhudhayri, D. A., Osman, M. A., Alshammari, G. M., Al Maiman, S. A., & Yahya, M. A. (2021). *Moringa peregrina* leaf extracts produce anti-obesity, hypoglycemic, anti-hyperlipidemic, and hepatoprotective effects on high-fat diet fed rats. *Saudi journal of biological sciences*, 28(6), 3333–3342. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.078>
- Alluri, V. K., Kundimi, S., Sengupta, K., Golakoti, T., & Kilari, E. K. (2020). An Anti-Inflammatory Composition of *Boswellia serrata* Resin Extracts Alleviates Pain and Protects Cartilage in Monoiodoacetate-Induced Osteoarthritis in Rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 7381625. <https://doi.org/10.1155/2020/7381625>
- Al-Rehaily, A. J., Al-Howiriny, T. A., Al-Sohaibani, M. O., & Rafatullah, S. (2002). Gastroprotective effects of 'AmLa' *Emblica officinalis* on *in vivo* test models in rats. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 9(6), 515–522. <https://doi.org/10.1078/09447110260573146>
- Altuner, D., Kaya, T., Suleyman, H. (2019). The Protective Effect of Lercanidipine on Indomethacin-Induced Gastric Ulcers in Rats. *Brazilian Archives of Biology and technology*, 63, e20190311, <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2020190311>
- Anandakumar, P., Kamaraj, S., & Vanitha, M. K. (2021). D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. *Journal of food biochemistry*, 45(1), e13566. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13566>
- Andrews, P. C., & Krinsky, N. I. (1986). Human myeloperoxidase and hemi-myeloperoxidase. *Methods in enzymology*, 132, 369–378. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(86\)32022-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(86)32022-6)

- Arafa, E. A., Hassan, W., Murtaza, G., & Buabeid, M. A. (2020). *Ficus carica* and *Sizigium cumini* Regulate Glucose and Lipid Parameters in High-Fat Diet and Streptozocin-Induced Rats. *Journal of diabetes research*, 2020, 6745873. <https://doi.org/10.1155/2020/6745873>
- Aslani, M. R., Keyhanmanesh, R., Khamaneh, A. M., Ebrahimi Saadatlou, M. A., Mesgari Abbasi, M., & Alipour, M. R. (2016). Lung Altered Expression of IL-1 β mRNA and Its Signaling Pathway Molecules in Obese-asthmatic Male Wistar Rats. *Iranian journal of allergy, asthma, and immunology*, 15(3), 183–197.
- Athaydes, B. R., Alves, G. M., Assis, A., Gomes, J., Rodrigues, R. P., Campagnaro, B. P., Nogueira, B. V., Silveira, D., Kuster, R. M., Pereira, T., Kitagawa, R. R., & Gonçalves, R. (2019). Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food research international* (Ottawa, Ont.), 119, 751–760. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.057>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Azad, R., Babu, N. K., Gupta, A. D., & Reddanna, P. (2018). Evaluation of anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Premna integrifolia* extracts and assay-guided isolation of a COX-2/5-LOX dual inhibitor. *Fitoterapia*, 131, 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.10.016>
- Aziz, R. S., Siddiqua, A., Shahzad, M., Shabbir, A., & Naseem, N. (2019). Oxyresveratrol ameliorates ethanol-induced gastric ulcer via downregulation of IL-6, TNF- α , NF- κ B, and COX-2 levels, and upregulation of TFF-2 levels. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 110, 554–560. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.002>
- Bai, J., Zhang, Y., Tang, C., Hou, Y., Ai, X., Chen, X., Zhang, Y., Wang, X., & Meng, X. (2021). Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 133, 110985. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110985>
- Balaha, M. F., Almalki, Z. S., Alahmari, A. K., Ahmed, N. J., & Balaha, M. F. (2022). AMPK/mTOR-driven autophagy & Nrf2/HO-1 cascade modulation by amentoflavone ameliorates indomethacin-induced gastric ulcer. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 151, 113200. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113200>
- Barrera, G., Gentile, F., Pizzimenti, S., Canuto, R. A., Daga, M., Arcaro, A., Cetrangolo, G. P., Lepore, A., Ferretti, C., Dianzani, C., & Muzio, G. (2016). Mitochondrial Dysfunction in Cancer and Neurodegenerative Diseases: Spotlight on Fatty Acid Oxidation and Lipoperoxidation Products. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 5(1), 7. <https://doi.org/10.3390/antiox5010007>
- Beer A. M., Zagorchev, P., Filipova, D. M., Lukanov, J. (2017) Effects of 1,8-Cineole on the Activity of Cyclooxygenase and Cyclooxygenase 1 and Cyclooxygenase 2 Isoforms. *Natural Products Chemistry and Research* 5: 253 <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000253>
- Beserra, A. M., Calegari, P. I., Souza, M.doC., Dos Santos, R. A., Lima, J. C., Silva, R. M., Balogun, S. O., & Martins, D. T. (2011). Gastroprotective and ulcer-

- healing mechanisms of ellagic acid in experimental rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(13), 6957–6965. <https://doi.org/10.1021/jf2003267>
- Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*, 94(2), 329–354. <https://doi.org/10.1152/physrev.00040.2012>
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology*, 180, 114147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Bjarnason, I., Scarpignato, C., Holmgren, E., Olszewski, M., Rainsford, K. D., & Lanas, A. (2018). Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti- Inflammatory Drugs. *Gastroenterology*, 154(3), 500–514. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.10.049>
- Bochi, G.V., Torbitz, V.D., Cargnin, L.P. et al., (2014). An Alternative Pathway Through the Fenton Reaction for the Formation of Advanced Oxidation Protein Products, a New Class of Inflammatory Mediators. *Inflammation* 37, 512–521 (2014). <https://doi.org/10.1007/s10753-013-9765-1>
- Boyacioglu, M., Kum, C., Sekkin, S., Yalinkilinc, H. S., Avci, H., Epikmen, E. T., & Karademir, U. (2016). The effects of lycopene on DNA damage and oxidative stress on indomethacin- induced gastric ulcer in rats. *Clinical nutrition* (Edinburgh, Scotland), 35(2), 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.03.006>
- Boylan, M. R., Khalili, H., Huang, E. S., & Chan, A. T. (2014). Measures of adiposity are associated with increased risk of peptic ulcer. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 12(10), 1688–1694. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.03.021>
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Burnett, B. P., & Levy, R. M. (2012). 5-Lipoxygenase metabolic contributions to NSAID-induced organ toxicity. *Advances in therapy*, 29(2), 79–98. <https://doi.org/10.1007/s12325-011-0100-7>
- Buttgereit, F., Burmester, G. R., & Simon, L. S. (2001). Gastrointestinal toxic side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2-specific inhibitors. *The American journal of medicine*, 110 Suppl 3A, 13S–9S. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(00\)00728-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(00)00728-2)
- Capeillère-Blandin, C., Gausson, V., Descamps-Latscha, B., & Witko-Sarsat, V. (2004). Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochimica et biophysica acta*, 1689(2), 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.02.008>
- Chanudom, L., & Tangpong, J. (2015). Anti-Inflammation Property of *Syzygium cumini* (L.) Skeels on Indomethacin-Induced Acute Gastric Ulceration. *Gastroenterology research and practice*, 2015, 343642. <https://doi.org/10.1155/2015/343642>
- Chen S-J, Yen C-H, Huang Y-C, Lee B-J, Hsia S, Lin P-T (2012) Relationships between Inflammation, Adiponectin, and Oxidative Stress in Metabolic

- Syndrome. *PLoS ONE* 7(9): e45693. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045693>
- Cheng, Y. T., Lu, C. C., & Yen, G. C. (2017). Phytochemicals enhance antioxidant enzyme expression to protect against NSAID-induced oxidative damage of the gastrointestinal mucosa. *Molecular nutrition & food research*, 61(6), 10.1002/mnfr.201600659. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600659>
- de Cássia Dos Santos, R., Bonamin, F., Périco, L. L., Rodrigues, V. P., Zanatta, A. C., Rodrigues, C. M., Sannomiya, M., Dos Santos Ramos, M. A., Bonifácio, B. V., Bauab, T. M., Tamashiro, J., da Rocha, L., Vilegas, W., & Hiruma-Lima, C. A. (2019). *Byrsonima intermedia* A. Juss partitions promote gastroprotection against peptic ulcers and improve healing through antioxidant and anti-inflammatory activities. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 111, 1112–1123. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.132>
- El-Ashmawy, N. E., Khedr, E. G., El-Bahrawy, H. A., & Selim, H. M. (2016). Nebivolol prevents indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of immunotoxicology*, 13(4), 580–589. <https://doi.org/10.3109/1547691X.2016.1142488>
- Emílio-Silva, M. T., Rodrigues, V. P., Bueno, G., Ohara, R., Martins, M. G., Horta-Júnior, J., Branco, L., Rocha, L., & 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(10), 1454. <https://doi.org/10.3390/biom10101454>
- Engin A. (2017). The Pathogenesis of Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. *Advances in experimental medicine and biology*, 960, 221–245. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_9
- Eraslan, E., Tanyeli, A., Güler, M. C., Kurt, N., & Yetim, Z. (2020). Agomelatine prevents indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacological reports: PR*, 72(4), 984–991. <https://doi.org/10.1007/s43440-019-00049-2>
- Fabri, R. L., Garcia, R. A., Florêncio, J. R., de Castro Campos Pinto, N., de Oliveira, L. G., Aguiar, J. A., Ribeiro, A., & Scio, E. (2014). Anti-inflammatory and antioxidative effects of the methanolic extract of the aerial parts of *Mitracarpus frigidus* in established animal models. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 66(5), 722–732. <https://doi.org/10.1111/jphp.12189>
- Farzaei, M. H., Abdollahi, M., & Rahimi, R. (2015). Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. *World journal of gastroenterology*, 21(21), 6499–6517. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i21.6499>
- Fayemi, P. O., Ozturk, I., Kaan, D., Özcan, S., Yerer, M. B., Dokumaci, A. H., Yetim, H. (2019). Bioactivities of phytochemicals in *Callistemon citrinus* against multi-resistant foodborne pathogens, alpha glucosidase inhibition and MCF-7 cancer cell line. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 764–778. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1616615>
- Fortuño, A., Bidegain, J., Baltanás, A., Moreno, M. U., Montero, L., Landecho, M. F., Beloqui, O., Díez, J., & Zalba, G. (2010). Is leptin involved in phagocytic NADPH oxidase overactivity in obesity? Potential clinical implications. *Journal of hypertension*, 28(9), 1944–1950. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32833c21af>
- Ghaeni Pasavei, A., Mohebbati, R., Jalili-Nik, M., Mollazadeh, H., Ghorbani, A.,

- Nosrati Tirkani, A., Taraz Jamshidi, S., Hashemy, S. I., Heidarian Miri, H., & Soukhtanloo, M. (2021). Effects of *Rhus coriaria* L. hydroalcoholic extract on the lipid and antioxidant profile in high fat diet-induced hepatic steatosis in rats. *Drug and chemical toxicology*, 44(1), 75–83. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1533024>
- Ghosh, P., Goswami, S., Roy, S., Das, R., Chakraborty, T., & Ray, S. (2021). Comparative *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of leaf extract fractions of Crimson bottlebrush, *Callistemon citrinus* (Curtis.) Skeels. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.03.26.436274>
- Ghosh, R., Alajbegovic, A., & Gomes, A. V. (2015). NSAIDs and Cardiovascular Diseases: Role of Reactive Oxygen Species. *Oxidative medicine and cellular longevity*, <https://doi.org/10.1155/2015/536962>
- Gil A. (2002). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 56(8), 388–396. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(02\)00256-1](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(02)00256-1)
- Guerre-Millo M. (2008). Adiponectin: an update. *Diabetes & metabolism*, 34(1), 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2007.08.002>
- Maturana, R., So, A., Gritsenko, K. (2019). Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs). In: Khelemsky, Y., Malhotra, A., Gritsenko, K. (eds) *Academic Pain Medicine*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18005-8_13
- Hanasand, M., Omdal, R., Norheim, K. B., Gøransson, L. G., Brede, C., & Jonsson, G. (2012). Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. *Clinica Chimica Acta*, 413(9-10), 901–906. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.01.038>
- Hariri, N., & Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews*, 23(2), 270–299. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000168>
- Howes, M-J. R. (2018). Phytochemicals as Anti-inflammatory Nutraceuticals and Phytopharmaceuticals. *Immunity and Inflammation in Health and Disease*, 363–388. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805417-8.00028-7>
- Hunt, R. H., Camilleri, M., Crowe, S. E., El-Omar, E. M., Fox, J. G., Kuipers, E. J., Malfertheiner, P., McColl, K. E., Pritchard, D. M., Rugge, M., Sonnenberg, A., Sugano, K., & Tack, J. (2015). The stomach in health and disease. *Gut*, 64(10), 1650–1668. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307595>
- Ibrahim, R. R., Ibrahim, H. A., & Moharram, F. A. (2020). Essential oil composition of two plants belonging to family Myrtaceae grown in Egypt prepared by different methods and their antibacterial activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(1), 133–137.
- Idrizaj, E., Garella, R., Castellini, G., Mohr, H., Pellegata, N. S., Francini, F., Ricca, V., Squecco, R., & Baccari, M. C. (2018). Adiponectin affects the mechanical responses in strips from the mouse gastric fundus. *World journal of gastroenterology*, 24(35), 4028–4035. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i35.4028>
- Jadeja, R. N., Thounaojam, M. C., Ramani, U. V., Devkar, R. V., & Ramachandran, A. V. (2011). Anti-obesity potential of *Clerodendron glandulosum*. Coleb leaf aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2), 338–343. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.03.020>

- Jiang, ZY., Woollard, A.C.S. & Wolff, S.P. (1991). Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids* 26, 853–856. <https://doi.org/10.1007/BF02536169>
- Johnson, M. & Bradford, C. (2014). Omega-3, Omega-6 and Omega-9 Fatty Acids: Implications for Cardiovascular and Other Diseases. *Journal of Glycomics & Lipidomics*, 4(4), <https://doi.org/10.4172/2153-0637.1000123>
- Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S. S., Bahramsoltani, R., Naseri, R., Momtaz, S., Abbasabadi, Z., Rahimi, R., Farzaei, M. H., & Bishayee, A. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(3), 225–237. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.32806.7897>
- Kangwan, N., Pintha, K., Lekawanvijit, S., & Suttajit, M. (2019). Rosmarinic Acid Enriched Fraction from *Perilla frutescens* Leaves Strongly Protects Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *BioMed research international*, 9514703. <https://doi.org/10.1155/2019/9514703>
- Kasprzak, K., Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczuk, T., Kuboń, M., & Oniszczuk, A. (2018). Secondary Metabolites, Dietary Fiber and Conjugated Fatty Acids as Functional Food Ingredients against Overweight and Obesity. *Natural Product Communications*. <https://doi.org/10.1177/1934578X1801300836>
- Kawata, J., Kameda, M., & Miyazawa, M. (2007). Cyclooxygenase-2 inhibitory effects and composition of the volatile oil from the dried roots of *Lithospermum erythrorhizon*. *Journal of Natural Medicines*, 62, 239–243.
- Kentish, S. J., Ratcliff, K., Li, H., Wittert, G. A., & Page, A. J. (2015). High fat diet induced changes in gastric vagal afferent response to adiponectin. *Physiology & behavior*, 152(Pt B), 354–362. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.016>
- Khaleel, C., Tabanca, N., & Buchbauer, G. (2018). α-Terpineol, a natural monoterpene: A review of its biological properties. *Open Chemistry*, 16(1), 349–361. <https://doi.org/10.1515/chem-2018-0040>
- Kumar, K. A., Reddy, T. C., Reddy, G. V., Reddy, D. B., Mahipal, S. V., Sinha, S., Gaikwad, A. N., & Reddanna, P. (2011). High-throughput screening assays for cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase, the targets for inflammatory disorders. *Indian journal of biochemistry & biophysics*, 48(4), 256–261.
- Kumar, R., Gupta, A., Singh, A. K., Bishayee, A., & Pandey, A. K. (2020). The Antioxidant and Antihyperglycemic Activities of Bottlebrush Plant (*Callistemon lanceolatus*) Stem Extracts. *Medicines* (Basel, Switzerland), 7(3), 11. <https://doi.org/10.3390/medicines7030011>
- Laganà, G., Barreca, D., Smeriglio, A., Germanò, M. P., D'Angelo, V., Calderaro, A., Bellocco, E., & Trombetta, D. (2020). Evaluation of Anthocyanin Profile, Antioxidant, Cytoprotective, and Anti-Angiogenic Properties of *Callistemon citrinus* Flowers. *Plants* (Basel, Switzerland), 9(8), 1045. <https://doi.org/10.3390/plants9081045>
- Larayetan, R. A., Okoh, O. O., Sadimenko, A., & Okoh, A. I. (2017). Terpene constituents of the aerial parts, phenolic content, antibacterial potential, free radical scavenging and antioxidant activity of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels (Myrtaceae) from Eastern Cape Province of South Africa. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 292.

- <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1804-2>
- Leval, X.d, Julemont, F., Delarge, J., Pirotte, B., & Dogne, J. M. (2002). New trends in dual 5-LOX/COX inhibition. *Current medicinal chemistry*, 9(9), 941–962. <https://doi.org/10.2174/0929867024606713>
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *International journal of molecular sciences*, 20(9), 2358. <https://doi.org/10.3390/ijms20092358>
- López-Mejía, A., Ortega-Pérez, L. G., Godínez-Hernández, D., Nateras-Marin, B., Meléndez- Herrera, E., & Rios-Chavez, P. (2019). Chemopreventive effect of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels against colon cancer induced by 1,2-dimethylhydrazine in rats. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 145(6), 1417–1426. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02905-3>
- López-Mejía, A., Ortega-Pérez, L. G., Magaña-Rodríguez, O. R., Ayala-Ruiz, L. A., Piñón-Simental, J. S., Hernández, D. G., & Rios-Chavez, P. (2021). Protective effect of *Callistemon citrinus* on oxidative stress in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 142, 112070. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112070>
- Luo, C., Chen, H., Wang, Y., Lin, G., Li, C., Tan, L., Su, Z., Lai, X., Xie, J., & Zeng, H. (2018). Protective effect of coptisine free base on indomethacin-induced gastric ulcers in rats: Characterization of potential molecular mechanisms. *Life sciences*, 193, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.12.004>
- Maity, P., Bindu, S., Dey, S., Goyal, M., Alam, A., Pal, C., Bandyopadhyay, U. (2009). Melatonin reduces indomethacin-induced gastric mucosal cell apoptosis by preventing mitochondrial oxidative stress and the activation of mitochondrial pathway of apoptosis. *Journal of Pineal Research*, 46(3), 314–323. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2009.00663.x>
- Marquez, L. A., & Dunford, H. B. (1997). Mechanism of the oxidation of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine by myeloperoxidase determined by transient- and steady-state kinetics. *Biochemistry*, 36(31), 9349–9355. <https://doi.org/10.1021/bi970595j>
- Matsuda, M., & Shimomura, I. (2013). Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obesity research & clinical practice*, 7(5), e330–e341. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2013.05.004>
- McMurray, F., Patten, D. A., & Harper, M. E. (2016). Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in Obesity-Recent Findings and Empirical Approaches. *Obesity* (Silver Spring, Md.), 24(11), 2301–2310. <https://doi.org/10.1002/oby.21654>
- Minaiyan, M., Sadraei, H., Yousefi, I., Sajjadi, S. E., & Talebi, A. (2021). Evaluation of the effect of hydroalcoholic and flavonoid-enriched extracts of *Dracocephalum kotschy* on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Research in pharmaceutical sciences*, 16(2), 141–152. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.310521>
- Murakami, K., Okajima, K., Harada, N., Isobe, H., Liu, W., Johno, M., & Okabe, H. (1999). Plautol prevents indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats by inhibiting neutrophil activation. *Alimentary pharmacology &*

- therapeutics*, 13(4), 521–530. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.1999.00481.x>
- Murali, R., Karthikeyan, A., & Saravanan, R. (2013). Protective effects of D-limonene on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 112(3), 175–181. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12010>
- Nabil, M., El Raey, M. A., Abdo, W., Abdelfattah, M., El-Shazly, A. M., Sobeh, M., & Mahmoud, M. F. (2021). Gastro-Protective Effects of *Albizia anthelmintica* Leaf Extract on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Wistar Rats: In Silico and In Vivo Studies. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 10(2), 176. <https://doi.org/10.3390/antiox10020176>
- Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. (22 de enero del 2023). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Oishi, J. C., Castro, C. A., Silva, K. A., Fabricio, V., Cárnio, E. C., Phillips, S. A., Duarte, A., & Rodrigues, G. J. (2018). Endothelial Dysfunction and Inflammation Precedes Elevations in Blood Pressure Induced by a High-Fat Diet. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 110(6), 558–567. <https://doi.org/10.5935/abc.20180086>
- Ortega-Pérez, L. G., Piñón-Simental, J. S., Magaña-Rodríguez, O. R., López-Mejía, A., Ayala-Ruiz, L. A., García-Calderón, A. J., Godínez-Hernández, D., & Rios-Chavez, P. (2022). Evaluation of the toxicology, anti-lipase, and antioxidant effects of *Callistemon citrinus* in rats fed with a high fat-fructose diet. *Pharmaceutical biology*, 60(1), 1384–1393. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2099907>
- Parida, S., Siddharth, S., & Sharma, D. (2019). Adiponectin, Obesity, and Cancer: Clash of the Bigwigs in Health and Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2519. <https://doi.org/10.3390/ijms20102519>
- Park, J. U., Kang, J. H., Rahman, M., Hussain, A., Cho, J. S., & Lee, Y. I. (2019). Gastroprotective Effects of Plants Extracts on Gastric Mucosal Injury in Experimental Sprague-Dawley Rats. *BioMed research international*, 2019, 8759708. <https://doi.org/10.1155/2019/8759708>
- Pereira Barbosa, J. A., Nascimento Santana, M. A., Campos Leite, T. C., de Oliveira, T. B., Barreto Mota, F. V., Gomes Alves Bastos, I. V., Corrêa, A. J. C., de Amorim, E. L. C., Cardoso Vieira, J. R., Sarmento Silva, T. M., Bandeira Delmiro Santana, A. L., do Nascimento, M. S., & da Silva, T. G. (2019). Gastroprotective effect of ethyl acetate extract from *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman and underlying mechanisms. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 112, 108582. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.01.043>
- Peskar, B. M., Ehrlich, K., & Peskar, B. A. (2002). Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 301(3), 969–974. <https://doi.org/10.1124/jpet.301.3.969>
- Petronilho, S., Rocha, S. M., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., & Rios-Chavez, P. (2013). Assessment of the terpenic profile of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels from Mexico. *Industrial Crops and Products*, 46, 369–379. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.012>
- Petrovic, N., & Murray, M. (2010). Using N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine

- (TMPD) to assay cyclooxygenase activity *in vitro*. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 594, 129–140. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-411-1_9
- Polat, B., Suleyman, H., & Alp, H. H. (2010). Adaptation of rat gastric tissue against indomethacin toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 186(1), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.041>
- Pop, R. M., Sabin, O., Suci, Ș., Vesa, S. C., Socaci, S. A., Chedea, V. S., Bocsan, I. C., & Buzoianu, A. D. (2020). *Nigella Sativa*'s Anti-Inflammatory and Antioxidative Effects in Experimental Inflammation. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 9(10), 921. <https://doi.org/10.3390/antiox9100921>
- Rahman, M. M., Alam, M. N., Ulla, A., Sumi, F. A., Subhan, N., Khan, T., Sikder, B., Hossain, H., Reza, H. M., & Alam, M. A. (2017). Cardamom powder supplementation prevents obesity, improves glucose intolerance, inflammation and oxidative stress in liver of high carbohydrate high fat diet induced obese rats. *Lipids in health and disease*, 16(1), 151. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0539-x>
- Roberts, C. K., Barnard, R. J., Sindhu, R. K., Jurczak, M., Ehdaie, A., & Vaziri, N. D. (2005). A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction and oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md: 1985), 98(1), 203–210. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00463.2004>
- Rocha Caldas, G. F., Oliveira, A. R., Araújo, A. V., Lafayette, S. S., Albuquerque, G. S., Silva- Neto, J., Costa-Silva, J. H., Ferreira, F., Costa, J. G., & Wanderley, A. G. (2015). Gastroprotective Mechanisms of the Monoterpene 1,8-Cineole (Eucalyptol). *PloS one*, 10(8), e0134558. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134558>
- Ruiz-Hurtado, P. A., Garduño-Siciliano, L., Domínguez-Verano, P., Balderas-Cordero, D., Gorgua-Jiménez, G., Canales-Álvarez, O., Canales-Martínez, M. M., & Rodríguez- Monroy, M. A. (2021). Propolis and Its Gastroprotective Effects on NSAID-Induced Gastric Ulcer Disease: A Systematic Review. *Nutrients*, 13(9), 3169. <https://doi.org/10.3390/nu13093169>
- Qais, F. A., Khan, M. S., Althubiani, A. S., Al-Ghamdi, S. B., & Ahmad, I. (2019). Understanding Biochemical and Molecular Mechanism of Complications of Glycation and Its Management by Herbal Medicine. *New Look to Phytomedicine*, 331–366. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814619-4.00013-6>
- Sabiu, S., Garuba, T., Sunmonu, T., Ajani, E., Sulyman, A., Nurain, I., & Balogun, A. (2015). Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Protective roles of *Spondias mombin* and *Ficus exasperata*. *Toxicology reports*, 2, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.01.002>
- Saeidi, J., Motaghipur, R., Sepehrian, A., Mohtashami, M., Forooghi Nia, F., & Ghasemi, A. (2020). Dietary fats promote inflammation in Wistar rats as well as induce proliferation, invasion of SKOV3 ovarian cancer cells. *Journal of food biochemistry*, 44(5), e13177. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13177>
- Sainy, J., Mishra, G.P., Sharma, R. et al., 2-Amino-5-sulfany-1,3,4-thiadiazoles: a novel series of anti-inflammatory and analgesic agents. *Pharm Chem J* 43, 19–24 (2009). <https://doi.org/10.1007/s11094-009-0236-9>
- Sáinz, N., Barrenetxe, J., Moreno-Aliaga, M. J., & Martínez, J. A. (2015). Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin.

- Metabolism: clinical and experimental, 64(1), 35–46.
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.015>
- Santucci, L., Fiorucci, S., Di Matteo, F. M., & Morelli, A. (1995). Role of tumor necrosis factor alpha release and leukocyte margination in indomethacin-induced gastric injury in rats. *Gastroenterology*, 108(2), 393–401.
[https://doi.org/10.1016/0016-5085\(95\)90065-9](https://doi.org/10.1016/0016-5085(95)90065-9)
- Saucillo, D. C., Gerriets, V. A., Sheng, J., Rathmell, J. C., & Maciver, N. J. (2014). Leptin metabolically licenses T cells for activation to link nutrition and immunity. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 192(1), 136–144.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301158>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales del laboratorio.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/563492/NOM-062-ZOO1999_220801.pdf
- Shahin, N. N., Abdelkader, N. F., & Safar, M. M. (2018). A Novel Role of Irbesartan in Gastroprotection against Indomethacin-Induced Gastric Injury in Rats: Targeting DDAH/ADMA and EGFR/ERK Signaling. *Scientific reports*, 8(1), 4280. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22727-6>
- Sharma, A. M., & Padwal, R. (2010). Obesity is a sign - over-eating is a symptom: an aetiological framework for the assessment and management of obesity. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 11(5), 362–370. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2009.00689.x>
- Shen, C. Y., Jiang, J. G., Zhu, W., & Ou-Yang, Q. (2017). Anti-inflammatory Effect of Essential Oil from *Citrus aurantium* L. var. amara Engl. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(39), 8586–8594.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02586>
- Soumaoro, L. T., Iida, S., Uetake, H., Ishiguro, M., Takagi, Y., Higuchi, T., Yasuno, M., Enomoto, M., & Sugihara, K. (2006). Expression of 5-lipoxygenase in human colorectal cancer. *World journal of gastroenterology*, 12(39), 6355–6360. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i39.6355>
- Souza, R., Cardoso, M., Menezes, C., Silva, J., De Sousa, D., & Batista, J. (2011). Gastroprotective activity of α -terpineol in two experimental models of gastric ulcer in rats. *Daru: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 19(4), 277–281.
- Sudheesh, S.R., K, S., & James, J. (2018). A novel chalcone derivative from *Punica granatum* peel inhibits LOX/COX enzyme activity. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*.
<https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.07.001>
- Suleyman, H., Albayrak, A., Bilici, M. et al. (2010). Different Mechanisms in Formation and Prevention of Indomethacin-induced Gastric Ulcers. *Inflammation* 33, 224–234. <https://doi.org/10.1007/s10753-009-9176-5>
- Suzuki, K., Ota, H., Sasagawa, S., Sakatani, T., & Fujikura, T. (1983). Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Analytical biochemistry*, 132(2), 345–352. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(83\)90019-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(83)90019-2)
- Suzuki, T., Grand, E., Bowman, C., Merchant, J. L., Todisco, A., Wang, L., & Del

- Valle, J. (2001). TNF-alpha and interleukin 1 activate gastrin gene expression via MAPK- and PKC- dependent mechanisms. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 281(6), G1405–G1412. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.281.6.G1405>
- Sverdén, E., Agréus, L., Dunn, J. M., & Lagergren, J. (2019). Peptic ulcer disease. *BMJ* (Clinical research ed.), 367, l5495. <https://doi.org/10.1136/bmj.l5495>
- Szeto, C. C., Sugano, K., Wang, J. G., Fujimoto, K., Whittle, S., Modi, G. K., Chen, C. H., Park, J. B., Tam, L. S., Vareesangthip, K., Tsoi, K., & Chan, F. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) therapy in patients with hypertension, cardiovascular, renal or gastrointestinal comorbidities: joint APAGE/APLAR/APSDE/APSH/APSN/PoA recommendations. *Gut*, 69(4), 617–629. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319300>
- Tamaddonfard, E., Erfanparast, A., Farshid, A. A., Imani, M., Mirzakhani, N., Salighedar, R., & Tamaddonfard, S. (2019). Safranin, a constituent of saffron, exerts gastro-protective effects against indomethacin-induced gastric ulcer. *Life sciences*, 224, 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.03.054>
- Tarnasky, P. R., Livingston, E. H., Jacobs, K. M., Zimmerman, B. J., Guth, P. H., & Garrick, T. R. (1990). Role of oxyradicals in cold water immersion restraint-induced gastric mucosal injury in the rat. *Digestive diseases and sciences*, 35(2), 173–177. <https://doi.org/10.1007/BF01536759>
- Thonusin, C., Apaijai, N., Jaiwongkam, T., Kerdphoo, S., Arunsak, B., Amput, P., Palee, S., Pratchayasakul, W., Chattipakorn, N., & Chattipakorn, S. C. (2019). The comparative effects of high dose atorvastatin and proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor on the mitochondria of oxidative muscle fibers in obese-insulin resistant female rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 382, 114741. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.114741>
- Tsai, T. C., & Brooks, D. C. (2019). Evaluation of Peptic Ulcer Disease. *The SAGES Manual of Foregut Surgery*, 635–642. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96122-4_53
- Vane, J. R. (1996). Introduction: mechanism of action of NSAIDs. *British journal of rheumatology*, 35 Suppl 1, 1–3. https://doi.org/10.1093/rheumatology/35.suppl_1.1
- Vieira, A. J., Beserra, F. P., Souza, M. C., Totti, B. M., & Rozza, A. L. (2018). Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-biological interactions*, 283, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.007>
- Wang, D., & Dubois, R. N. (2012). Associations between obesity and cancer: the role of fatty acid synthase. *Journal of the National Cancer Institute*, 104(5), 343–345. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs010>
- Waslidge, N. B., & Hayes, D. J. (1995). A Colorimetric Method for the Determination of Lipooxygenase Activity Suitable for Use in a High Throughput Assay Format. *Analytical Biochemistry*, 231(2), 354–358. <https://doi.org/10.1006/abio.1995.0063>
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A. T., Zingraff, J., Jungers, P., & Descamps-Latscha, B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney international*, 49(5), 1304–1313. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.186>
- Xia, X., Li, G., Song, J., Zheng, J., & Kan, J. (2018). Hypocholesterolaemic effect of whole-grain highland hull-less barley in rats fed a high-fat diet. *The British*

- journal of nutrition*, 119(10), 1102–1110.
<https://doi.org/10.1017/S0007114518000831>
- Yoon, W. J., Lee, N.H., & Hyun, C. (2010). Limonene suppresses lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide, prostaglandin E2, and pro-inflammatory cytokines in RAW 264.7 macrophages. *Journal of oleo science*, 59 8, 415-421.
- Zhou, D., Yang, Q., Tian, T., Chang, Y., Li, Y., Duan, L. R., Li, H., & Wang, S. W. (2020). Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 126, 110075.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110075>

6.2. Capítulo 2: Efecto hepatoprotector y antiinflamatorio de *Callistemon citrinus* en un modelo de inducción de úlceras gástricas en ratas obesas

Resumen

La obesidad es causada principalmente por el consumo excesivo de alimentos con un gran aporte calórico, disminución de la actividad física y predisposición genética que contribuyen a su desarrollo. Esta afección presenta varias complicaciones en el cuerpo, favoreciendo el desarrollo y complicación de diferentes enfermedades como las cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión, hígado graso y algunos tipos de cáncer como el gástrico y hepático. El consumo de alcohol, la infección por *Helicobacter pylori*, el tipo de dieta, así como el uso inadecuado de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (diclofenaco, ibuprofeno, indometacina, celecoxib, entre otros), inducen un estado oxidante-inflamatorio que daña el tracto gastrointestinal, el hígado y los riñones. Los productos naturales con actividad biológica beneficiosa y pocos efectos secundarios podrían ser una opción para evitar los daños durante la obesidad. *Callistemon citrinus* tiene varias actividades biológicas como antioxidante, antimicrobiano, hepatoprotector y quimioprotector contra el cáncer de colon en diferentes modelos experimentales. Los terpenos y fenoles son compuestos involucrados en tales actividades. Hasta ahora, no hay informes que relacionen la ingesta de una dieta rica en grasa y sacarosa con una alteración hepática cuando se consume indometacina. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto hepatoprotector y antiinflamatorio del extracto de hoja de *Callistemon citrinus* en un modelo de inducción de úlceras gástricas en ratas obesas. Se aleatorizaron 30 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) en 6 grupos experimentales (n=5). Ratas del grupo 1 (control) alimentadas con pellets de roedor (marca Rodent diet®); Grupo 2: Dieta con sacarosa (marca Zulka®) alta en grasa (HFSD) con aporte calórico de 5.37 kcal/g; Grupo 3: (HFSD + *C. citrinus*), ratas que se alimentaron con la HFSD más extracto de hoja de *C. citrinus* (250 mg/kg) una vez al día con cánula por vía oral; Grupo 4: dosis única de indometacina de 30 mg/kg por vía oral; Grupo 5: dosis única de *C. citrinus* de 250 mg/kg + IND y Grupo 6: dosis

única de omeprazol de 30 mg/kg + IND. Todos los grupos ayunaron durante 24 h antes de la administración de indometacina. El extracto de hoja de *C. citrinus* mostró una disminución del daño en el hígado causado por la ingesta de una dieta hipercalórica e indometacina. Además, *C. citrinus* redujó la actividad de la mieloperoxidasa, ciclooxigenasa-2 y 5-lipoxigenasa y los biomarcadores inflamatorios como el TNF- α , la IL-6, los AOPP, el MDA, 4-HNE y la leptina. Mientras que, los niveles de la adiponectina y ciclooxigena-1 aumentaron, lo que sugiere un efecto antiinflamatorio.

Abstract

Obesity is mainly caused by excessive consumption of food with a high caloric intake, decreased physical activity and genetic predisposition that contribute to its development. This condition presents several complications in the body, favoring the development and complication of different diseases such as cardiovascular, diabetes mellitus type 2, hypertension, fatty liver and some types of cancer such as gastric and liver. Consumption of alcohol, infection with *Helicobacter pylori*, the type of diet, as well as the inappropriate use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (diclofenac, ibuprofen, indomethacin, celecoxib, among others), causes an inflammatory process damaging the gastrointestinal tract, liver and in the kidneys. Natural products with beneficial biological activity and few side effects could be an option to avoid harm during obesity. *Callistemon citrinus* has several biological activities such as antioxidant, antimicrobial, hepatoprotective and chemoprotective against colon cancer in different experimental models. Terpenes and phenols are compounds involved in such activities. Until now, no reports that relate the intake of high fat and sucrose that causes a liver alteration when indomethacin is consumed. The aim of this study was to determine the hepatoprotective and anti-inflammatory effect of *Callistemon citrinus* leaf extract in a gastric ulcer induction model in obese rats. Thirty Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were randomized in 6 experimental groups (n=5). Rats in group 1 (control) fed with rodent pellets (brand Rodent diet®); Group 2: Diet with sucrose (brand Zulka®) high fat (HFSD) with caloric input of 5.37 kcal/g; Group 3: (HFSD + *C. citrinus*), rats fed with HFSD plus leaf extract of *C. citrinus* (250 mg/kg) once daily with oral cannula; Group 4: single dose of

indomethacin of 30 mg/kg orally; Group 5: single dose of *C. citrinus* of 250 mg/kg + IND and Group 6: single dose of omeprazole 30 mg/kg + IND. All groups fasted for 24 h before indomethacin administration. *C. citrinus* leaf extract shown a decrease damage in the liver caused by the intake of a hypercaloric diet and indomethacin. Also, *C. citrinus* reduced the activity of myeloperoxidase, cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase and inflammatory biomarkers such as TNF- α , IL-6, AOPP, MDA, 4-HNE and leptin. While, adiponectin levels and cyclooxygenase-1 activity were increase, suggest an anti-inflammatory effect.

Palabras clave: Indometacina, actividad inflamatoria y enzimática, obesidad, deposición de grasa, AINEs

Introducción

Actualmente a nivel mundial el incremento de la población con sobrepeso y obesidad ha acrecentado radicalmente, dicha condición favorece un constante estado de oxidación e inflamación que produce un desbalance en la homeostasis celular, mediante el mal funcionamiento del tejido adiposo por la hiperplasia e hipertrofia ocasionada por el consumo excesivo de azúcares y grasas (Leung y Nieto, 2013; Parry *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017; Grosso *et al.*, 2022). Dando lugar a una sobreproducción y liberación de radicales libres, especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/RNS); lo que activa el fenotipo M1 de los macrófagos, el aumento en la expresión de factores de transcripción como el factor nuclear kappa B (NF κ B), el cual induce la expresión de genes proinflamatorios que darán lugar a la sobre-regulación de citocinas involucradas en un estado constante de inflamación (interleucinas, TNF- α , interferón gamma, leptina), algunas quimiocinas como la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) así como la expresión de la ciclooxigenasa 2 (Sun y Karin, 2012; Sun *et al.*, 2019; Seyedsadjadi *et al.*, 2020) afectando el funcionamiento adecuado de diferentes órganos. El hígado es uno de los órganos blanco durante la obesidad y sus complicaciones (resistencia a la insulina e hiperlipidemia), ya que en un estado de obesidad se mantienen constantemente activados diferentes procesos oxidante-inflamatorios que se producen por el consumo inadecuado de grasas y azúcares (Loomba y Sanyal,

2013; Recena Aydos *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2021). Esto conlleva a la generación de alteraciones funcionales a nivel hepático, los factores mencionados inducen fuertemente la generación de hígado graso no alcohólico (esteatosis hepática simple), sin embargo se puede desarrollar una esteatohepatitis no alcohólica, la cual puede complicarse para dar lugar a la fibrosis y sino se controla se desarrolla cirrosis y finalmente en algunos casos se puede producir cáncer hepático, con ello afectan fuertemente la calidad de vida de las personas que lo padecen (Adams *et al.*, 2005; White *et al.*, 2012; Polyzos *et al.*, 2018; Doulberis *et al.*, 2020). A nivel mundial se reconoce que aproximadamente el 25 % de la población padece las complicaciones del hígado graso (Tanaka *et al.*, 2020). Se conoce que el tipo de grasas presentes en la dieta son de gran importancia en el desarrollo de complicaciones asociadas a la obesidad, un incremento excesivo en el consumo de ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) de la serie (omega 6) favorecen el aumento del ácido araquidónico dando como resultado a una síntesis mayor de las prostaglandinas de la serie 2 y junto con la reducción de los PUFAs (omega 3) favorecen los daños durante el hígado graso y la diabetes mellitus tipo 2, entre otras complicaciones asociadas al síndrome metabólico (Wang *et al.*, 2021).

Alrededor del mundo el 5 % de algún integrante de los (AINEs) se prescribe para el tratamiento de dolor, diversas condiciones inflamatorias como el dolor crónico, osteoartritis, artritis reumatoide, recuperación postoperatoria, como analgésicos y antipiréticos (Gupta y Bah, 2016; Bindu *et al.*, 2020). A pesar de los beneficios que conlleva el uso de los AINEs poseen severos efectos secundarios negativos incluyendo toxicidad gastrointestinal, riesgo cardiovascular, daños renales y hepatotoxicidad (Dreischulte *et al.*, 2015; Arfè *et al.*, 2016). Los AINEs producen modificaciones en la síntesis enzimática de las isoformas de la ciclooxigenasa (COXs), los inhibidores no selectivos actúan sobre ambas isoformas de la COXs produciendo alteraciones a nivel gástrico reduciendo la actividad de la COX-1, sin embargo, los inhibidores selectivos de la COX-2 producen menos daños gástricos, destacando que pueden dar lugar a la generación de daños cardiovasculares indeseables (Bjarnason *et al.*, 2018; Bindu *et al.*, 2020). La indometacina uno de los integrantes de la familia de los AINEs favorece la generación de modificaciones en

la mitocondria, ya que se acopla al complejo 1 de la cadena transportadora de electrones lo que da lugar a la generación excesiva de radicales libres (Somasundaram *et al.*, 2002). La disfunción mitocondrial ocasionada durante la obesidad y el desarrollo del hígado graso no alcohólico favorece el proceso de la lipoperoxidación, en la que el MDA y el 4-hidroxinonenal son los principales productos que favorecen el progreso del daño a nivel hepático durante la obesidad (Masarone *et al.*, 2018; Balaha *et al.*, 2022). Por otro lado, la indometacina es un AINE semiselectivo que actúa mayoritariamente sobre la isoforma 1 de la ciclooxigenasa, produciendo severos daños sobre el tracto gastrointestinal ya que induce también daños sobre los lípidos de la membrana celular (Wongrakpanich *et al.*, 2018; Balaha *et al.*, 2022). Cabe destacar que existen relaciones sobre el consumo de los AINEs con la generación de hepatotoxicidad, destacando que la incidencia es menor que los daños gastrointestinales, cardiovasculares y renales (Bindu *et al.*, 2020); sin embargo, bajo condiciones que puedan comprometer al hígado es posible que la generación de daños sea más pronunciada. A nivel mundial el sulindaco y el diclofenaco son los principales generadores de alteraciones hepáticas (Lee, 2003; Sriuttha *et al.*, 2018). Se ha reconocido que el diclofenaco, el naproxeno, la indometacina, entre otros integrantes son generadores de la lipoperoxidación membranar producto del aumento en la generación ROS en el organismo (Bort *et al.*, 1999; Masubuchi *et al.*, 2002). Actualmente no existe algún reporte que indique si un estado de obesidad promueve mayormente las modificaciones hepáticas en modelos murinos, ya que la obesidad favorece el desarrollo de complicaciones como el hígado graso (Longo *et al.*, 2019), estado que involucra un estado constante de inflamación que puede intensificarse por el uso de la indometacina (Vane, 1996). Debido al efecto adverso negativo de los fármacos sintéticos es necesario conocer nuevos candidatos de origen vegetal a partir de los metabolitos secundarios de las plantas con actividad benéfica y sin presentar efectos negativos sobre el organismo (Santiago *et al.*, 2012; Howes *et al.*, 2018; Kasprzak *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2021). Con ello se busca determinar si el extracto etanólico de hoja de *Callistemon citrinus* posee un efecto hepatoprotector y antiinflamatorio en un modelo de inducción de úlceras en ratas con obesidad inducida por la ingesta de una dieta rica en grasa y sacarosa durante 15 semanas.

Sugiriendo que el uso de la indometacina sobre ratas bajo una comorbilidad presentará un mayor daño que las ratas administradas únicamente con el fármaco y que se alimentaban con alimento normal para roedor, permitiendo así conocer si el extracto de hoja de *C. citrinus* protege de los daños ocasionados durante la obesidad y que se pueden potenciar por el uso de la indometacina en el hígado.

Materiales y métodos

Animales, inducción de la obesidad y de las úlceras gástricas

Las ratas utilizadas, así como el modelo experimental fue el explicado a detalle en el capítulo 1 antes mencionado.

Evaluación de las modificaciones histológicas en el hígado

Después 15 semanas los animales fueron sacrificados y los hígados de todos los individuos se lavaron con solución salina fría (0.9 %). Después se pesó un trozo de hígado (lóbulo derecho) el cual se fijó en formol al 10% y se mantuvo en parafina durante 24 h. Se seccionaron cortes hepáticos de 4 µm de grosor con un micrótomo y se evaluó la gravedad de los cambios histológicos hepáticos con la tinción de hematoxilina y eosina (H&E). El daño hepático se evaluó con un puntaje que considera la magnitud de la deposición de grasa hepática y la infiltración de células inmunológicas descrito por Veteläinen *et al.*, (2006). La puntuación histopatológica total se calculó sumando las puntuaciones de cada uno de los parámetros encontrados.

Determinación de las enzimas y biomarcadores durante la inflamación

Las enzimas (MPO, COX-1, COX-2 y 5-LOX) y biomarcadores (leptina, adiponectina, AOPP, TNF- α , IL-6, MDA y 4-HNE) se determinaron mediante las técnicas y protocolos descritos en el apartado de materiales y métodos del capítulo 1 del presente trabajo.

Resultados

Modificaciones histológicas en el hígado

En un trabajo previo se demostró que la dieta utilizada en este estudio induce la obesidad, un aumento de úlceras gástricas cuando se les administró el fármaco

indometacina, así como las enzimas y biomarcadores de inflamación. Sin embargo, se desconoce como se ve afectado el hígado bajo esta condición. Los resultados de este trabajo permitieron identificar las modificaciones histológicas generadas a nivel celular en los diferentes grupos experimentales mediante el índice histopatológico. Observando que la ingesta de la dieta hipercalórica más la administración de indometacina (figura 10 B) favoreció la deposición leve de grasa (gotas lipídicas), así mismo, generó la infiltración mayor de células inmunológicas, dando lugar a la dilatación mayor del espacio sinusoidal en los hepatocitos en comparación al grupo control (figura 10 A). Mientras que, una administración del fármaco (figura 10 C) produjo una dilatación menor del espacio sinusoidal. Por otro lado, el grupo alimentado con la dieta hipercalórica más la administración continua del extracto de *C. citrinus* a dosis de (250 mg/kg) durante 15 semanas seguido de la dosis única de indometacina (figura 10 D) redujo la deposición de las gotas lipídicas, el espacio sinusoidal, así como la infiltración de células inmunológicas. Cabe destacar que los grupos administrados con la dosis única del extracto de *C. citrinus* y de omeprazol, tuvieron la capacidad de reducir las alteraciones hepáticas inducidas por la indometacina (figura 10 E y F), respectivamente comportándose de manera similar al grupo control.

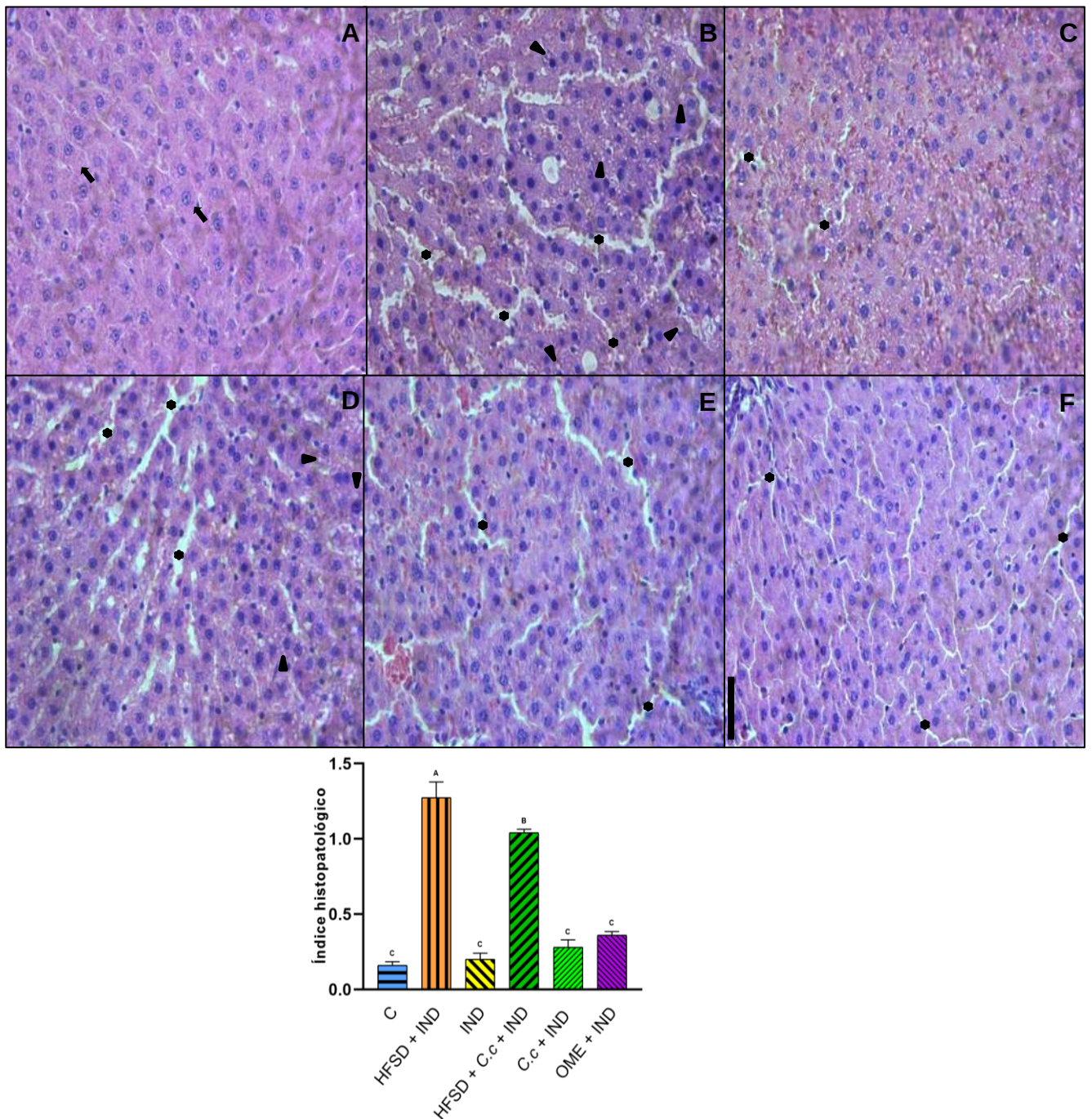


Figura 10. Efecto de *Callistemon citrinus* sobre las modificaciones histopatológicas generadas en el hígado de ratas con una dieta rica en grasa y sacarosa (HFSD) y administradas con indometacina (IND). Las microfotografías muestran cortes representativos del hígado de las ratas del grupo control con una morfología del hepatocito normal (A) y tratados con HFSD + IND (B) cuya morfología celular se encuentra alterada y presenta una deposición leve de grasa, IND (30 mg/kg C), HFSD + *C. citrinus* (250 mg/kg) + IND (D), *C. citrinus* + IND (E) y Omeprazol (30 mg/kg) + IND (F). El gráfico muestra los valores del puntaje histopatológico que considera la presencia de esteatosis hepática e infiltración de células inmunológicas (Flechas= hepatocitos sanos, puntas de flecha= gotas lipídicas, estrellas=dilatación

del espacio sinusoidal). Barra de escala = 50 μ m. Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Actividad enzimática de la mieloperoxidasa (MPO)

En el presente estudio se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la actividad enzimática en el grupo alimentado con la HFSD más la administración de indometacina en comparación con el grupo control (figura 11), incrementando la actividad en comparación con el grupo administrado con la indometacina. Por otro lado, el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* durante 15 semanas seguido de la indometacina, disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la actividad de la MPO en comparación al grupo HFSD + IND. Así mismo la administración de una sola dosis del extracto no favoreció la reducción de la MPO en comparación al grupo IND, mientras que en el grupo omeprazol tuvo una ligera reducción en comparación con el grupo indometacina.

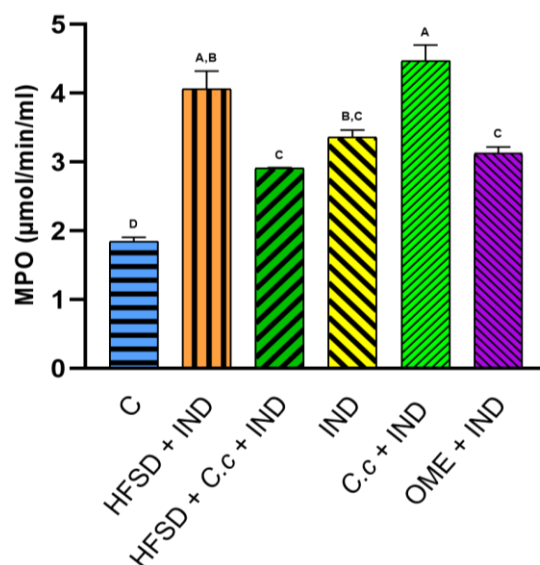


Figura 11. Actividad enzimática de la mieloperoxidasa. Grupos experimentales administrados con indometacina y el extracto de *C. citrinus*, valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Actividad enzimática de las ciclooxygenasas 1 y 2 (COX-1/2)

La actividad de las ciclooxygenasas fue modificada en el presente estudio observando que la HFSD más IND favoreció la disminución significativa ($p \leq 0.05$) de

la COX-1 y tuvo una tendencia a aumentar la actividad de la COX-2 en comparación al grupo administrado únicamente con la indometacina y control, mientras que una dosis de indometacina favoreció la disminución y aumento significativo de la COX-1 y COX-2, respectivamente en comparación al grupo control (figura 12).

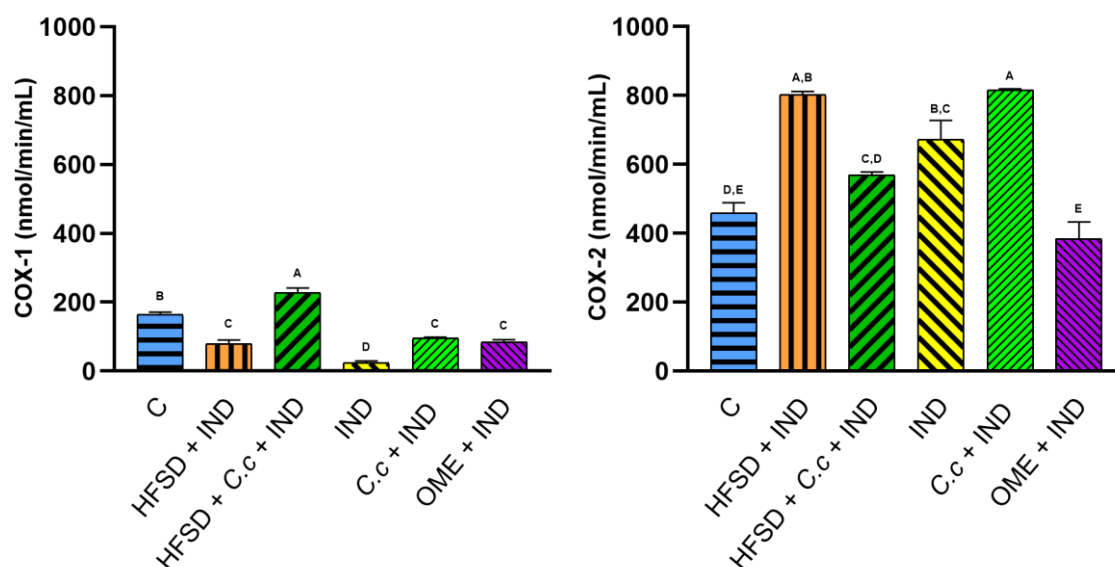


Figura 12. Efecto de la indometacina y el extracto de *C. citrinus* sobre la actividad enzimática de la ciclooxygenasas 1 y 2. Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Por otro lado, en el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* durante las 15 semanas y administrado con la indometacina, aumentó y redujo significativamente la actividad de la COX-1 y COX-2, respectivamente en comparación al grupo HFSD + IND, comportándose como el grupo control (figura 12). Así mismo, la administración única del extracto de *C. citrinus* favoreció el aumento significativo ($p \leq 0.05$) de la COX-1, mientras que no fue capaz de reducir el nivel de la COX-2 en comparación al grupo IND, dicho comportamiento fue similar al grupo administrado con el omeprazol para el nivel de la COX-1, destacando que el omeprazol si redujo la actividad de la COX-2 en comparación con el grupo IND (figura 12).

Actividad enzimática de la 5-Lipoxigenasa (5-LOX)

Como se observó en el presente trabajo la alimentación con la HFSD + IND generó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la actividad enzimática de la 5-LOX en

comparación al grupo administrado con la indometacina y el control (figura 13). Por otro lado, el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *C. citrinus* durante 15 semanas seguido de la indometacina, disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la actividad de la 5-LOX en comparación al grupo HFSD + IND comportándose como el grupo control (figura 13). Por otro lado, la dosis única de indometacina no promovió el aumento de la 5-LOX en comparación al grupo control. Así mismo, la dosis única del extracto y del omeprazol tuvieron una actividad reductora significativa ($p \leq 0.05$) sobre la actividad de la 5-LOX en comparación con el grupo indometacina, manteniendo una tendencia a comportarse como el grupo control y a actuar de manera similar entre sí (figura 13).

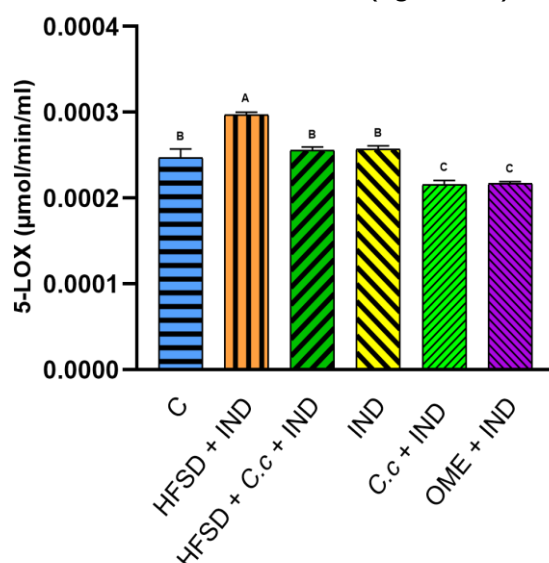


Figura 13. Efecto de la indometacina y el extracto de *C. citrinus* sobre la actividad enzimática de la 5-LOX. Valores expresados con la media y error estándar ($n = 5$; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey).

Biomarcadores de la inflamación

En el presente trabajo se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) sobre los biomarcadores de la inflamación (leptina, AOPP, MDA y 4-HNE, IL-6 y TNF- α) y una reducción significativa de la adiponectina, respectivamente en el grupo alimentado con la HFSD durante 15 semanas más la administración de indometacina (tabla 6), en comparación con el grupo IND y con el grupo control, respectivamente. Mientras que el grupo alimentado con la HFSD más la administración continúa del extracto de hoja de *C. citrinus* más la dosis de indometacina, disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) los niveles de (leptina, AOPP, MDA y 4-HNE, IL-6 y NF- α) y aumentó los

niveles de la adiponectina, respectivamente en comparación con el grupo HFSD + IND, comportándose de manera similar al grupo control. Además, en el grupo IND existió un aumento y disminución significativa ($p \leq 0.05$) sobre los niveles de (leptina, IL-6 y TNF- α) y adiponectina; además, elevó levemente a los AOPP y no aumentó los niveles de la lipoperoxidación respectivamente en comparación al grupo control (tabla 6). Por otro lado, una sola administración del extracto de *C. citrinus* redujo significativamente los niveles de la leptina y TNF- α y no favoreció la reducción de los demás biomarcadores, ni generó el aumento de la adiponectina al compararlo con el grupo IND. Por último, la administración del omeprazol promovió la reducción significativa únicamente de la IL-6, a la vez, no redujo a los demás biomarcadores, ni aumentó los niveles de la adiponectina en comparación al grupo IND (tabla 6).

Tabla 6. Biomarcadores de la inflamación en el hígado de ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y sacarosa y administradas con indometacina

	Leptina (mg/dL)	Adiponectina (mg/dL)	AOPP (μ mol/L)	IL-6 (mg/dL)	TNF- α (mg/dL)	MDA (mM/mg proteína)	4-HNE (mM/mg proteína)
Control	894.6 $\pm$ 48.87 ^{D,E}	59.0 $\pm$ 3.75 ^A	7.9 $\pm$ 0.18 ^C	276.1 $\pm$ 26.02 ^C	5747.3 $\pm$ 11.80 ^C	0.16 $\pm$ 0.01 ^B	0.22 $\pm$ 0.01 ^B
HFSD + Ind	1488.5 $\pm$ 6.26 ^A	30.6 $\pm$ 1.23 ^C	14.2 $\pm$ 0.18 ^A	568.5 $\pm$ 27.75 ^A	11537.5 $\pm$ 562.33 ^A	0.29 $\pm$ 0.02 ^A	0.41 $\pm$ 0.02 ^A
HFSD + <i>C.</i> <i>citrinus</i> + Ind	859.8 $\pm$ 27.19 ^E	60.5 $\pm$ 4.19 ^A	10.2 $\pm$ 0.00 ^{B,C}	296.8 $\pm$ 21.31 ^C	8285.8 $\pm$ 523.45 ^B	0.15 $\pm$ 0.02 ^B	0.17 $\pm$ 0.02 ^{B,C}
Indometacina (Ind)	1271.3 $\pm$ 3.09 ^B	47.2 $\pm$ 0.71 ^B	9.6 $\pm$ 1.41 ^{B,C}	452.6 $\pm$ 10.50 ^B	9379.0 $\pm$ 32.53 ^B	0.14 $\pm$ 0.01 ^B	0.13 $\pm$ 0.01 ^C
<i>C. citrinus</i> + Ind	1035.8 $\pm$ 53.3 ^{C,D}	30.3 $\pm$.07 ^C	15.9 $\pm$ 0.96 ^A	603.7 $\pm$ 24.51 ^A	5288.2 $\pm$ 117.93 ^C	0.13 $\pm$ 0.01 ^B	0.16 $\pm$ 0.00 ^{B,C}
Omeprazol + Ind	1124.8 $\pm$ 4.55 ^{B,C}	39.6 $\pm$ 1.63 ^{B,C}	12.6 $\pm$ 0.51 ^{A,B}	333.5 $\pm$ 9.36 ^C	8095.4 $\pm$ 197.80 ^B	0.11 $\pm$ 0.01 ^B	0.16 $\pm$ 0.00 ^{B,C}

Valores expresados con la media y error estándar (n= 5; valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) prueba de Tukey)

Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos se verificó que en el hígado existió una leve deposición de grasa en los hepatocitos debido a la composición y cantidad de grasa y azúcar de la dieta utilizada, que favorece la lipogénesis y la disminución de la beta oxidación, lo que da lugar a la acumulación intracitoplasmática de triacilglicéridos (de Moura e Dias *et al.*, 2021). Como se observó en las microfotografías del hígado y el índice histopatológico, se confirmó la generación de una leve deposición de grasa, una infiltración de células inmunológicas y la dilatación sinusoidal en los hepatocitos, que en conjunto promueven el establecimiento de una condición proinflamatoria en el grupo alimentado con la HFSD + IND. A partir de los resultados obtenidos se confirmó que la indometacina intensificó los daños hepáticos en las ratas obesas. Destacando que la obesidad genera un estado crónico de inflamación que puede llegar a favorecer el desarrollo del síndrome metabólico y sus complicaciones asociadas (Abdulmalek *et al.*, 2021) y que la inflamación establecida durante la obesidad puede verse incrementada si se usa la indometacina (Yadav *et al.*, 2012; Lucas, 2016). Por lo antes mencionado se produjo un aumento más intenso sobre la actividad de las enzimas (MPO, COX-2 y 5-LOX). Un aumento en la actividad de la MPO se reconoce como un biomarcador de la infiltración de neutrófilos en tejidos dañados, así mismo favorece la producción de ROS, RNS y de citocinas durante un proceso de inflamación (Matsuda y Shinomura, 2013). La sobreproducción de un estado oxidante y la disminución de la actividad antioxidante enzimática (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión S transferasa, entre otras) promueve el aumento de los niveles de la lipoperoxidación cuyos productos tóxicos el MDA y 4-HNE ocasionan el deterioro de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la células de diferentes órganos como las hepáticas, gástricas y renales, entre otras, (Owumi y Dim, 2019). Por otro lado, se conoce que el aumento de los niveles del MDA, del 4-HNE y de la MPO favorecen los daños conformacionales de las proteínas, generando la carbonilación y la oxidación avanzada de las proteínas (AOPP), productos que pueden ser generados por la disminución en la expresión del factor nuclear eritroide 2 que promueve la respuesta antioxidante enzimática y del NF-κB que favorece la expresión de diversas citocinas como el TNF-α, la IL-6,

la IL-1 β que favorecen un estado proinflamatorio (Akinrinde *et al.*, 2020).

Así mismo, en el grupo HFSD + IND, la indometacina favoreció el aumento de los biomarcadores de la inflamación (leptina, AOPP, TNF- α , IL-6, MDA/4-HNE) involucrados durante la inflamación. Además, favoreció la reducción de los niveles de la COX-1 y de la adiponectina cuyos efectos son favorables ya que mantienen la integridad y la actividad antiinflamatoria en el organismo (Yamauchi *et al.*, 2014; Bindu *et al.*, 2020). Cabe destacar que la administración de una sola dosis de indometacina (30 mg/kg) no promovió cambios intensos sobre los hepatocitos; sin embargo, generó el aumento significativo sobre la actividad enzimática de la MPO y COX-2, sobre los niveles de la leptina, IL-6, TNF- α . Disminuyó significativamente a la COX-1 y a la adiponectina. No modificó a la 5-LOX ni a los productos de la lipoperoxidación (MDA/4-HNE) y solo mostró un ligero aumento de los AOPP en comparación al grupo control. Lo que indica que se requiere una administración continua de la indometacina para generar lesiones graves sobre el hígado, ya que se ha reportado que el uso de diclofenaco a dosis de (10 mg/kg) durante 7 días favorece medianamente la congestión de los hepatocitos, afectando la actividad antioxidante del hepatocito promoviendo un estado constante de inflamación en el hígado y riñón (Owumi y Dim, 2019). Por otro lado, el sulindaco e ibuprofeno pueden generar daños sobre dichos órganos cuando se consumen de manera prolongada (Bindu *et al.*, 2020).

Mientras que en el grupo alimentado con la HFSD más la administración continua del extracto de *Callistemon citrinus* redujo significativamente el índice histopatológico mediante la reducción de la deposición de grasa, la infiltración de células inmunológicas, las enzimas y biomarcadores de la inflamación en el hígado que se induce por el consumo de una dieta rica en grasa y sacarosa. Dicho efecto benéfico se ha reportado para los metabolitos secundarios presentes en diferentes plantas, como la (quercetina, terpenos, fenoles y flavonoides, entre otros) como *Rus coriaria*, *Moringa oleifera*, *Cecropia peltata*, *Lepidium savitum*, *Ceiba pentandra*, entre otras, cuyos compuestos redujeron los parámetros morfológicos y bioquímicos, así como las alteraciones hepáticas en modelos murinos de inducción

de obesidad (Ghaeni Pasavei *et al.*, 2018; Kilany *et al.*, 2020; Duarte-Alonso *et al.*, 2020; Abdulmalek *et al.*, 2021; Ellappan *et al.*, 2022).

La MPO es utilizada como un indicador de infiltración de neutrófilos, como se observó con el índice histopatológico existe la presencia de células inmunológicas, al desarrollarse el estrés oxidante en las células se favorece un estado inflamatorio y con ello la migración inmunológica, este proceso indica que en el hígado del presente trabajo la actividad de la MPO se encuentra elevada. Dichos resultados se han reportado en modelos que utilizaron al diclofenaco ya que favoreció el aumento significativo de la MPO en el hígado y riñón en ratas tratadas a dosis de (10 mg/kg y 50 mg/kg) durante 7 días, respectivamente (Owumi y Dim, 2019; Mostafa *et al.*, 2020), promoviendo de manera más intensa la modificaciones en los hepatocitos, ya que la dosis fue más prolongada. Durante el estrés oxidante se promueve la afectación de las biomoléculas presentes en la célula, dicho daño se ha reportado en ratas tratadas con diclofenaco administrado durante 3 días a dosis de (9 mg/kg) suplementado con fluoruro de sodio lo que favoreció un estado oxidante/nitrosativo mayor en el hígado, duodeno y estómago de ratas, en las cuales se observó un aumento de los niveles de los (AOPP) y sobre la carbonilación de proteínas (PCO) (Akinrinde *et al.*, 2020). Cabe destacar que la actividad elevada de la MPO se asocia con la generación mayor de AOPP en células inmunológicas activadas, por lo que en el presente trabajo se confirma dicha relación en el hígado (Bochi *et al.* 2014).

Una modificación directa sobre las proteínas afecta irreversiblemente su actividad, favoreciendo que en los hepatocitos se promueva la liberación constante de citocinas, que generarán la activación de las células de Kupffer y la infiltración de neutrófilos, favoreciendo un estado de inflamación en el tejido (Mohamed *et al.*, 2016). Los lípidos de las membranas celulares son un blanco principal durante el estrés oxidante ya que algunos radicales libres como el radical hidróxilo ($\text{OH}^{\bullet}$), el anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), el óxido nítrico (NO), así como el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) en conjunto favorecen el proceso de la oxidación de lípidos que da lugar a la formación del (MDA) y del (4-HNE), los cuales se producen excesivamente cuando se genera algún daño en los órganos durante diversas patologías (Negre-Salvayre

et al., 2008; Grotto *et al.*, 2009). Dicho aumento sobre los productos de la LPO se ha reportado en el hígado de ratas alimentadas con una HFD durante 8 semanas (Alkudhayri *et al.*, 2021). Además, el uso inadecuado de los AINEs como el diclofenaco y el lornoxicam a dosis de (50 y 0.07 mg/kg) respectivamente, generan el aumento significativo sobre los niveles de la productos de la lipoperoxidación (Simon y Evan-Prince, 2018; El-Bahr *et al.*, 2022).

El ácido araquidónico (AA) es un intermediario muy importante en el funcionamiento normal de la célula, ya que mantiene la fluidez de la membrana celular bajo temperaturas fisiológicas y mantiene sus actividades biológicas bajo la conversión en prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y otros productos bioactivos (Brash, 2001). Cabe destacar que el AA es susceptible a la autooxidación generada por los niveles altos de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS) (Morrow *et al.*, 1990; Balazy y Poff, 2004; Hanna y Aziz Hafez, 2018). Los AINEs tienen la capacidad de modificar la actividad de las isoformas de la ciclooxigenasa lo que puede conllevar al mal funcionamiento del organismo (Maturana y Gritsenko, 2019). Se conoce que la COX-2 es una forma inducible bajo un daño o proceso inflamatorio en el organismo, un aumento en la expresión de la COX-2 fue reportado en el trabajo de Simon y Evan-Prince en el 2018, en el cual para el hígado la administración de (50 mg/kg) de diclofenaco durante dos días favoreció la expresión mayor en el hígado de las ratas tratadas con el AINE, en comparación al grupo control. Así mismo, en el trabajo realizado por Collino *et al.*, en el 2010, se reportó que la ingesta de una dieta hipercalórica durante 15 semanas favoreció el aumento de la expresión hepática de la COX-2. Se conoce que en algunos tipos de carcinomas se favorece la expresión de la COX-2 lo que genera el estado constante de inflamación y de la progresión del cáncer (Wang y Dubois, 2012). Así mismo, se ha reportado que el consumo excesivo de alcohol y el aumento en la expresión del TNF- α genera la sobreexpresión de la COX-2 durante la inflamación hepática (Tian *et al.*, 2020). Cabe destacar que la COX-1 es una enzima constitutiva que favorece el buen funcionamiento en diferentes órganos, ya que mantiene principalmente la agregación plaquetaria, la protección de la mucosa gástrica, la función renal adecuada, mantiene la homeostasis en el organismo y promueve la citoprotección

en diferentes órganos (Suleyman *et al.*, 2010; Demiryilmaz *et al.*, 2014; Bindu *et al.*, 2020). En el trabajo realizado por Tsujimoto *et al.*, en el 2016, el uso de una HFD durante 12 semanas no favoreció un cambio sobre la expresión de la COX-1 en comparación al grupo control; sin embargo, al utilizarse la dosis de indometacina (30 mg/kg) en ratas obesas durante 15 semanas en el presente trabajo se indujo dicha reducción sobre la COX-1. Lo mencionado es un indicador que permite destacar el efecto negativo de la obesidad cuando se usa la indometacina, destacando que el hígado al ser un órgano detoxificante y que mantiene el funcionamiento óptimo del organismo puede ser susceptible a la afectación directa de compuestos cuando se encuentra una condición previa que compromete al hígado, lo que genera cambios importantes en su fisiología y funcionamiento (Tian *et al.*, 2021).

La 5-lipoxigenasa ha sido reconocida como una enzima importante en la progresión del daño hepático inducido por la obesidad, ya que un aumento de la expresión del gen que la produce da lugar al aumento de mediadores de la inflamación como el TNF- α , la IL-6 y la MCP-1 que generan el aumento en las lesiones durante el desarrollo de la esteatosis hepática (Martínez-Clemente *et al.*, 2010; Martínez-Clemente *et al.*, 2011). Así mismo, las células de Kupffer inducen el aumento en los niveles de la 5-LOX, sintetizando leucotrienos que inician la cascada proinflamatoria mediante la liberación excesiva del TNF- α en el hígado (Li *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2021). En el estudio realizado por Tian *et al.*, en el 2021 se comprobó que el aumento en la expresión de la 5-LOX en el hígado de ratas tratadas con alcohol para inducir una lesión hepática alcohólica crónica (CALI, en inglés), en la que se generó a nivel histopatológico una esteatosis, infiltración de células inmunológicas y la necrosis hepática. Por otro lado, durante la obesidad existe el aumento en la deposición de tejido adiposo, lo que favorece un estado de inflamación, en ratas alimentadas durante 16 semanas con una HFD, favoreció la expresión de la 5-LOX a partir de la semana 4 hasta la 16, en comparación al grupo control (Ma *et al.*, 2017).

De acuerdo con lo obtenido en el presente trabajo, la obesidad es una enfermedad

que promueve el mal funcionamiento de diferentes órganos de importancia en el metabolismo celular, como el hígado un órgano muy importante en el metabolismo se relaciona con el sistema digestivo y su función es regulada por la insulina que se libera del páncreas y algunas hormonas producidas en el tejido adiposo, por lo que las modificaciones ocasionadas por la obesidad repercuten en todo el funcionamiento en el organismo (Rui, 2014). El consumo excesivo de alimentos con un gran aporte calórico junto con la disminución de la actividad física favorece el crecimiento y pérdida de la función del tejido adiposo durante la obesidad (Mopuri *et al.*, 2015) lo que conlleva al mal funcionamiento fisiológico del organismo. Como se observó en el presente trabajo en el hígado se produjo la disminución de la adiponectina y el aumento de la leptina. Dichos resultados son similares a los que reporto Mopuri *et al.*, en el 2015, ya que el uso de una dieta que contenía (29.5 g de cebo de res, 22 g de caseína, 23 g de almidón, principalmente) durante 15 semanas aumento y disminuyó los niveles séricos de leptina y adiponectina, respectivamente en comparación al grupo control. Por otro lado, el uso de una dieta que contenía 40 % de cebo de res durante 20 semanas favoreció la expresión mayor de la leptina y menor de la adiponectina en comparación al grupo control (Huang *et al.*, 2017). Por último, los niveles hepáticos de la interleucina 6 y del factor de necrosis tumoral alfa incrementaron en el presente estudio. Lo mencionado ha sido reportado en modelos de inducción de obesidad cuya dieta utilizada contenía alto contenido en carbohidratos y grasas, durante 6 y 8 semanas en ratas, lo cual promovió el aumento en los niveles del TNF- α y de la IL-6 en el hígado de las ratas (Alkhudhayri *et al.*, 2021). Así mismo, Abdulmalek *et al.*, en el 2021 reportaron que el uso de una dieta que contenía (58 % grasa y 17 % carbohidratos) durante 10 semanas, indujo el aumento de los niveles hepáticos del TNF- α , de la IL-6 y de la IL-1 β . Por otro lado, el uso de los AINEs de manera prolongada y a dosis elevadas, favorece modificaciones importantes sobre las citocinas involucradas en un proceso proinflamatorio, ya que el uso de diclofenaco (DFC) a dosis de (50 mg/kg) durante dos días, favoreció el aumento significativo sobre los niveles hepáticos del TNF- α , la IL-6 y de la IL-1 β (Simon y Evan-Prince, 2018). Así mismo, el uso del lornoxicam a dosis de (0.07 mg/kg) durante diez días, indujo el aumento de TNF- α y de IL-6 en suero (El-Bahr *et al.*, 2022).

Con base a los resultados obtenidos se comprobó que el extracto etanólico de hojas de *Callistemon citrinus* cuyos metabolitos secundarios han demostrado una potente actividad quimiopreventiva (López-Mejía *et al.*, 2019) y antioxidante en el colon, hígado, riñón y corazón en ratas con cáncer de colon inducido por la 1,2-dimetilhidrazina (López-Mejía *et al.*, 2021). Posee efecto regulador sobre la ganancia de peso, actividad antioxidante, antilipasa y sin efectos tóxicos adversos en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa (Ortega-Pérez *et al.*, 2022). Además, los terpenos mayoritarios presentes en *C. citrinus* protegieron de los daños ocasionados por una dieta hipercalórica (Ayala-Ruiz *et al.*, 2022). Se ha reportado que el 1,8-cineol favorece la reducción de la actividad de la MPO en el colon de ratas durante la colitis, así mismo favorece la reducción de la infiltración de neutrófilos. Por otro lado, reduce el edema ocasionado por carragenanos y se ha demostrado que regula los niveles del leucotrieno B₄ (LTB₄) (De Cássia da Silveira e Sá *et al.*, 2013). Se ha demostrado que el limoneno regula la actividad de la 5-LOX en la mucosa gástrica protegiendo del daño inflamatorio que se induce por la síntesis de leucotrienos (Vieira *et al.*, 2018). Así mismo se ha reportado que el 1,8-cineol posee un efecto benéfico, ya que reduce la esteatosis y fibrosis hepática en ratones “*knockout*” sin el homólogo de fosfatasa y tensina involucrado en el desarrollo de la esteatohepatitis, ya que redujo genes claves en el desarrollo de las lesiones hepáticas, así mismo se ha asociado un efecto benéfico a dicho monoterpeno ya que reduce la concentración sérica del TNF- α (Murata *et al.*, 2015). Por otro lado, los componentes principales de *Rosmarinus officinalis* cuya composición mayoritaria la conforma 1,8-cineol redujo el proceso de lipoperoxidación, así como la reducción de enzimas asociadas al estrés oxidante (Rašković *et al.*, 2014).

Así mismo, se ha reportado que el 1,8-cineol a dosis de (200 y 400 mg/kg) es capaz de reducir la expresión de TNF- α y de la IL-6 en un modelo murino de colitis (Brown *et al.*, 2017), además, se conoce que el 1,8-cineol favorece la actividad antiinflamatoria bajo una condición inflamatoria (Bhowal y Gopal, 2015; Cai *et al.*, 2021). Como parte del efecto terapéutico de los AINEs actúa sobre la inhibición de

las isoformas de las ciclooxigenasa, se ha demostrado que el α -terpineol posee una actividad inhibitoria mayor de la COX-2 en comparación a la aspirina (Pongprayoon *et al.*, 1997), lo mismo se ha reportado para el 1,8-cineol que mantiene un efecto inhibitorio mayor de la COX-2 (Beer *et al.*, 2017). Cabe destacar que el limoneno posee también un efecto que disminuye la expresión de la COX-2, al factor nuclear kappa (NF- κ B) en el riñón de ratas tratadas con doxorrubicina (Rehman *et al.*, 2014). Así mismo, mediante la inducción de un estado inflamatorio inducido por el lipopolisacárido (LPS) *in vitro* en monocitos, el α -terpineol, el terpinen-4-ol y el 1,8 cineol presentes en el aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* favorece la reducción de los niveles del TNF- α , IL-1 β , IL-8 y de la PGE₂ (Hart *et al.*, 2000). De igual forma, α -terpineol y sus isómeros poseen una actividad protectora frente a la alteración inducida por (LPS) en macrófagos, ya que los compuestos mencionados favorecen la modulación que disminuyó la respuesta inmunológica innata de las células, ya que redujo los niveles de la IL-6, IL-1 β y TNF- α , además se estableció que dichos compuestos regulan la cascada de señalización que modula el NF- κ B lo que sugiere la disminución de las citocinas involucradas en un estado proinflamatorio (Nogueira *et al.*, 2014).

El limoneno posee una gran cantidad de efectos benéficos ya que protege del estrés inducido en el hígado, favorece la reducción de los niveles de MDA y sobre la expresión de citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-1 β y TNF- α), además posee también la capacidad de reducir los niveles del NF- κ B (Amini *et al.*, 2020). Se ha reconocido también que el limoneno juega un papel benéfico en la reducción de los daños inducidos durante el desarrollo del síndrome metabólico asociado a la obesidad, ya que disminuye la progresión del hígado graso no alcohólico, mediante la regulación del proliferador activado de peroxisomas, sobre los niveles de triacilglicéridos y de colesterol en modelos de inducción de obesidad por consumo de dietas alta en grasa y azúcar (Vieira *et al.*, 2018). El ácido gálico y elálgico son fenoles cuya actividad benéfica ha sido reportada en modelos de inducción de daños hepáticos por fármacos como el ácido valproico (VPA) en modelos murinos, ya que la administración del ácido elálgico favoreció la reducción de los niveles del TNF- α , de la expresión del NF- κ B y sobre el MDA en las ratas tratadas con el VPA

más el polifenol. Así mismo, protegió de las alteraciones histopatológicas y funcionales de los hepatocitos tratados con el fármaco (Abdelkader *et al.*, 2020). Como se observó en el presente trabajo el extracto de *C. citrinus* promovió la actividad hepatoprotectora y antiinflamatoria en el hígado, lo que sugiere que los metabolitos presentes en la hoja juegan un papel sinérgico que favoreció dichos efectos beneficios reportados.

Conclusión

La administración del extracto etanólico de hoja de *Callistemon citrinus* redujó las enzimas y biomarcadores involucrados en la inflamación, así mismo, atenuó los daños en el hígado que se indujeron por el consumo de una dieta rica en grasa y sacarosa, destacando que la indometacina potenció el daño inflamatorio en las ratas obesas, comparado al grupo alimentado con la dieta normal de roedor.

Literatura citada

- Abdulmalek, S. A., Fessal, M., & El-Sayed, M. (2021). Effective amelioration of hepatic inflammation and insulin response in high fat diet-fed rats via regulating AKT/mTOR signaling: Role of *Lepidium sativum* seed extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 266, 113439. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113439>
- Adams, L. A., Lymp, J. F., St Sauver, J., Sanderson, S. O., Lindor, K. D., Feldstein, A., & Angulo, P. (2005). The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*, 129(1), 113–121. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.04.014>
- Akinrinde, Akinleye S.; Soetan, Kehinde O.; Tijani, Monsuru O. (2020). Exacerbation of diclofenac-induced gastroenterohepatic damage by concomitant exposure to sodium fluoride in rats: protective role of luteolin. *Drug and Chemical Toxicology*, 1–13. <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1802478>
- Alkhudhayri, D. A., Osman, M. A., Alshammari, G. M., Al Maiman, S. A., & Yahya, M. A. (2021). *Moringa peregrina* leaf extracts produce anti-obesity, hypoglycemic, anti-hyperlipidemic, and hepatoprotective effects on high-fat diet fed rats. *Saudi journal of biological sciences*, 28(6), 3333–3342. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.078>
- Andrews, P. C., & Krinsky, N. I. (1986). Human myeloperoxidase and hemi-myeloperoxidase. *Methods in enzymology*, 132, 369–378. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(86\)32022-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(86)32022-6)
- Arfè, A., Scotti, L., Varas-Lorenzo, C., Nicotra, F., Zambon, A., Kollhorst, B., Schink, T., Garbe, E., Herings, R., Straatman, H., Schade, R., Villa, M., Lucchi, S., Valkhoff, V., Romio, S., Thiessard, F., Schuemie, M., Pariente, A., Sturkenboom, M., Corrao, G., ... Safety of Non-steroidal Anti-inflammatory

- Drugs (SOS) Project Consortium (2016). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of heart failure in four European countries: nested case-control study. *BMJ (Clinical research ed.)*, 354, i4857. <https://doi.org/10.1136/bmj.i4857>
- Ayala-Ruiz, L. A., Ortega-Pérez, L. G., Piñón-Simental, J. S., Magaña-Rodríguez, O. R., Meléndez-Herrera, E., & Ríos-Chavez, P. (2022). Role of the major terpenes of *Callistemon citrinus* against the oxidative stress during a hypercaloric diet in rats. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 153, 113505. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113505>
- Balaha, M. F., Almalki, Z. S., Alahmari, A. K., Ahmed, N. J., & Balaha, M. F. (2022). AMPK/mTOR-driven autophagy & Nrf2/HO-1 cascade modulation by amentoflavone ameliorates indomethacin-induced gastric ulcer. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 151, 113200. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113200>
- Balazy, M., & Poff, C. D. (2004). Biological nitration of arachidonic acid. *Current vascular pharmacology*, 2(1), 81–93. <https://doi.org/10.2174/1570161043476465>
- Barragán-Zarate, G. S., Alexander-Aguilera, A., Lagunez-Rivera, L., Solano, R., & Soto-Rodríguez, I. (2021). Bioactive compounds from *Prosthechea karwinskii* decrease obesity, insulin resistance, pro-inflammatory status, and cardiovascular risk in Wistar rats with metabolic syndrome. *Journal of ethnopharmacology*, 279, 114376. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114376>
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology*, 180, 114147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Bjarnason, I., Scarpignato, C., Holmgren, E., Olszewski, M., Rainsford, K. D., & Lanas, A. (2018). Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology*, 154(3), 500–514. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.10.049>
- Bochi, G. V., Torbitz, V. D., Cargnin, L. P., de Carvalho, J. A., Gomes, P., & Moresco, R. N. (2014). An alternative pathway through the Fenton reaction for the formation of advanced oxidation protein products, a new class of inflammatory mediators. *Inflammation*, 37(2), 512–521. <https://doi.org/10.1007/s10753-013-9765-1>
- Bort, R., Ponsoda, X., Jover, R., Gómez-Lechón, M. J., & Castell, J. V. (1999). Diclofenac toxicity to hepatocytes: a role for drug metabolism in cell toxicity. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 288(1), 65–72.
- Boylan, M. R., Khalili, H., Huang, E. S., & Chan, A. T. (2014). Measures of adiposity are associated with increased risk of peptic ulcer. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 12(10), 1688–1694. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.03.021>
- Brash A. R. (2001). Arachidonic acid as a bioactive molecule. *The Journal of clinical investigation*, 107(11), 1339–1345. <https://doi.org/10.1172/JCI13210>
- Chanudom, L., & Tangpong, J. (2015). Anti-Inflammation Property of *Syzygium cumini* (L.) Skeels on Indomethacin-Induced Acute Gastric Ulceration.

- Gastroenterology research and practice*, 2015, 343642. <https://doi.org/10.1155/2015/343642>
- Collino, M., Aragno, M., Castiglia, S., Miglio, G., Tomasinelli, C., Boccuzzi, G., Thiernemann, C., & Fantozzi, R. (2010). Pioglitazone improves lipid and insulin levels in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet by decreasing hepatic inflammation. *British journal of pharmacology*, 160(8), 1892–1902. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00671.x>
- de Cássia da Silveira e Sá, R., Andrade, L., & de Sousa, D. (2013). A Review on Anti-Inflammatory Activity of Monoterpenes. *Molecules*, 18(1), 1227–1254. <https://doi.org/10.3390/molecules18011227>
- de Moura E Dias, M., Dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Sediya, C. M. N. O., Pereira, S. S., de Oliveira, L. L., Gouveia Peluzio, M. D. C., Martinez, J. A., & Milagro, F. I. (2021). Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetology & metabolic syndrome*, 13(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00647-2>
- Demiryilmaz, I., Turan, M. I., Kisaoglu, A., Gulapoglu, M., Yilmaz, I., & Suleyman, H. (2014). Protective effect of nimesulide against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats: effects on oxidant/antioxidants, DNA mutation and COX-1/COX-2 levels. *Pharmacological reports: PR*, 66(4), 647–652. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.02.015>
- Doulberis, M., Srivastava, S., Polyzos, S. A., Kountouras, J., Papaefthymiou, A., Klukowska-Rötzler, J., Blank, A., Exadaktylos, A. K., & Srivastava, D. S. (2020). Active Helicobacter pylori Infection is Independently Associated with Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Journal of clinical medicine*, 9(4), 933. <https://doi.org/10.3390/jcm9040933>
- Dreischulte, T., Morales, D. R., Bell, S., & Guthrie, B. (2015). Combined use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with diuretics and/or renin-angiotensin system inhibitors in the community increases the risk of acute kidney injury. *Kidney international*, 88(2), 396–403. <https://doi.org/10.1038/ki.2015.101>
- Duan, Z.; Yu, S.; Wang, S.; Deng, H.; Guo, L.; Yang, H.; Xie, H. 2022. Protective Effects of Piperine on Ethanol-Induced Gastric Mucosa Injury by Oxidative Stress Inhibition. *Nutrients*, 14, 4744. <https://doi.org/10.3390/nu14224744>
- Duarte-Alonso, A., Cu-Cañetas, T. E., Avila-Nava, A., Sansores-España, D., Acevedo-Fernández, J. J., Sandoval-Peraza, M., Chel-Guerrero, L., & Torre-Villalvazo, I. (2020). A *Cecropia peltata* ethanolic extract reduces insulin resistance and hepatic steatosis in rats fed a high-fat diet. *Journal of ethnopharmacology*, 261, 113087. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113087>
- El-Bahr, S. M., Elzoghby, R. R., Alfattah, M. A., Kandeel, M., & Hamouda, A. F. (2022). Aqueous Ginger (*Zingiber officinale*) Extract Ameliorates the Harmful Effects of High-Dose Lornoxicam in Albino Male Rats. *BioMed research international*, 2022, 1546734. <https://doi.org/10.1155/2022/1546734>
- El-Maraghy, S. A., Rizk, S. M., & Shahin, N. N. (2015). Gastroprotective effect of crocin in ethanol-induced gastric injury in rats. *Chemico-biological interactions*, 229, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.01.015>
- Ellapan, T., Ramar, M., Manikrishnan, R., et al., (2022). Protective effect of *Ceiba pentandra* (L) Gaertn on CCl₄-induced oxidative stress and liver damage in rats. *Journal of Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 5, 100196. <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2022.100196>

- Fayemi, P. O., Ozturk, I., Kaan, D., Özcan, S., Yerer, M. B., Dokumaci, A. H., Yetim, H. (2019). Bioactivities of phytochemicals in *Callistemon citrinus* against multi-resistant foodborne pathogens, alpha glucosidase inhibition and MCF-7 cancer cell line. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 764–778. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1616615>
- Geyikoglu, F., Yilmaz, E. G., Erol, H. S., Koc, K., Cerig, S., Ozek, N. S., & Aysin, F. (2018). Hepatoprotective Role of Thymol in Drug-Induced Gastric Ulcer Model. *Annals of hepatology*, 17(6), 980–991. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.7198>
- Ghaeni Pasavei, A., Mohebbati, R., Jalili-Nik, M., Mollazadeh, H., Ghorbani, A., Nosrati Tirkani, A., Taraz Jamshidi, S., Hashemy, S. I., Heidarian Miri, H., & Soukhtanloo, M. (2021). Effects of *Rhus coriaria* L. hydroalcoholic extract on the lipid and antioxidant profile in high fat diet-induced hepatic steatosis in rats. *Drug and chemical toxicology*, 44(1), 75–83. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1533024>
- Ghosh, P., Goswami, S., Roy, S., Das, R., Chakraborty, T., & Ray, S. (2021). Comparative *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of leaf extract fractions of Crimson bottlebrush, *Callistemon citrinus* (Curtis.) Skeels. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.03.26.436274>
- Grosso, G., Laudisio, D., Frias-Toral, E., Barrea, L., Muscogiuri, G., Savastano, S., & Colao, A. (2022). Anti-Inflammatory Nutrients and Obesity-Associated Metabolic-Inflammation: State of the Art and Future Direction. *Nutrients*, 14(6), 1137. <https://doi.org/10.3390/nu14061137>
- Grotto, Denise; Maria, Lucas Santa; Valentini, Juliana; Paniz, Clóvis; Schmitt, Gabriela; Garcia, Solange Cristina; Pomblum, Valdeci Juarez; Rocha, João Batista T.; Farina, Marcelo (2009). Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects FOR malondialdehyde quantification. *Química Nova*, 32(1), 169–174. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100032>
- Gupta, A., & Bah, M. (2016). NSAIDs in the Treatment of Postoperative Pain. *Current pain and headache reports*, 20(11), 62. <https://doi.org/10.1007/s11916-016-0591-7>
- Hanasand, M., Omdal, R., Norheim, K. B., Gøransson, L. G., Brede, C., & Jonsson, G. (2012). Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 413(9-10), 901–906. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.01.038>
- Hanna, V. S., & Hafez, E. A. A. (2018). Synopsis of arachidonic acid metabolism: A review. *Journal of advanced research*, 11, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.03.005>
- Hariri, N., & Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews*, 23(2), 270–299. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000168>
- Howes, M-J. R. (2018). Phytochemicals as Anti-inflammatory Nutraceuticals and Phytopharmaceuticals. *Immunity and Inflammation in Health and Disease*, 363–388. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805417-8.00028-7>
- Huang, C. Z., Tung, Y. T., Hsia, S. M., Wu, C. H., & Yen, G. C. (2017). The hepatoprotective effect of *Phyllanthus emblica* L. fruit on high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in SD rats. *Food & function*, 8(2),

- 842–850. <https://doi.org/10.1039/c6fo01585a>
- Huang, D. Q., El-Serag, H. B., & Loomba, R. (2021). Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 18(4), 223–238. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00381-6>
- Ibrahim, R. R., Ibrahim, H. A., & Moharram, F. A. (2020). Essential oil composition of two plants belonging to family Myrtaceae grown in Egypt prepared by different methods and their antibacterial activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(1), 133–137.
- Jiang, ZY., Woollard, A.C.S. & Wolff, S.P. (1991). Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids* 26, 853–856. <https://doi.org/10.1007/BF02536169>
- Kasprzak, K., Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczuk, T., Kuboń, M., & Oniszczuk, A. (2018). Secondary Metabolites, Dietary Fiber and Conjugated Fatty Acids as Functional Food Ingredients against Overweight and Obesity. *Natural Product Communications*. <https://doi.org/10.1177/1934578X1801300836>
- Kilany, O. E., Abdelrazek, H. M. A., Aldayel, T. S., Abdo, S., & Mahmoud, M. M. A. (2020). Anti-obesity potential of *Moringa olifera* seed extract and lycopene on high fat diet induced obesity in male Sprague Dawley rats. *Saudi journal of biological sciences*, 27(10), 2733–2746. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.026>
- Kumar, K. A., Reddy, T. C., Reddy, G. V., Reddy, D. B., Mahipal, S. V., Sinha, S., Gaikwad, A. N., & Reddanna, P. (2011). High-throughput screening assays for cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase, the targets for inflammatory disorders. *Indian journal of biochemistry & biophysics*, 48(4), 256–261.
- Kumar, R., Gupta, A., Singh, A. K., Bishayee, A., & Pandey, A. K. (2020). The Antioxidant and Antihyperglycemic Activities of Bottlebrush Plant (*Callistemon lanceolatus*) Stem Extracts. *Medicines* (Basel, Switzerland), 7(3), 11. <https://doi.org/10.3390/medicines7030011>
- Laganà, G., Barreca, D., Smeriglio, A., Germanò, M. P., D'Angelo, V., Calderaro, A., Bellocco, E., & Trombetta, D. (2020). Evaluation of Anthocyanin Profile, Antioxidant, Cytoprotective, and Anti-Angiogenic Properties of *Callistemon citrinus* Flowers. *Plants* (Basel, Switzerland), 9(8), 1045. <https://doi.org/10.3390/plants9081045>
- Larayetan, R. A., Okoh, O. O., Sadimenko, A., & Okoh, A. I. (2017). Terpene constituents of the aerial parts, phenolic content, antibacterial potential, free radical scavenging and antioxidant activity of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels (Myrtaceae) from Eastern Cape Province of South Africa. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1804-2>
- Lee W. M. (2003). Drug-induced hepatotoxicity. *The New England journal of medicine*, 349(5), 474–485. <https://doi.org/10.1056/NEJMr021844>
- Leung, T. M., & Nieto, N. (2013). CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*, 58(2), 395–398. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.08.018>
- Li, L., Liu, Y. R., Gao, S., Li, J. F., Li, S. S., Zhang, D. D., Liu, S., Bai, L., Zheng, S. J., Duan, Z. P., Qi, M., & Chen, Y. (2014). Inhibition of 5-lipoxygenase

- pathway attenuates acute liver failure by inhibiting macrophage activation. *Journal of immunology research*, 2014, 697560. <https://doi.org/10.1155/2014/697560>
- Lim, JM., Song, CH., Park, SJ. *et al.*, Protective effects of triple fermented barley extract (FBe) on indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats. *BMC Complement Altern Med* 19, 49 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2457-0>
- Loomba, R., & Sanyal, A. J. (2013). The global NAFLD epidemic. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 10(11), 686–690. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.171>
- López-Mejía, A., Ortega-Pérez, L. G., Godínez-Hernández, D., Nateras-Marin, B., Meléndez- Herrera, E., & Rios-Chavez, P. (2019). Chemopreventive effect of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels against colon cancer induced by 1,2-dimethylhydrazine in rats. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 145(6), 1417–1426. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02905-3>
- López-Mejía, A., Ortega-Pérez, L. G., Magaña-Rodríguez, O. R., Ayala-Ruiz, L. A., Piñón-Simental, J. S., Hernández, D. G., & Rios-Chavez, P. (2021). Protective effect of *Callistemon citrinus* on oxidative stress in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 142, 112070. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112070>
- Lucas, Sylvia (2016). The Pharmacology of Indomethacin. Headache: *The Journal of Head and Face Pain*, 56(2), 436–446. <https://doi.org/10.1111/head.12769>
- Ma, K., Chen, Y., Liang, X., Miao, J., & Zhao, Q. (2017). Inhibition of 5-lipoxygenase inhibitor zileuton in high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease progression model. *Iranian journal of basic medical sciences*, 20(11), 1207–1212. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.9482>
- Maity, P., Bindu, S., Dey, S., Goyal, M., Alam, A., Pal, C., Reiter, R., & Bandyopadhyay, U. (2009). Melatonin reduces indomethacin-induced gastric mucosal cell apoptosis by preventing mitochondrial oxidative stress and the activation of mitochondrial pathway of apoptosis. *Journal of pineal research*, 46(3), 314–323. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2009.00663.x>
- Marquez, L. A., & Dunford, H. B. (1997). Mechanism of the oxidation of 3,5,3',5'-tetramethylbenzidine by myeloperoxidase determined by transient- and steady-state kinetics. *Biochemistry*, 36(31), 9349–9355. <https://doi.org/10.1021/bi970595j>
- Martínez-Clemente, M., Clària, J., & Titos, E. (2011). The 5-lipoxygenase/leukotriene pathway in obesity, insulin resistance, and fatty liver disease. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 14(4), 347–353. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32834777fa>
- Martínez-Clemente, M., Ferré, N., González-Pérez, A., López-Parra, M., Horrillo, R., Titos, E., Morán-Salvador, E., Miquel, R., Arroyo, V., Funk, C. D., & Clària, J. (2010). 5-lipoxygenase deficiency reduces hepatic inflammation and tumor necrosis factor alpha-induced hepatocyte damage in hyperlipidemia-prone ApoE-null mice. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 51(3), 817–827. <https://doi.org/10.1002/hep.23463>
- Masarone, M., Rosato, V., Dallio, M., Gravina, A. G., Aglitti, A., Loguercio, C., Federico, A., & Persico, M. (2018). Role of Oxidative Stress in

- Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 9547613. <https://doi.org/10.1155/2018/9547613>
- Masubuchi, S. Nakayama, T. Horie. (2002). Role of mitochondrial permeability transition in diclofenac-induced hepatocyte injury in rats, *Hepatology* 35 (3) 544–551.
- Matsuda, M., & Shimomura, I. (2013). Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obesity research & clinical practice*, 7(5), e330–e341. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2013.05.004>
- Maturana, R., So. A. Karina, G. (2019). Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs). *Academic Pain Medicine*, 69–73. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18005-8_49
- Mohamed, J., Nazratun Nafizah, A. H., Zariyantey, A. H., & Budin, S. B. (2016). Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University medical journal*, 16(2), e132–e141. <https://doi.org/10.18295/squmj.2016.16.02.002>
- Mopuri, R., Ganjaji, M., Banavathy, K. S., Parim, B. N., & Meriga, B. (2015). Evaluation of anti-obesity activities of ethanolic extract of *Terminalia paniculata* bark on high fat diet-induced obese rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 76. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0598-3>
- Morrow, J. D., Hill, K. E., Burk, R. F., Nammour, T. M., Badr, K. F., & Roberts, L. J., 2nd (1990). A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(23), 9383–9387. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.23.9383>
- Mostafa, R. E., El-Marasy, S. A., Abdel Jaleel, G. A., & Bakeer, R. M. (2020). Protective effect of royal jelly against diclofenac-induced hepato-renal damage and gastrointestinal ulcerations in rats. *Heliyon*, 6(2), e03330. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03330>
- Negre-Salvayre, A., Coatrieux, C., Ingueneau, C., & Salvayre, R. (2008). Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *British journal of pharmacology*, 153(1), 6–20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707395>
- Noor, K. K., Ijaz, M. U., Ehsan, N., Tahir, A., Yeni, D. K., et al., (2022). Hepatoprotective role of vitexin against cadmium-induced liver damage in male rats: A biochemical, inflammatory, apoptotic and histopathological investigation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 150 112934. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112934>
- Oishi, J. C., Castro, C. A., Silva, K. A., Fabricio, V., Cárnio, E. C., Phillips, S. A., Duarte, A., & Rodrigues, G. J. (2018). Endothelial Dysfunction and Inflammation Precedes Elevations in Blood Pressure Induced by a High-Fat Diet. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 110(6), 558–567. <https://doi.org/10.5935/abc.20180086>
- Ortega-Pérez, L. G., Piñón-Simental, J. S., Magaña-Rodríguez, O. R., López-Mejía, A., Ayala-Ruiz, L. A., García-Calderón, A. J., Godínez-Hernández, D., & Rios-Chavez, P. (2022). Evaluation of the toxicology, anti-lipase, and antioxidant effects of *Callistemon citrinus* in rats fed with a high fat-fructose diet. *Pharmaceutical biology*, 60(1), 1384–1393.

- <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2099907>
- Owumi S. E., & Dim U. J. Biochemical alterations in diclofenac-treated rats: Effect of selenium on oxidative stress, inflammation, and hematological changes. *Toxicology Research and Application*. 2019; 3. <https://doi.org/10.1177/2397847319874359>
- Parry, S. A., & Hodson, L. (2017). Influence of dietary macronutrients on liver fat accumulation and metabolism. *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research*, 65(8), 1102–1115. <https://doi.org/10.1136/jim-2017-000524>
- Petronilho, S., Rocha, S. M., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., & Rios-Chavez, P. (2013). Assessment of the terpenic profile of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels from Mexico. *Industrial Crops and Products*, 46, 369–379. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.012>
- Petrovic, N., & Murray, M. (2010). Using N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine (TMPD) to assay cyclooxygenase activity in vitro. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 594, 129–140. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-411-1_9
- Polyzos, S. A., Kountouras, J., & Mantzoros, C. S. (2019). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism: clinical and experimental*, 92, 82–97. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.014>
- Rahman, M. M., Alam, M. N., Ulla, A., Sumi, F. A., Subhan, N., Khan, T., Sikder, B., Hossain, H., Reza, H. M., & Alam, M. A. (2017). Cardamom powder supplementation prevents obesity, improves glucose intolerance, inflammation and oxidative stress in liver of high carbohydrate high fat diet induced obese rats. *Lipids in health and disease*, 16(1), 151. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0539-x>
- Recena Aydos, L., Aparecida do Amaral, L., Serafim de Souza, R., Jacobowski, A. C., Freitas Dos Santos, E., & Rodrigues Macedo, M. L. (2019). Nonalcoholic Fatty Liver Disease Induced by High-Fat Diet in C57bl/6 Models. *Nutrients*, 11(12), 3067. <https://doi.org/10.3390/nu11123067>
- Roberts, C. K., Barnard, R. J., Sindhu, R. K., Jurczak, M., Ehdaie, A., & Vaziri, N. D. (2005). A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction and oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md: 1985), 98(1), 203–210. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00463.2004>
- Rui L. (2014). Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*, 4(1), 177–197. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>
- Sainy, J., Mishra, G.P., Sharma, R. et al., 2-Amino-5-sulfanyl-1,3,4-thiadiazoles: a novel series of anti-inflammatory and analgesic agents. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 43, 19–24 (2009). <https://doi.org/10.1007/s11094-009-0236-9>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/563492/NOM-062_ZOO1999_220801.pdf
- Seyedsadjadi, N., & Grant, R. (2020). The Potential Benefit of Monitoring Oxidative Stress and Inflammation in the Prevention of Non-Communicable Diseases

- (NCDs). *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 10(1), 15. <https://doi.org/10.3390/antiox10010015>
- Simon, J. P., & Evan Prince, S. (2018). Aqueous leaves extract of *Madhuca longifolia* attenuate diclofenac-induced hepatotoxicity: Impact on oxidative stress, inflammation, and cytokines. *Journal of cellular biochemistry*, 119(7), 6125–6135. <https://doi.org/10.1002/jcb.26812>
- Somasundaram, S., Simpson, R., Rafi, S., Shergill, J. K., Bjarnason, I., & Wrigglesworth, J. (2002). 2, 4-diamino-6- hydroxy pyrimidine inhibits NSAIDs induced nitrosyl-complex EPR signals and ulcer in rat jejunum. *BMC gastroenterology*, 2, 8. <https://doi.org/10.1186/1471-230x-2-8>
- Sriuttha, P., Sirichanchuen, B., & Permsuwan, U. (2018). Hepatotoxicity of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *International journal of hepatology*, 2018, 5253623. <https://doi.org/10.1155/2018/5253623>
- Sudheesh, S.R., K, S., & James, J. (2018). A novel chalcone derivative from *Punica granatum* peel inhibits LOX/COX enzyme activity. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.07.001>
- Sun X-H, Zhang L-D, Wei W. (2019). A study on the mechanism of adipokine in non-alcoholic fatty liver in rats treated by four herbs decoction. *European Journal of Inflammation*. 17. <https://doi.org/10.1177/2058739219853970>
- Sun, B., & Karin, M. (2012). Obesity, inflammation, and liver cancer. *Journal of hepatology*, 56(3), 704–713. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.09.020>
- Suzuki, K., Ota, H., Sasagawa, S., Sakatani, T., & Fujikura, T. (1983). Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Analytical biochemistry*, 132(2), 345–352. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(83\)90019-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(83)90019-2)
- Tanaka, M., Sato, A., Kishimoto, Y., Mabashi-Asazuma, H., Kondo, K., & Iida, K. (2020). Gallic Acid Inhibits Lipid Accumulation via AMPK Pathway and Suppresses Apoptosis and Macrophage-Mediated Inflammation in Hepatocytes. *Nutrients*, 12(5), 1479. <https://doi.org/10.3390/nu12051479>
- Tian, L., Fan, F., Zheng, S., & Tong, Q. (2021). Puerarin Exerts the Hepatoprotection from Chronic Alcohol-Induced Liver Injury via Inhibiting the Cyclooxygenase-2 and the 5-Lipoxygenase Pathway in Rats. *Complementary medicine research*, 28(2), 104–113. <https://doi.org/10.1159/000508686>
- Tsujimoto, S., Kishina, M., Koda, M., Yamamoto, Y., Tanaka, K., Harada, Y., Yoshida, A., & Hisatome, I. (2016). Nimesulide, a cyclooxygenase-2 selective inhibitor, suppresses obesity-related non-alcoholic fatty liver disease and hepatic insulin resistance through the regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *International journal of molecular medicine*, 38(3), 721–728. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2674>
- Vane J. R. (1996). Introduction: mechanism of action of NSAIDs. *British journal of rheumatology*, 35 Suppl 1, 1–3. https://doi.org/10.1093/rheumatology/35.suppl_1.1
- Veteläinen, R. L., Bennink, R. J., de Bruin, K., van Vliet, A., & van Gulik, T. M. (2006). Hepatobiliary function assessed by 99mTc-mebrofenin cholescintigraphy in the evaluation of severity of steatosis in a rat model. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 33(10), 1107–1114.

- <https://doi.org/10.1007/s00259-006-0125-3>
- Victor Antony Santiago, J., Jayachitra, J., Shenbagam, M., & Nalini, N. (2012). Dietary d-limonene alleviates insulin resistance and oxidative stress-induced liver injury in high-fat diet and L-NAME-treated rats. *European journal of nutrition*, 51(1), 57–68. <https://doi.org/10.1007/s00394-011-0182-7>
- Vieira, A. J., Beserra, F. P., Souza, M. C., Totti, B. M., & Rozza, A. L. (2018). Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-biological interactions*, 283, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.007>
- Wang, B., Yang, R. N., Zhu, Y. R., Xing, J. C., Lou, X. W., He, Y. J., Ding, Q. L., Zhang, M. Y., & Qiu, H. (2017). Involvement of xanthine oxidase and paraoxonase 1 in the process of oxidative stress in nonalcoholic fatty liver disease. *Molecular medicine reports*, 15(1), 387–395. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6025>
- Wang, D., & Dubois, R. N. (2012). Associations between obesity and cancer: the role of fatty acid synthase. *Journal of the National Cancer Institute*, 104(5), 343–345. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs010>
- Wang, W., Zhong, X., & Guo, J. (2021). Role of 2-series prostaglandins in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus and non-alcoholic fatty liver disease (Review). *International journal of molecular medicine*, 47(6), 114. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4947>
- Waslidge, N. B., & Hayes, D. J. (1995). A Colorimetric Method for the Determination of Lipooxygenase Activity Suitable for Use in a High Throughput Assay Format. *Analytical Biochemistry*, 231(2), 354–358. <https://doi.org/10.1006/abio.1995.0063>
- White, D. L., Kanwal, F., & El-Serag, H. B. (2012). Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 10(12), 1342–1359.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.10.001>
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., & Rangaswami, J. (2018). A Comprehensive Review of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Use in The Elderly. *Aging and disease*, 9(1), 143–150. <https://doi.org/10.14336/AD.2017.0306>
- Yadav, S. K., Adhikary, B., Chand, S., Maity, B., Bandyopadhyay, S. K., & Chattopadhyay, S. (2012). Molecular mechanism of indomethacin-induced gastropathy. *Free radical biology & medicine*, 52(7), 1175–1187. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.12.023>
- Yamauchi, T., Iwabu, M., Okada-Iwabu, M., & Kadowaki, T. (2014). Adiponectin receptors: a review of their structure, function and how they work. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 28(1), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.09.003>
- Zhou, J., Yu, Y., Ding, L., Xu, P., & Wang, Y. (2021). Matcha Green Tea Alleviates Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in High-Fat Diet-Induced Obese Mice by Regulating Lipid Metabolism and Inflammatory Responses. *Nutrients*, 13(6), 1950. <https://doi.org/10.3390/nu13061950>

7. CONCLUSIÓN GENERAL Y PERSPECTIVAS

El extracto etanólico de hojas de *Callistemon citrinus* favoreció la reducción de los efectos negativos que se potenciaron por la indometacina en el hígado y estómago de las ratas obesas. Se destaca que el extracto redujo los parámetros morfológicos y bioquímicos en las ratas obesas. Además, en ambos órganos disminuyó las enzimas y biomarcadores involucrados durante la inflamación. Por último, se confirma que los compuestos de *Callistemon citrinus* producen un efecto sinérgico que da lugar a la actividad gastroprotectora, hepatoprotectora y antiinflamatoria, protegiendo de los efectos adversos de la obesidad y del uso inadecuado de la indometacina.

- Evaluar el efecto gastroprotector, renoprotector y hepatoprotector de los fitosomas del extracto de hoja de *Callistemon citrinus* como coadyuvante en un modelo de inducción de daño inducido por etanol.
- Verificar si los fitosomas de *C. citrinus* poseen un efecto que reduzca el daño inducido por el etanol en los diferentes órganos y que mantenga o potencie el efecto terapéutico de los AINEs (selectivos y no selectivos) cuando se usan de manera prolongada en un modelo de inducción de daño inducido por etanol.
- Determinar si los fitosomas de *C. citrinus* poseen la capacidad de reducir los efectos adversos de los AINEs (selectivos y no selectivos) cuando se usan de manera prolongada en un modelo de inducción de daño inducido por etanol.

8. LITERATURA CITADA

- Abdelkader, N. F., Elyamany, M., Gad, A. M., Assaf, N., Fawzy, H. M., & Elesawy, W. H. (2020). Ellagic acid attenuates liver toxicity induced by valproic acid in rats. *Journal of pharmacological sciences*, 143(1), 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.01.007>
- Abdul-Aziz, K. (2011). Comparative Evaluation of the Anti-ulcer Activity of Curcumin and Omeprazole during the Acute Phase of Gastric Ulcer—Efficacy of Curcumin in Gastric Ulcer Prevention against Omeprazole, *Food and Nutrition Sciences*, 2(6), pp 628-640, <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2011.26088>.
- Ahima, R. S., & Flier, J. S. (2000). Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 11(8), 327–332. [https://doi.org/10.1016/s1043-2760\(00\)00301-5](https://doi.org/10.1016/s1043-2760(00)00301-5)
- Almasaudi, S. B., El-Shitany, N. A., Abbas, A. T., Abdel-dayem, U. A., Ali, S. S., Al Jaouni, S. K., & Harakeh, S. (2016). Antioxidant, Anti-inflammatory, and Antiulcer Potential of Manuka Honey against Gastric Ulcer in Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 3643824. <https://doi.org/10.1155/2016/3643824>
- Anurag, K., et al., (2014). Metabolites in plants and its classification. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 287-305.
- Aziz, R. S., Siddiqua, A., Shahzad, M., Shabbir, A., & Naseem, N. (2019). Oxyresveratrol ameliorates ethanol-induced gastric ulcer via downregulation of IL-6, TNF- α , NF- κ B, and COX-2 levels, and upregulation of TFF-2 levels. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 110, 554–560. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.002>
- Bakhle, Y. S., & Botting, R. M. (1996). Cyclooxygenase-2 and its regulation in inflammation. *Mediators of inflammation*, 5(5), 305–323. <https://doi.org/10.1155/S0962935196000452>
- Battino, M., Giampieri, F., Cianciosi, D., Ansary, J., Chen, X., Zhang, D., Gil, E., & Forbes-Hernández, T. (2021). The roles of strawberry and honey phytochemicals on human health: A possible clue on the molecular mechanisms involved in the prevention of oxidative stress and inflammation. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 86, 153170. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153170>
- Bessone F. (2010). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage?. *World journal of gastroenterology*, 16(45), 5651–5661. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i45.5651>
- Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*, 94(2), 329–354. <https://doi.org/10.1152/physrev.00040.2012>
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology*, 180, 114147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Bjarnason, I., Scarpignato, C., Holmgren, E., Olszewski, M., Rainsford, K. D., & Lanas, A. (2018). Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From

- Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology*, 154(3), 500–514. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.10.049>
- Blaser, H., Dostert, C., Mak, T. W., & Brenner, D. (2016). TNF and ROS Crosstalk in Inflammation. *Trends in cell biology*, 26(4), 249–261. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.12.002>
- Blüher M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature reviews. Endocrinology*, 15(5), 288–298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
- Boylan, M. R., Khalili, H., Huang, E. S., & Chan, A. T. (2014). Measures of adiposity are associated with increased risk of peptic ulcer. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 12(10), 1688–1694. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.03.021>
- Brenner, D., Blaser, H., & Mak, T. W. (2015). Regulation of tumour necrosis factor signalling: live or let die. *Nature reviews. Immunology*, 15(6), 362–374. <https://doi.org/10.1038/nri3834>
- Brock, T. G., McNish, R. W., & Peters-Golden, M. (1999). Arachidonic acid is preferentially metabolized by cyclooxygenase-2 to prostacyclin and prostaglandin E2. *The Journal of biological chemistry*, 274(17), 11660–11666. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.17.11660>
- Bulua, A. C., Simon, A., Maddipati, R., Pelletier, M., Park, H., Kim, K. Y., Sack, M. N., Kastner, D. L., & Siegel, R. M. (2011). Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *The Journal of experimental medicine*, 208(3), 519–533. <https://doi.org/10.1084/jem.20102049>
- Burnett, B. P., & Levy, R. M. (2012). 5-Lipoxygenase metabolic contributions to NSAID-induced organ toxicity. *Advances in therapy*, 29(2), 79–98. <https://doi.org/10.1007/s12325-011-0100-7>
- Burukoglu, D., Baycu, C., Taplamacioglu, F., Sahin, E., & Bektur, E. (2016). Effects of nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on stomach, kidney, and liver of rats. *Toxicology and industrial health*, 32(6), 980–986. <https://doi.org/10.1177/0748233714538484>
- Capeillère-Blandin, C., Gausson, V., Descamps-Latscha, B., & Witko-Sarsat, V. (2004). Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochimica et biophysica acta*, 1689(2), 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.02.008>
- Chait, A., & den Hartigh, L. J. (2020). Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 7, 22. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00022>
- Chen, H., Liao, H., Liu, Y., Zheng, Y., Wu, X., Su, Z., Zhang, X., Lai, Z., Lai, X., Lin, Z. X., & Su, Z. (2015). Protective effects of pogostone from Pogostemonis Herba against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*, 100, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.11.017>
- Chen, X. Y., Chen, H. M., Liu, Y. H., Zhang, Z. B., Zheng, Y. F., Su, Z. Q., Zhang, X., Xie, J. H., Liang, Y. Z., Fu, L. D., Lai, X. P., Su, Z. R., & Huang, X. Q. (2016). The gastroprotective effect of pogostone from Pogostemonis Herba against indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Experimental biology and*

- medicine* (Maywood, N.J.), 241(2), 193–204.
<https://doi.org/10.1177/1535370215600099>
- Cho, K. J., Seo, J. M., & Kim, J. H. (2011). Bioactive lipoxygenase metabolites stimulation of NADPH oxidases and reactive oxygen species. *Molecules and cells*, 32(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s10059-011-1021-7>
- Choe, S. S., Huh, J. Y., Hwang, I. J., Kim, J. I., & Kim, J. B. (2016). Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Frontiers in endocrinology*, 7, 30. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00030>
- Choi, H. M., Doss, H. M., & Kim, K. S. (2020). Multifaceted Physiological Roles of Adiponectin in Inflammation and Diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1219. <https://doi.org/10.3390/ijms21041219>
- Choy E, Rose-John S. Interleukin-6 as a Multifunctional Regulator: Inflammation, Immune Response, and Fibrosis. *Journal of Scleroderma and Related Disorders*. 2017;2(2_suppl): S1-S5. <https://doi.org/10.5301/jsrd.5000265>
- Coelho, D. F., Pereira-Lancha, L. O., Chaves, D. S., Diwan, D., Ferraz, R., Campos-Ferraz, P. L., Poortmans, J. R., & Lancha Junior, A. H. (2011). Effect of high-fat diets on body composition, lipid metabolism and insulin sensitivity, and the role of exercise on these parameters. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 44(10), 966–972. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2011007500107>
- Crofford L. J. (2013). Use of NSAIDs in treating patients with arthritis. *Arthritis research & therapy*, 15 Suppl 3(Suppl 3), S2. <https://doi.org/10.1186/ar4174>
- Cronstein B. N. (2007). Interleukin-6--a key mediator of systemic and local symptoms in rheumatoid arthritis. *Bulletin of the NYU hospital for joint diseases*, 65 Suppl 1, S11–S15.
- Das, A., et al., (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of *Callistemon linearis* dc leaf extract. *Pharmacology online*, 3, 875-881.
- Dasilva, G., & Medina, I. (2019). Lipidomic methodologies for biomarkers of chronic inflammation in nutritional research: ω -3 and ω -6 lipid mediators. *Free radical biology & medicine*, 144, 90–109. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.017>
- Dennis, E. A., & Norris, P. C. (2015). Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nature reviews. Immunology*, 15(8), 511–523. <https://doi.org/10.1038/nri3859>
- Dewick, P. M. (2002). *Medicinal Natural Products*. John Wiley & Sons Ltd.
- Dhiman, M., Estrada-Franco, J. G., Pando, J. M., Ramirez-Aguilar, F. J., Spratt, H., Vazquez-Corzo, S., Perez-Molina, G., Gallegos-Sandoval, R., Moreno, R., & Garg, N. J. (2009). Increased myeloperoxidase activity and protein nitration are indicators of inflammation in patients with Chagas' disease. *Clinical and vaccine immunology*: CVI, 16(5), 660–666. <https://doi.org/10.1128/CVI.00019-09>
- Dludla, P. V., Nkambule, B. B., Jack, B., Mkandla, Z., Mutize, T., Silvestri, S., Orlando, P., Tiano, L., Louw, J., & Mazibuko-Mbeje, S. E. (2018). Inflammation and Oxidative Stress in an Obese State and the Protective Effects of Gallic Acid. *Nutrients*, 11(1), 23. <https://doi.org/10.3390/nu11010023>
- Dulloo, A. G., Jacquet, J., Solinas, G., Montani, J. P., & Schutz, Y. (2010). Body

- composition phenotypes in pathways to obesity and the metabolic syndrome. *International journal of obesity* (2005), 34 Suppl 2, S4–S17. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.234>
- Ellulu, M. S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A., & Abed, Y. (2017). Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Archives of medical science: AMS*, 13(4), 851–863. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.58928>
- 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(10), 1454. <https://doi.org/10.3390/biom10101454>
- Engin A. (2017). The Pathogenesis of Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. *Advances in experimental medicine and biology*, 960, 221–245. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_9
- Eraslan, E., Tanyeli, A., Güler, M. C., Kurt, N., & Yetim, Z. (2020). Agomelatine prevents indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacological reports: PR*, 72(4), 984–991. <https://doi.org/10.1007/s43440-019-00049-2>
- Fang, H., & Judd, R. L. (2018). Adiponectin Regulation and Function. *Comprehensive Physiology*, 8(3), 1031–1063. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170046>
- Federico, A., Morgillo, F., Tuccillo, C., Ciardiello, F., & Loguercio, C. (2007). Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *International journal of cancer*, 121(11), 2381–2386. <https://doi.org/10.1002/ijc.23192>
- Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, A., Esquivel-Chirino, C., Durante-Montiel, I., Sánchez-Rivera, G., Valadez-Vega, C., & Morales-González, J. A. (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International journal of molecular sciences*, 12(5), 3117–3132. <https://doi.org/10.3390/ijms12053117>
- Frühbeck, G., Becerril, S., Sáinz, N., Garrastachu, P., & García-Velloso, M. J. (2009). BAT: a new target for human obesity?. *Trends in pharmacological sciences*, 30(8), 387–396. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.05.003>
- Gabay C. (2006). Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis research & therapy*, 8 Suppl 2(Suppl 2), S3. <https://doi.org/10.1186/ar1917>
- Gambhir, S., Vyas, D., Hollis, M., Aekka, A., & Vyas, A. (2015). Nuclear factor kappa B role in inflammation associated gastrointestinal malignancies. *World journal of gastroenterology*, 21(11), 3174–3183. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i11.3174>
- García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M. A., & Martínez, J. A. (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation research: official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]*, 58(9), 537–552. <https://doi.org/10.1007/s00011-009-0037-3>
- Ghosh, R., Alajbegovic, A., & Gomes, A. V. (2015). NSAIDs and Cardiovascular Diseases: Role of Reactive Oxygen Species. *Oxidative medicine and cellular longevity*, <https://doi.org/10.1155/2015/536962>
- Gil A. (2002). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomedicine*

- & pharmacotherapy = *Biomedecine & pharmacotherapie*, 56(8), 388–396.
[https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(02\)00256-1](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(02)00256-1)
- Gil-Cardoso, K., Ginés, I., Pinent, M., Ardévol, A., Terra, X., & Blay, M. (2017). A cafeteria diet triggers intestinal inflammation and oxidative stress in obese rats. *The British journal of nutrition*, 117(2), 218–229.
<https://doi.org/10.1017/S0007114516004608>
- Giralt, M., & Villarroya, F. (2013). White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions? *Endocrinology*, 154(9), 2992–3000.
<https://doi.org/10.1210/en.2013-1403>
- Gomez-Delgado, F., Alcala-Diaz, J. F., Garcia-Rios, A., Delgado-Lista, J., Ortiz-Morales, A., Rangel-Zuñiga, O., Tinahones, F. J., Gonzalez-Guardia, L., Malagon, M. M., Bellido-Muñoz, E., Ordovas, J. M., Perez-Jimenez, F., Lopez-Miranda, J., & Perez-Martinez, P. (2014). Polymorphism at the TNF- α gene interacts with Mediterranean diet to influence triglyceride metabolism and inflammation status in metabolic syndrome patients: From the CORDIOPREV clinical trial. *Molecular nutrition & food research*, 58(7), 1519–1527. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300723>
- Gupta, S., et al., (2008). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Callistemon comboynensis* and *C. citrinus* Leaf Essential Oils from the Northern Plains of India. *Natural Products Communications*, 3(11), 1931–1934.
- Ham, M., Lee, J. W., Choi, A. H., Jang, H., Choi, G., Park, J., Kozuka, C., Sears, D. D., Masuzaki, H., & Kim, J. B. (2013). Macrophage glucose-6-phosphate dehydrogenase stimulates proinflammatory responses with oxidative stress. *Molecular and cellular biology*, 33(12), 2425–2435.
<https://doi.org/10.1128/MCB.01260-12>
- Hatazawa, R., Ohno, R., Tanigami, M., Tanaka, A., & Takeuchi, K. (2006). Roles of endogenous prostaglandins and cyclooxygenase isozymes in healing of indomethacin-induced small intestinal lesions in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 318(2), 691–699.
<https://doi.org/10.1124/jpet.106.103994>
- Hatware, K. V., Sharma, S., Patil, K., Shete, M., Karri, S., & Gupta, G. (2018). Evidence for gastroprotective, anti-inflammatory and antioxidant potential of methanolic extract of *Cordia dichotoma* leaves on indomethacin and stress induced gastric lesions in Wistar rats. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 103, 317–325.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.007>
- Henry, S. L., Bensley, J. G., Wood-Bradley, R. J., Cullen-McEwen, L. A., Bertram, J. F., & Armitage, J. A. (2012). White adipocytes: more than just fat depots. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 44(3), 435–440.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.12.011>
- Hofbauer, K. G., Nicholson, J. R., & Boss, O. (2007). The obesity epidemic: current and future pharmacological treatments. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 47, 565–592.
<https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105256>
- Howes, M-J. (2018). Phytochemicals as Anti-inflammatory Nutraceuticals and Phytopharmaceuticals, *Immunity and Inflammation in Health and Disease*,

363-388.

- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 7432797. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>
- Idrizaj, E., Garella, R., Castellini, G., Mohr, H., Pellegata, N. S., Francini, F., Ricca, V., Squecco, R., & Baccari, M. C. (2018). Adiponectin affects the mechanical responses in strips from the mouse gastric fundus. *World journal of gastroenterology*, 24(35), 4028–4035. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i35.4028>
- Ilich, J. Z., Kelly, O. J., Kim, Y., & Spicer, M. T. (2014). Low-grade chronic inflammation perpetuated by modern diet as a promoter of obesity and osteoporosis. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 65(2), 139–148. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-65-2014-2541>
- Iranshahi, M., et al (2015). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(2), 99-103.
- Jankovic, A., Korac, A., Buzadzic, B., Otasevic, V., Stancic, A., Daiber, A., & Korac, B. (2015). Redox implications in adipose tissue (dys)function--A new look at old acquaintances. *Redox biology*, 6, 19–32. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.06.018>
- Kadowaki, T., & Yamauchi, T. (2005). Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocrine reviews*, 26(3), 439–451. <https://doi.org/10.1210/er.2005-0005>
- Kahn, C. R., Wang, G., & Lee, K. Y. (2019). Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 129(10), 3990–4000. <https://doi.org/10.1172/JCI129187>
- Kaneda, H., Taguchi, J., Ogasawara, K., Aizawa, T., & Ohno, M. (2002). Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 162(1), 221–225. [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(01\)00706-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(01)00706-7)
- Kasprzak, Kamila., (2018). Secondary Metabolites, Dietary Fiber and Conjugated Fatty Acids as Functional Food Ingredients against Overweight and Obesity. *Natural Product Communications*, 13(8), 1073-1082. <http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1801300836>
- Katary, M. M. & Salahuddin, A. (2017). Gastroprotective Effect of Vanillin on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats: Protective Pathways and Anti-Secretory Mechanism. *Journal of Clinical and Experimental Pharmacology*, 7(2), 1-8. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1459.1000232>
- Kentish, S. J., Ratcliff, K., Li, H., Wittert, G. A., & Page, A. J. (2015). High fat diet induced changes in gastric vagal afferent response to adiponectin. *Physiology & behavior*, 152(Pt B), 354–362. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.016>
- Khan, A. A., Alsahli, M. A., & Rahmani, A. H. (2018). Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. *Medical sciences (Basel, Switzerland)*, 6(2), 33. <https://doi.org/10.3390/medsci6020033>
- Khanh, P. N., Duc, H. V., Huong, T. T., Son, N. T., Ha, V. T., Van, D. T., Tai, B. H.,

- Kim, J. E., Jo, A. R., Kim, Y. H., & Cuong, N. M. (2016). Alkylphloroglucinol derivatives and triterpenoids with soluble epoxide hydrolase inhibitory activity from *Callistemon citrinus*. *Fitoterapia*, 109, 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.10.013>
- Khoramipour, K., Chamari, K., Hekmatikar, A. A., Ziyaiyan, A., Taherkhani, S., Elguindy, N. M., & Bragazzi, N. L. (2021). Adiponectin: Structure, Physiological Functions, Role in Diseases, and Effects of Nutrition. *Nutrients*, 13(4), 1180. <https://doi.org/10.3390/nu13041180>
- Kim, J., Kim, K. H., & Lee, B. J. (2017). Association of peptic ulcer disease with obesity, nutritional components, and blood parameters in the Korean population. *PloS one*, 12(8), e0183777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183777>
- Koppen, A., & Kalkhoven, E. (2010). Brown vs white adipocytes: the PPARgamma coregulator story. *FEBS letters*, 584(15), 3250–3259. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.06.035>
- Krishnamoorthy, S., & Honn, K. V. (2006). Inflammation and disease progression. *Cancer metastasis reviews*, 25(3), 481–491. <https://doi.org/10.1007/s10555-006-9016-0>
- Kumar, S., Kumar, V., & Prakash, O. M. (2011). Pharmacognostic study and anti-inflammatory activity of *Callistemon lanceolatus* leaf. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(3), 177–181. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60022-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60022-1)
- Lafontan, M., & Girard, J. (2008). Impact of visceral adipose tissue on liver metabolism. Part I: heterogeneity of adipose tissue and functional properties of visceral adipose tissue. *Diabetes & metabolism*, 34(4 Pt 1), 317–327. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2008.04.001>
- Li, Q., Zhang, J., Zhou, Y., & Qiao, L. (2012). Obesity and gastric cancer. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 17(7), 2383–2390. <https://doi.org/10.2741/4059>
- Liu, Y. C., Zou, X. B., Chai, Y. F., & Yao, Y. M. (2014). Macrophage polarization in inflammatory diseases. *International journal of biological sciences*, 10(5), 520–529. <https://doi.org/10.7150/ijbs.8879>
- LiverTox: Clinical and Research Information on Drug Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012. Indomethacin. [Updated 2022 Mar 23].
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *International journal of molecular sciences*, 20(9), 2358. <https://doi.org/10.3390/ijms20092358>
- López-Mejía, A., Ortega-Pérez, L. G., Godínez-Hernández, D., Nateras-Marin, B., Meléndez- Herrera, E., & Rios-Chavez, P. (2019). Chemopreventive effect of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels against colon cancer induced by 1,2-dimethylhydrazine in rats. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 145(6), 1417–1426. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02905-3>
- López-Mejía, A., Ortega-Pérez, L. G., Magaña-Rodríguez, O. R., Ayala-Ruiz, L. A., Piñón-Simental, J. S., Hernández, D. G., & Rios-Chavez, P. (2021). Protective effect of *Callistemon citrinus* on oxidative stress in rats with 1,2-

- dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 142, 112070. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112070>
- Lumeng, C. N., & Saltiel, A. R. (2011). Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *The Journal of clinical investigation*, 121(6), 2111–2117. <https://doi.org/10.1172/JCI57132>
- Manna, P., & Jain, S. K. (2015). Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metabolic syndrome and related disorders*, 13(10), 423–444. <https://doi.org/10.1089/met.2015.0095>
- Martins, A. O. B. P. B., Rodrigues, L. B., Cesário, F. R. A. S., de Oliveira, M. R. C., Tintino, C. D. M., Castro, F. F. E., Alcântara, I. S., Fernandes, M. N. M., de Albuquerque, T. R., da Silva, M. S. A., de Sousa Araújo, A. A., Júnior, L. J. Q., da Costa, J. G. M., de Menezes, I. R. A., & Wanderley, A. G. (2017). Anti-edematogenic and anti-inflammatory activity of the essential oil from *Croton rhamnifolioides* leaves and its major constituent 1,8-cineole (eucalyptol). *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 96, 384–395. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.005>
- Maturana, R., So, A., Gritsenko, K. (2019). Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs). In: Khelemsky, Y., Malhotra, A., Gritsenko, K. (eds) *Academic Pain Medicine*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18005-8_13
- Mazzoli, A., Crescenzo, R., Cigliano, L., Spagnuolo, M. S., Cancelliere, R., Gatto, C., & Iossa, S. (2019). Early Hepatic Oxidative Stress and Mitochondrial Changes Following Western Diet in Middle Aged Rats. *Nutrients*, 11(11), 2670. <https://doi.org/10.3390/nu1112670>
- McGarry, T., Biniecka, M., Veale, D. J., & Fearon, U. (2018). Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free radical biology & medicine*, 125, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042>
- Meunier, L., & Larrey, D. (2018). Recent Advances in Hepatotoxicity of Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Annals of hepatology*, 17(2), 187–191. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.8633>
- Monteiro, R., & Azevedo, I. (2010). Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators of inflammation*, 2010, 289645. <https://doi.org/10.1155/2010/289645>
- Morrow, J. D., Hill, K. E., Burk, R. F., Nammour, T. M., Badr, K. F., & Roberts, L. J., 2nd (1990). A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(23), 9383–9387. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.23.9383>
- Münzberg, H., Flier, J. S., & Bjørbaek, C. (2004). Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. *Endocrinology*, 145(11), 4880–4889. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0726>
- Myers, M. G., Jr, Leibel, R. L., Seeley, R. J., & Schwartz, M. W. (2010). Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 21(11), 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.08.002>
- Naraba, H., Murakami, M., Matsumoto, H., Shimbara, S., Ueno, A., Kudo, I., & Oh-

- ishi, S. (1998). Segregated coupling of phospholipases A2, cyclooxygenases, and terminal prostanoid synthases in different phases of prostanoid biosynthesis in rat peritoneal macrophages. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 160(6), 2974–2982.
- Nikose, S., Arora, M., Singh, P. L., Naik, S., Khan, S., Devashree, N. (2015). Hepatotoxicity and Changes in Liver Enzymes Due to Use of Non-Steroidal AntiInflammatory Drugs (NSAIDs) in Non-Traumatic Musculoskeletal Painful Disorders. *Molecular Enzimology and Drugs Targets*, 1(2).
- Oguntibeju O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 11(3), 45–63.
- Oishi, Y., & Manabe, I. (2018). Macrophages in inflammation, repair and regeneration. *International immunology*, 30(11), 511–528. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxy054>
- Okada, T., Afendi, F. M., Altaf-Ul-Amin, M., Takahashi, H., Nakamura, K., & Kanaya, S. (2010). Metabolomics of medicinal plants: the importance of multivariate analysis of analytical chemistry data. *Current computer-aided drug design*, 6(3), 179–196. <https://doi.org/10.2174/157340910791760055>
- Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. (22 de marzo del 2022). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J., & Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature reviews. Immunology*, 11(2), 85–97. <https://doi.org/10.1038/nri2921>
- Pahwa R, Goyal A, Jialal I. Chronic Inflammation. [Updated 2022 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>
- Pal, D. & Pathak, A. K. (2007). Evaluation of anthelmintic activity of leaves of *Callistemon citrinus* Curtis. *Asian Journal of Chemistry*, 19, 2839-2842.
- Parida, S., Siddharth, S., & Sharma, D. (2019). Adiponectin, Obesity, and Cancer: Clash of the Bigwigs in Health and Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2519. <https://doi.org/10.3390/ijms20102519>
- Peters-Golden, M., & Henderson, W. R., Jr (2007). Leukotrienes. *The New England journal of medicine*, 357(18), 1841–1854. <https://doi.org/10.1056/NEJMra071371>
- Petronilho, S., Rocha, S. M., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., & Rios-Chavez, P. (2013). Assessment of the terpenic profile of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels from Mexico. *Industrial Crops and Products*, 46, 369–379. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.012>
- Piek, A., Koonen, D.P.Y., Schouten, EM. *et al.*, Pharmacological myeloperoxidase (MPO) inhibition in an obese/hypertensive mouse model attenuates obesity and liver damage, but not cardiac remodeling. *Sci Rep* 9, 18765 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55263-y>
- Pickens, Charles Austin; Sordillo, Lorraine M.; Zhang, Chen; Fenton, Jenifer I. (2017). Obesity is positively associated with arachidonic acid-derived 5- and 11-hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE). *Metabolism*, 70(), 177–191.
- Pickens, Charles Austin; Sordillo, Lorraine M.; Zhang, Chen; Fenton, Jenifer I. (2017). Obesity is positively associated with arachidonic acid-derived 5- and

- 11-hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE). *Metabolism*, 70(), 177–191. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.01.034>
- Rensen, S. S., Slaats, Y., Nijhuis, J., Jans, A., Bieghs, V., Driessen, A., Malle, E., Greve, J. W., & Buurman, W. A. (2009). Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *The American journal of pathology*, 175(4), 1473–1482. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080999>
- Ronti, T., Lupattelli, G., & Mannarino, E. (2006). The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clinical endocrinology*, 64(4), 355–365. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2006.02474.x>
- Ruder, B., Atreya, R., & Becker, C. (2019). Tumour Necrosis Factor Alpha in Intestinal Homeostasis and Gut Related Diseases. *International journal of molecular sciences*, 20(8), 1887. <https://doi.org/10.3390/ijms20081887>
- Ruiz-Hurtado, P. A., Garduño-Siciliano, L., Domínguez-Verano, P., Balderas-Cordero, D., Gorgua-Jiménez, G., Canales-Álvarez, O., Canales-Martínez, M. M., & Rodríguez-Monroy, M. A. (2021). Propolis and Its Gastroprotective Effects on NSAID-Induced Gastric Ulcer Disease: A Systematic Review. *Nutrients*, 13(9), 3169. <https://doi.org/10.3390/nu13093169>
- Ruiz-Núñez, B., Pruimboom, L., Dijck-Brouwer, D. A., & Muskiet, F. A. (2013). Lifestyle and nutritional imbalances associated with Western diseases: causes and consequences of chronic systemic low-grade inflammation in an evolutionary context. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(7), 1183–1201. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.02.009>
- Saely, C. H., Geiger, K., & Drexel, H. (2012). Brown versus white adipose tissue: a mini-review. *Gerontology*, 58(1), 15–23. <https://doi.org/10.1159/000321319>
- Sáinz, N., Barrenetxe, J., Moreno-Aliaga, M. J., & Martínez, J. A. (2015). Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin. *Metabolism: clinical and experimental*, 64(1), 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.015>
- Sampath, S. et al (2016). Evaluation of total antioxidant and free radical scavenging activities of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels extracts by biochemical and Electron Paramagnetic Resonance analyses. *RSC Advances*, 6, 1-29. <https://doi.org/10.1039/C5RA24410B>
- Sampath, S., Veeramani, V., Krishnakumar, G. S., Sivalingam, U., Madurai, S. L., & Chellan, R. (2017). Evaluation of in vitro anticancer activity of 1,8-Cineole-containing n-hexane extract of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels plant and its apoptotic potential. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 93, 296–307. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.056>
- Sandhya, B., et al., (2006). Ethnomedicinal plants used by the valaiyan community of piranmalai hills (reserved forest), Tamilnadu, India. - a pilot study. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 3(1), 101-114. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v3i1.31145>
- Saucillo, D. C., Gerriets, V. A., Sheng, J., Rathmell, J. C., & Maciver, N. J. (2014). Leptin metabolically licenses T cells for activation to link nutrition and immunity. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 192(1), 136–144. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301158>

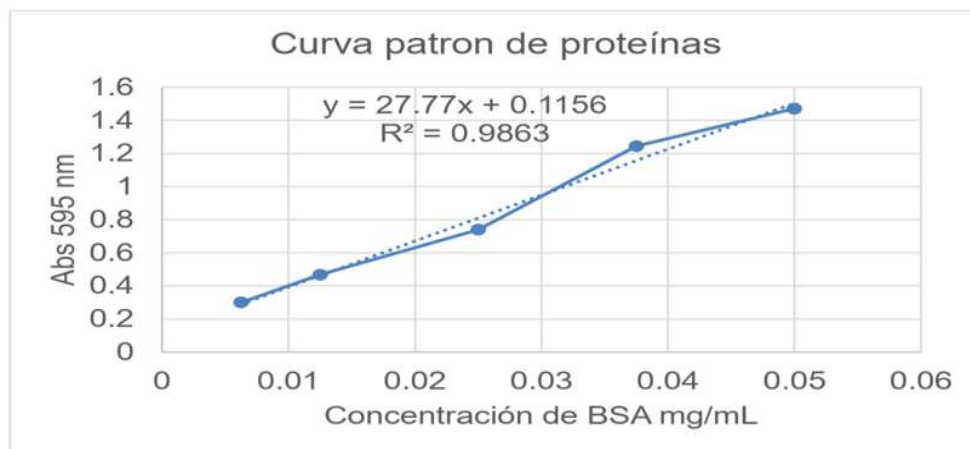
- Savithramma, N., et al., (2011). Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. *Middle-East Journal of Scientific Research* (MEJSR), 8(3), 579–584.
- Shaha, A., & Salunkhe, V. R. (2014). Development and validation of a high performance thin layer chromatographic method for determination of 1, 8-Cineole in *Callistemon Citrinus*. *Pharmacognosy research*, 6(2), 143–147. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.129034>
- Shen, H. M., & Pervaiz, S. (2006). TNF receptor superfamily-induced cell death: redox-dependent execution. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20(10), 1589–1598. <https://doi.org/10.1096/fj.05-5603rev>
- Shoelson, S. E., Herrero, L., & Naaz, A. (2007). Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*, 132(6), 2169–2180. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.059>
- Silva, I. S., Nicolau, L. A. D., Sousa, F. B. M., Araújo, S., Oliveira, A. P., Araújo, T. S. L., Souza, L. K. M., Martins, C. S., Aquino, P. E. A., Carvalho, L. L., Silva, R. O., Rolim-Neto, P. J., & Medeiros, J. V. R. (2017). Evaluation of anti-inflammatory potential of aqueous extract and polysaccharide fraction of *Thuja occidentalis* Linn. in mice. *International journal of biological macromolecules*, 105(Pt 1), 1105–1116. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.142>
- Sirico, F., Bianco, A., D'Alicandro, G., Castaldo, C., Montagnani, S., Spera, R., Di Meglio, F., & Nurzynska, D. (2018). Effects of Physical Exercise on Adiponectin, Leptin, and Inflammatory Markers in Childhood Obesity: Systematic Review and Meta-Analysis. *Childhood obesity* (Print), 14(4), 207–217. <https://doi.org/10.1089/chi.2017.0269>
- Sladoje, D. P., Kisić, B., & Mirić, D. (2017). The Monitoring of Protein Markers of Inflammation and Serum Lipid Concentration in Obese Subjects with Metabolic Syndrome. *Journal of medical biochemistry*, 36(4), 366–374. <https://doi.org/10.1515/jomb-2017-0009>
- Souders, C. L., 2nd, Zubcevic, J., & Martyniuk, C. J. (2022). Tumor Necrosis Factor Alpha and the Gastrointestinal Epithelium: Implications for the Gut-Brain Axis and Hypertension. *Cellular and molecular neurobiology*, 42(2), 419–437. <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01044-z>
- Souza, M. H., Lemos, H. P., Oliveira, R. B., & Cunha, F. Q. (2004). Gastric damage and granulocyte infiltration induced by indomethacin in tumour necrosis factor receptor 1 (TNF-R1) or inducible nitric oxide synthase (iNOS) deficient mice. *Gut*, 53(6), 791–796. <https://doi.org/10.1136/gut.2002.012930>
- Spencer, R. D. & Lumley, P. F. (1991). *Callistemon*. Flora of new South Wales, 168–73.
- Sriuttha, P., Sirichanchuen, B., & Permsuwan, U. (2018). Hepatotoxicity of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *International journal of hepatology*, 2018, 5253623. <https://doi.org/10.1155/2018/5253623>
- Stern, J. H., Rutkowski, J. M., & Scherer, P. E. (2016). Adiponectin, Leptin, and Fatty Acids in the Maintenance of Metabolic Homeostasis through Adipose Tissue Crosstalk. *Cell metabolism*, 23(5), 770–784.

- <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.011>
- Strieter, R. M., Kunkel, S. L., & Bone, R. C. (1993). Role of tumor necrosis factor- α in disease states and inflammation. *Critical care medicine*, 21(10 Suppl), S447–S463. <https://doi.org/10.1097/00003246-199310001-00006>
- Sudhakar, M., et al (2006). Antinociceptive and anti-Inflammatory effects of the standardized oil of Indian *Callistemon lanceolatus* leaves in experimental animals. *East and Central African Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 10-15. <https://doi.org/10.4314/ecaips.v7i1.9706>
- Süntar, I. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochem Rev* 19, 1199–1209 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09629-9>
- Sverdén, E., Agréus, L., Dunn, J. M., & Lagergren, J. (2019). Peptic ulcer disease. *BMJ (Clinical research ed.)*, 367, l5495. <https://doi.org/10.1136/bmj.l5495>
- Szeto, C. C., Sugano, K., Wang, J. G., Fujimoto, K., Whittle, S., Modi, G. K., Chen, C. H., Park, J. B., Tam, L. S., Vareesangthip, K., Tsoi, K., & Chan, F. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) therapy in patients with hypertension, cardiovascular, renal or gastrointestinal comorbidities: joint APAGE/APLAR/APSDE/APSH/APSN/PoA recommendations. *Gut*, 69(4), 617–629. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319300>
- Tiaka, E. K., Manolakis, A. C., Kapsoritakis, A. N., & Potamianos, S. P. (2011). The implication of adiponectin and resistin in gastrointestinal diseases. *Cytokine & growth factor reviews*, 22(2), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2011.04.002>
- Vane J. R. (1996). Introduction: mechanism of action of NSAIDs. *British journal of rheumatology*, 35 Suppl 1, 1–3. https://doi.org/10.1093/rheumatology/35.suppl_1.1
- Vane, J. R., Bakhle, Y. S., & Botting, R. M. (1998). Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 38, 97–120. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.97>
- Vázquez-Vela, M. E., Torres, N., & Tovar, A. R. (2008). White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Archives of medical research*, 39(8), 715–728. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2008.09.005>
- Vedova, M. C. D., Soler Garcia, F. M., Muñoz, M. D., Fornes, M. W., Gomez Mejiba, S. E., Gómez, N. N., & Ramirez, D. C. (2019). Diet-Induced Pulmonary Inflammation and Incipient Fibrosis in Mice: a Possible Role of Neutrophilic Inflammation. *Inflammation*, 42(5), 1886–1900. <https://doi.org/10.1007/s10753-019-01051-9>
- Waluga, M., Kukla, M., Żorniak, M., Bacik, A., & Kotulski, R. (2015). From the stomach to other organs: *Helicobacter pylori* and the liver. *World journal of hepatology*, 7(18), 2136–2146. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i18.2136>
- Wang, B., Wu, L., Chen, J., Dong, L., Chen, C., Wen, Z., Hu, J., Fleming, I., & Wang, D. W. (2021). Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 94. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00443-w>
- Wang, D., & Dubois, R. N. (2012). Associations between obesity and cancer: the role of fatty acid synthase. *Journal of the National Cancer Institute*, 104(5), 343–345. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs010>

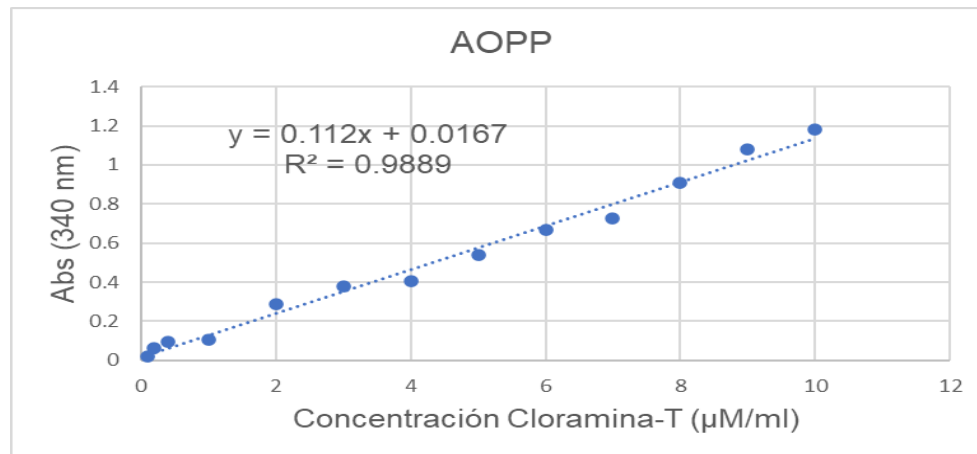
- Wang, L., Gill, R., Pedersen, T. L., Higgins, L. J., Newman, J. W., & Rutledge, J. C. (2009). Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation. *Journal of lipid research*, 50(2), 204–213. <https://doi.org/10.1194/jlr.M700505-JLR200>
- Wang, T., Fu, X., Chen, Q., Patra, J. K., Wang, D., Wang, Z., & Gai, Z. (2019). Arachidonic Acid Metabolism and Kidney Inflammation. *International journal of molecular sciences*, 20(15), 3683. <https://doi.org/10.3390/ijms20153683>
- Williams, C. S., Mann, M., & DuBois, R. N. (1999). The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*, 18(55), 7908–7916. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203286>
- Wisastra, R., & Dekker, F. J. (2014). Inflammation, Cancer and Oxidative Lipoxygenase Activity are Intimately Linked. *Cancers*, 6(3), 1500–1521. <https://doi.org/10.3390/cancers6031500>
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A. T., Zingraff, J., Jungers, P., & Descamps-Latscha, B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney international*, 49(5), 1304–1313. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.186>
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Nguyen Khoa, T., Capeillère-Blandin, C., Nguyen, A. T., Canteloup, S., Dayer, J. M., Jungers, P., Drüeke, T., & Descamps-Latscha, B. (1998). Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 161(5), 2524–2532.
- Włodarczyk, M., & Nowicka, G. (2019). Obesity, DNA Damage, and Development of Obesity-Related Diseases. *International journal of molecular sciences*, 20(5), 1146. <https://doi.org/10.3390/ijms20051146>
- Xie, L., Guo, Y. L., Chen, Y. R., Zhang, L. Y., Wang, Z. C., Zhang, T., & Wang, B. (2020). A potential drug combination of omeprazole and patchouli alcohol significantly normalizes oxidative stress and inflammatory responses against gastric ulcer in ethanol-induced rat model. *International immunopharmacology*, 85, 106660. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106660>
- Yadav, A., Kataria, M. A., Saini, V., & Yadav, A. (2013). Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 417, 80–84. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.12.007>
- Yadav, S. K., Adhikary, B., Chand, S., Maity, B., Bandyopadhyay, S. K., & Chattopadhyay, S. (2012). Molecular mechanism of indomethacin-induced gastropathy. *Free radical biology & medicine*, 52(7), 1175–1187. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.12.023>
- Yamauchi, T., Iwabu, M., Okada-Iwabu, M., & Kadowaki, T. (2014). Adiponectin receptors: a review of their structure, function and how they work. Best practice & research. *Clinical endocrinology & metabolism*, 28(1), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.09.003>
- Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944–5972. <https://doi.org/10.1021/cr200084z>
- Zhong, S., Li, L., Shen, X., Li, Q., Xu, W., Wang, X., Tao, Y., & Yin, H. (2019). An update on lipid oxidation and inflammation in cardiovascular diseases. *Free*

9. ANEXOS

Anexo 1. Curva patrón de determinación de proteínas totales



Anexo 2. Curva patrón de determinación de los productos avanzados de la oxidación de proteínas



Anexo 3. Curvas patrón para la determinación del MDA y 4-HNE

