



**BRUNA NOGUEIRA ANDRADE**

**EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE CARQUEJA  
(*Baccharis trimera* (Less). DC) NO MODELO ZEBRAFISH  
PARA OBESIDADE NA FASE JUVENIL**

**LAVRAS – MG**

**2022**

**BRUNA NOGUEIRA ANDRADE**

**EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE CARQUEJA (*Baccharis trimera* (Less.)  
DC) NO MODELO ZEBRAFISH PARA OBESIDADE NA FASE JUVENIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares. Área de concentração Bioatividade de Plantas Medicinais para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr<sup>o</sup>. Luis David Solis Murgas

Coorientador: Dr<sup>o</sup>. William Franco Carneiro

**LAVRAS – MG  
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Andrade, Bruna Nogueira.

Efeitos do óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera*  
(Less). DC) no modelo zebrafish para obesidade na fase juvenil /  
Bruna Nogueira Andrade. - 2022.

38 p.

Orientador(a): Luis David Solis Murgas.

Coorientador(a): William Franco Carneiro.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Danio rerio. 2. Alterações metabólicas. 3. Tecido adiposo. I.  
Murgas, Luis David Solis. II. Carneiro, William Franco. III. Título.

**BRUNA NOGUEIRA ANDRADE**

**EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE CARQUEJA (*Baccharis trimera* (Less.)  
DC) NO MODELO ZEBRAFISH PARA OBESIDADE NA FASE JUVENIL**

**EFFECTS OF CARQUEJA ESSENTIAL OIL (*Baccharis trimera* (Less.) DC) ON  
THE ZEBRAFISH MODEL FOR JUVENILE OBESITY**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares. Área de concentração Bioatividade de Plantas Medicinais para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 30 de maio de 2022

Dr <sup>o</sup> . Luis David Solis Murgas	UFLA
Dr <sup>o</sup> . William Franco Carneiro	UFLA
Dra. Stefânia Priscilla de Souza	UFLA
Dra. Gilmara Junqueira Machado	Centerfish

Orientador: Dr<sup>o</sup>. Luis David Solis Murgas

Coorientador: Dr<sup>o</sup>. William Franco Carneiro

**LAVRAS – MG**

**2022**

Á minha mãe Clarice, por sempre estar ao meu lado.  
pela dedicação e carinho. A você dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, saúde, pelas oportunidades, por sempre guiar o meu caminho e dar força e entusiasmo para não desistir. Ao professor e orientador Murgas, por ter me recebido com paciência e atenção, pelo apoio, confiança, ensinamentos, por sempre me tranquilizar e convencer a acreditar que eu seria capaz, obrigada!

Aos colegas do Biotério, agradeço por toda ajuda e conhecimento compartilhado. Em especial, minha gratidão ao Moisés e William, pelo suporte e ensinamentos, vocês foram essenciais para que eu chegasse até o final. À minha mãe Clarice, exemplo de dedicação e amor ao próximo, obrigada por tudo que fez e continua fazendo por mim, pelo apoio e carinho, você é minha força! Ao meu pai, Otaviano, pelo suporte e ajuda em todos esses anos, muito obrigada!

Ao meu namorado Gustavo, pela amizade, compreensão, cumplicidade, paciência e pelas palavras incentivadoras. Obrigada por toda sua ajuda, carinho e pelo cuidado que tem comigo. À Universidade Federal de Lavras. O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

Muito obrigada!

*“A humildade é a chave que abre todas as portas”.*

*(São Francisco de Assis)*

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera*), em modelo de obesidade induzida por dieta em juvenis de zebrafish, por meio da avaliação do peso e comprimento, glicemia, parâmetros bioquímicos como colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos e análise histológica do tecido adiposo visceral. Foi realizado um experimento para indução de obesidade através de uma dieta hipercalórica, onde avaliou-se os potenciais efeitos do óleo essencial de carqueja como agente atenuante das alterações causadas pela hiperalimentação. Neste experimento, utilizaram-se 120 exemplares de juvenis de zebrafish, divididos em 3 tratamentos, com quatro repetições. Os tratamentos incluíram o uso de ração comercial (T1), ração comercial + gema de ovo (T2) e ração acrescida de óleo essencial de carqueja + gema de ovo (T3). Após 8 semanas de experimento, realizou-se as medições de peso e comprimento e em seguida os procedimentos de coleta de sangue para determinação da glicemia. Foram retiradas amostras de 12 animais de cada tratamento para as demais análises. Os resultados encontrados mostraram que os animais que consumiram ração com óleo de carqueja obtiveram níveis reduzidos de LDL e triglicerídeos, com resultados significativos ( $p < 0,05$ ) e níveis mais altos de HDL. Para valores de peso e comprimento, glicose plasmática e para a análise morfométrica dos adipócitos da região visceral, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que o óleo essencial de carqueja exerce efeito na redução dos níveis de triglicerídeos e LDL e níveis mais elevados de HDL em juvenis de zebrafish expostos à dieta para indução de obesidade.

**Palavras-chave:** *Danio rerio*, alterações metabólicas, tecido adiposo.

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of carqueja essential oil (*Baccharis trimera*), in a model of diet-induced obesity in zebrafish juveniles, through the evaluation of weight and length, blood glucose, biochemical parameters such as total cholesterol, HDL, LDL and triglycerides and histological analysis of visceral adipose tissue. An experiment was carried out to induce obesity through a hypercaloric diet, where the potential effects of carqueja essential oil as a mitigating agent of the changes caused by hyperalimentation were evaluated. In this experiment, 120 juvenile zebrafish specimens were used, divided into 3 treatments, with four replications. carqueja + egg yolk (T3). After 8 weeks of experiment, measurements of weight and length were carried out and then the blood collection procedures to determine blood glucose. Samples were taken from 12 animals of each treatment for the other analyses. The results found showed that the animals that consumed diet with carqueja oil showed an improvement in the lipid profile, with significant results ( $p < 0.05$ ) for a decrease in LDL and triglycerides and an increase in HDL. For weight and length, plasma glucose and morphometric analysis of visceral adipocytes, there was no significant difference ( $p > 0.05$ ). The results obtained in this study allow us to conclude that carqueja essential oil has an effect on decreasing triglycerides and LDL values and increasing HDL in zebrafish juveniles exposed to the diet to induce obesity.

**Keywords:** *Danio rerio*, metabolic alterations, adipose tissue.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Detalhes da <i>Baccharis trimera</i> <b>A:</b> a planta em forma de arbusto; <b>B:</b> folhas com ramos cilíndricos, trilaterais, afilos ou com raras folhas sésseis; <b>C:</b> planta triturada.....	13
Figura 2: Estrutura química do Carquejol e Acetato de Carquejila.....	16
Figura 3: Níveis de glicose em jejum ao final das oito semanas dos tratamentos 1, 2 e 3. ....	27
Figura 4: Análise de colesterol, triglicerídeos, LDL e HDL dos tratamentos 1, 2 e 3... ..	29
Figura 5: Morfometria dos adipócitos viscerais. ....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS

CT	Colesterol Total
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
RENISUS	Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
TG	Triglicerídeos
TCE	Taxa de Crescimento Específico
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	OBJETIVOS .....	12
2.1	Objetivo geral.....	12
2.2	Objetivos específicos.....	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
3.1	Carqueja ( <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC) .....	13
3.2	Óleo essencial de carqueja ( <i>Baccharis trimera</i> ).....	15
3.3	A Obesidade .....	17
3.4	O Zebrafish como modelo para obesidade .....	19
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	21
4.1	Aprovação do Comitê de Ética e Bem Estar Animal .....	22
4.2	Obtenção do Óleo Essencial de Carqueja.....	22
4.3	Alimentação .....	22
4.4	Indução da Obesidade Por Superalimentação .....	22
4.5	Avaliação do peso e comprimento .....	23
4.6	Parâmetros de crescimento (TCE e IMC) .....	23
4.7	Parâmetros Bioquímicos .....	24
4.8	Avaliação Histológica .....	24
5	Análise Estatística .....	25
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
6.1	Crescimento do zebrafish .....	25
6.2	Níveis de glicose no sangue .....	26
6.3	Parâmetros bioquímicos .....	28
6.4	Parâmetros histológicos.....	30
7	CONCLUSÃO .....	31
8.	REFERÊNCIAS .....	32

## 1. INTRODUÇÃO

Considerada como uma epidemia global, a obesidade tem crescido em números alarmantes, estima-se que aproximadamente 600 milhões de pessoas no mundo todo já são afetadas por esta doença (ABESO, 2021). Classificada como uma doença crônica, é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal provocada pelo desequilíbrio no balanço entre o consumo e gasto energético. Sua etiologia multifatorial está relacionada a fatores genéticos, ambientais, comportamentais e socioculturais.

Estudos descrevem a obesidade como fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, dislipidemias, diabetes mellitus, hipertensão e problemas osteoarticulares, acarretando altos custos para o sistema de saúde do Brasil (FIGUEIREDO et al., 2021). Diante do impacto provocado pela obesidade, tem se buscado alternativas que possam contribuir para sua prevenção e tratamento, como o uso de plantas medicinais, que é considerado como uma das práticas mais antigas na medicina popular para curar e prevenir doenças (RODRIGUES et al., 2011).

O Brasil possui uma vasta biodiversidade e muitas plantas são usadas na medicina tradicional brasileira, tendo em vista esta importância cultural e biológica e no intuito de orientar pesquisas e estudos, algumas plantas foram inseridas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde- RENISUS (BRASIL, 2009), estando a carqueja inserida nesta lista.

Algumas espécies de plantas medicinais são amplamente difundidas pela medicina popular como detentoras de propriedades emagrecedoras, digestivas, auxiliares no controle da glicemia e colesterol, entre outras. Dentro deste contexto, a espécie *Baccharis trimera*, conhecida popularmente como carqueja ou carqueja amarga, tem seu uso reconhecido pela medicina popular no auxílio do tratamento da obesidade, sendo uma das espécies mais citadas para perda de peso. Seu uso popular como diurético e para o tratamento de doenças hepáticas, diabetes e distúrbios digestivos também é amplamente divulgado (RABELO e COSTA, 2018).

A infusão feita das folhas secas da espécie é uma das formas mais utilizadas pela população e poucos estudos foram realizados com o óleo essencial da *Baccharis trimera*. A investigação dos componentes presentes nas plantas medicinais, assim como a avaliação da toxicidade e propriedades terapêuticas dos óleos essenciais extraídos das plantas, é de suma importância para a população para que se avalie e comprove a segurança do seu uso ou que

futuramente possa ter substâncias isoladas para elaboração de fitoterápicos seguros que possam auxiliar no tratamento das alterações que o sobrepeso e a obesidade podem provocar.

O peixe *Danio rerio* (zebrafish ou paulistinha), é um modelo animal que tem seu uso reconhecido em pesquisas de diversas áreas, como toxicologia, patologias humanas e distúrbios metabólicos. Por possuir 70% de homologia genética com mamíferos e compartilhar genes relacionados com doenças humanas, pode ser considerado como um modelo experimental para humanos, trazendo benefícios como a fácil manutenção e manipulação devido ao seu pequeno porte, baixo custo, comportamento fácil de ser monitorado, podendo ser utilizado em testes toxicológicos e pesquisas *in vivo* para estudo da obesidade.

Não existem estudos na literatura que avaliaram a ação da espécie *Baccharis trimera* ou com o seu óleo essencial no modelo Zebrafish. Portanto, o modelo vertebrado Zebrafish também se caracteriza como um modelo promissor para a investigação dos efeitos das plantas medicinais, pois o seu uso proporciona uma redução do número de animais em ensaios posteriores.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos do óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera*) no modelo de obesidade induzida por dieta, através da oferta de hiperalimentação e avaliar as possíveis alterações nos parâmetros fisiológicos e morfológicos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar parâmetros como peso e comprimento dos animais;
- Avaliar os níveis glicêmicos no modelo zebrafish;
- Avaliar parâmetros relacionados ao perfil lipídico, como colesterol total, triglicerídeos, HDL e LDL no zebrafish;
- Avaliar a prevenção de sobrepeso e obesidade no animal tratado com ração adicionada de óleo essencial de carqueja;
- Avaliar o acúmulo de gordura nos adipócitos viscerais no zebrafish.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) DC)

A espécie *Baccharis trimera* (Less.) DC., popularmente conhecida como carqueja ou carqueja amarga, pertence à família Asteraceae e é reconhecida como sendo a espécie mais estudada dentro do gênero *Baccharis* (BUDEL & DUARTE, 2009). Outros nomes populares são usados para se referir a carqueja dependendo da região, como: vassourinha, carquejinha, bacanta, bacárida, carqueja do mato, carqueja margosa, carque, cacália amarga, condamina, vassoura, três espigas e tiririca de babado. A forma mais utilizada pela medicina popular é através da infusão, por apresentar propriedades como: cicatrizante, diurética, anti-inflamatória e digestiva (PEDRAZZI et al., 1997).

Estudos etnobotânicos mostram que a carqueja é utilizada para tratamento de diabetes, doenças digestivas e hepáticas. Seu efeito hepatoprotetor foi confirmado em estudo com ratos Wistar em modelo de doença hepática gordurosa não alcoólica, onde o tratamento com a carqueja atuou na melhora da esteatose, superando os efeitos encontrados no uso do tratamento padrão (BARBOSA et al., 2020).

Observando macroscopicamente a espécie, como na figura 1, *Baccharis trimera* se apresenta como um arbusto com ramos cilíndricos que podem atingir até 1 metro de comprimento, papilosos ou com algumas folhas sésseis, verdes, glabros, podendo medir de 0,5 a 1,5 centímetros de largura e com inflorescência esbranquiçada dispostas lateralmente aos ramos (RABELO & COSTA, 2018).

Figura 1: Detalhes da *Baccharis trimera* **A**: a planta em forma de arbusto; **B**: folhas com ramos cilíndricos, trilaterais, afilos ou com raras folhas sésseis; **C**: planta triturada.



Fonte: (RABELO & COSTA, 2018)

Existem relatos de aproximadamente 400 espécies do gênero *Baccharis*, elas se desenvolvem em solos altos, rochosos, arenosos, beiras de estradas e são muito encontradas no Brasil nas regiões de Minas Gerais, Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul. Podem ser encontradas também na Argentina, Paraguai, Peru, Uruguai e Bolívia (ALONSO, 1998).

A espécie *Baccharis trimera* está inserida na Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS, 2021) que tem como objetivo orientar, direcionar e fortalecer estudos com estas espécies de interesse para a saúde pública. Carqueja é amplamente utilizada na América do Sul na forma de infusão, decocção e tintura obtida de suas partes aéreas. Na espécie são encontrados diversos compostos ativos como: lactonas diterpênicas, sesquiterpenos, flavonóides, saponinas, taninos, compostos fenólicos e óleos essenciais (SIMÕES et al., 1998).

No Brasil, a carqueja é uma das espécies mais citadas e utilizadas popularmente para a perda de peso (CERCATO et al., 2015). Os benefícios da carqueja no tratamento da obesidade se justificam por apresentar atividade antioxidante, atuando também na prevenção do desenvolvimento de doenças causadas pelo estresse oxidativo e amenizar a adipogênese (NASCIMENTO et al., 2017).

No estudo realizado por NASCIMENTO et al. (2017) onde se investigou os efeitos antiadipogênicos dos extratos aquoso, decocção e extrato metanólico da espécie, foi identificado que estes, principalmente a decocção, foram capazes de atuar no processo da adipogênese, diminuindo os fatores de transcrição adipogênicos e sugerem que a presença dos ácidos clorogênicos na planta, pode ser outro fator que contribui para seu efeito antiadipogênico e antioxidante.

A capacidade cardioprotetora da espécie também desperta interesse e foi investigada em um estudo com ratos Wistar, onde os animais foram expostos a fatores de risco e tratados com extrato da planta. Pesquisadores obtiveram um resultado positivo na reversão das alterações histopatológicas cardíacas e renais, atribuindo a capacidade hipolipemiante e a inibição de radicais livres da espécie como um efeito cardioprotetor (SOUZA et al., 2020).

Outras atividades, como a capacidade leishmanicida também foi identificada, onde se encontrou um resultado satisfatório utilizando o extrato da carqueja e suas frações contra a *Leishmania amazonensis*, causadora da leishmaniose, sendo de relevância para pesquisas e desenvolvimento de novos medicamentos (SAHID et al., 2021).

Quanto à toxicologia do uso da infusão feita com a carqueja, em doses usuais e por períodos não muito extensos, não foram encontrados efeitos negativos com uso da espécie

*Baccharis trimera*. Devido a estimulação que seu uso pode exercer sob a musculatura uterina, a carqueja não deve ser utilizada por mulheres grávidas (ALONSO, 1998).

Uma revisão das atividades biológicas e farmacológicas da carqueja foi realizada por Rabelo e Costa (2018) onde identificaram as principais atividades biológicas da espécie sendo elas: antioxidante, protetor gástrico e hepático, antifúngico, antiparasitário, antimicrobiano, antiinflamatório e sua contribuição na perda de peso. Os autores associam esses efeitos aos compostos presentes na parte aérea da planta, sendo eles os flavonóides, terpenos e ácidos clorogênicos.

### **3.2 Óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera*)**

Óleos essenciais são óleos obtidos de plantas, através de processos físicos, que evaporam à temperatura ambiente, sem deixar resíduos. São compostos por misturas complexas de substâncias de baixa massa molecular, que determinam seu odor e sabor (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019).

Os óleos essenciais também chamados de óleos voláteis, são produtos do metabolismo secundário das plantas e estão presentes em plantas aromáticas, sendo armazenados em estruturas especializadas das mesmas. A extração ocorre por meio de diversas técnicas, como destilação por arraste à vapor, hidrodestilação, extração com solvente e por prensagem. Em sua composição são encontrados principalmente mono e sesquiterpenos e os fenilpropanóides, os quais são responsáveis pela caracterização organoléptica do óleo essencial (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

A composição do óleo essencial é definida por fatores genéticos, contudo, alguns fatores bióticos e abióticos, como: luminosidade, temperatura, pluviosidade, época e horário da colheita, nutrição, solo e as práticas de colheita e pós colheita, podem interferir significativamente na biossíntese dos compostos da planta, gerando diferenças no rendimento e na composição dos óleos essenciais (DE MORAIS, 2009).

O uso dos óleos essenciais é bastante amplo, estando presentes na perfumaria, indústria de cosméticos e alimentícia, como inseticidas e também na indústria química e farmacêutica, onde podem ser usados na síntese de outras substâncias e na composição de medicamentos (CRAVEIRO et al., 1981).

Por serem produtos encontrados na natureza de forma fácil e sua possível contribuição no estado de saúde, os óleos essenciais tem gerado interesse da indústria farmacêutica devido

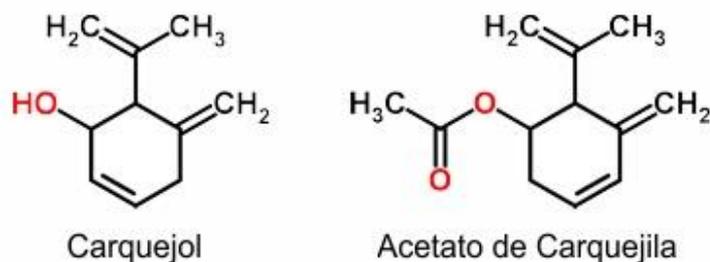
suas atividades farmacológicas (DA ROCHA; DE MORAIS FERREIRA; GONÇALVES, 2022).

O óleo essencial de carqueja possui odor forte e característico, sendo um líquido amarelado, composto majoritariamente por carquejol e acetato de carquejila. Seus compostos podem ser divididos em quatro subclasses: monoterpenos (Sabineno,  $\beta$ -Pinenos,  $\beta$ -Felandreno, D-Limoneno e *cis*- $\beta$ -Ocimeno), monoterpenos oxigenados (Carquejol e Acetato de carquejila), sesquiterpenos ( $\beta$ -Elemeno,  $\beta$ -Copaeno,  $\beta$ -Humuleno,  $\gamma$ -Elemeno,  $\beta$ -Cadineno e  $\beta$ -Selinino) e sesquiterpenos oxigenados (Germacreno-D-4-ol e Elemol) (GOMES et al., 2018). Em sua composição também apresenta flavonóides como a quercetina, luteolina, nepetina, apigeina, genkwanina e eriodictiol, assim como diterpenos, taninos e saponinas (SILVA et al., 2013).

O monoterpeno carquejol e o acetato de carquejila são considerados marcadores químicos importantes para validação da autenticidade de amostras comercializadas do óleo essencial de carqueja. Os pesquisadores Naves Yves-Rene e Caujolle Fernand estudaram os efeitos farmacológicos do carquejol, e as propriedades analgésica e hipotérmica foram patenteadas nos Estados Unidos em 1963. (YVES-RENE; FERNAND, 1963).

Na figura 2, estão representadas as estruturas químicas do carquejol e acetato de carquejila.

Figura 2: Estrutura química do Carquejol e Acetato de Carquejila



Fonte: <https://www.oleos essenciais.org/oleo-essencial-de-carqueja/>

Existem poucos estudos avaliando o óleo essencial de *Baccharis trimera*. Alguns avaliaram a atividade esquistossomicida, outros a atividade antifúngica e um estudo recente, relatou a melhora da cicatrização de úlcera gástrica em ratos (OLIVEIRA et al., 2012; CANESCHI et al., 2015; BUENO et al., 2021). A atividade anti *Candida albicans* foi comprovada, diminuindo a virulência e patogenicidade, sendo uma possível alternativa para o

desenvolvimento de novos tratamentos de candidíase e outras infecções provocadas por fungos (DA SILVA et al., 2021).

Quanto ao efeito do óleo essencial da espécie *Baccharis trimera* na obesidade, um estudo realizado por Bueno et al. (2019) utilizando o óleo essencial em camundongos submetidos a uma dieta rica em gordura, onde os animais apresentaram alteração na massa corporal, dislipidemia e resistência insulínica, foi identificado a diminuição da enzima alanina aminotransferase (ALT) e aumento nos valores de interleucina- 10.

Em relação a toxicidade do óleo essencial de carqueja, há a necessidade de mais pesquisas aprofundadas referentes à sua segurança toxicológica, pois pouco se tem relatos na literatura referentes ao seu uso. Em estudo com ratos, que receberam óleo essencial de *B. trimera* durante 7, 10 e 14 dias consecutivos, a avaliação de parâmetros subagudos de toxicidade não demonstrou efeitos negativos durante este período. Estudos anteriores comprovam a composição fitoquímica do óleo essencial de carqueja, portanto, é esperado que este também apresente atividades farmacológicas características da espécie. (BUENO et al., 2021).

### 3.3 A Obesidade

Nos últimos anos a população mundial teve um aumento significativo do peso corporal. Segundo a Organização Mundial da Saúde- OMS, a obesidade é uma patologia que se caracteriza pelo acúmulo excessivo de gordura, provocando impactos negativos na qualidade de vida e redução da longevidade. Para o diagnóstico da obesidade de forma geral, em adultos é adotado o Índice de Massa Corporal (IMC) que é feito através da divisão do peso corporal, em quilogramas, pela altura ao quadrado, em metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), onde se caracteriza como obesidade valores de IMC iguais ou superiores a  $30 \text{ kg}/\text{m}^2$  (WHO, 2013).

A obesidade é definida como uma epidemia que atinge muitos países, principalmente os desenvolvidos. No Brasil, a situação não é diferente, segundo dados da Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas, realizada por meio de Inquérito Telefônico VIGITEL (2018), realizada pelo Ministério da Saúde, a obesidade cresceu no país, com um aumento de 67,8% nos últimos treze anos, representando 19,8% da população em 2018 (VIGITEL, 2018; OLIVEIRA et.al, 2020).

Considerada como uma Doença Crônica Não Transmissível – DCNT, a obesidade possui vários fatores associados, como hábitos, fisiologia, fatores psicológicos e uma etiologia complexa (MATOSINHOS, 2015) e pode acarretar complicações como o desenvolvimento de

vários tipos de câncer, hipertensão, dislipidemias, hipercolesterolemia, hiperglicéridemia, doença hepática não alcoólica e esteatohepatite não alcoólica (WHO, 2002).

A obesidade é considerada um fator agravante para diversas comorbidades, provocando alterações metabólicas e disfunções respiratórias. Estudos que avaliaram a função pulmonar apontam em indivíduos obesos apresentam uma redução dos volumes e capacidades pulmonares quando comparados a indivíduos eutróficos (MELO; SILVA; CALLES, 2014).

Pesquisadores investigam o pior prognóstico encontrado em pacientes obesos que apresentam quadros de infecções virais, desde a gripe espanhola em 1918 à pandemia provocada pelo vírus SARS-Cov-2 (Síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2) que caracteriza a COVID-19. O estado inflamatório presente na COVID-19, somado à inflamação crônica característica da obesidade, gera um risco inflamatório de difícil manejo clínico, deixando os indivíduos obesos mais propensos a desenvolver formas mais graves da doença (BANERJEE et al. 2020; MARTELLETO et al., 2021)

A identificação de um obeso não saudável é feita por pontos de corte como a medição da pressão arterial, glicemia em jejum, hemoglobina (Hb) A1c, resistência à insulina, níveis de colesterol lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), colesterol total (CT) e triglicérides (UPADHYAY, 2018).

O aumento excessivo de tecido adiposo, condição presente na obesidade, pode provocar a chamada síndrome metabólica, caracterizada por uma série de alterações metabólicas que provocam um aumento no risco de desenvolvimento de diabetes e doenças cardiovasculares.

No Brasil, o critério para avaliação e diagnóstico da síndrome metabólica é o proposto pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I -DBSM) sendo avaliados fatores como: obesidade abdominal, onde a circunferência da cintura aceitável para homens é  $\geq 102$  cm e  $\geq 88$  cm para mulheres, triglicérides aumentado, colesterol HDL reduzido, pressão arterial elevada e glicemia de jejum alterada. Para se considerar um indivíduo portador de síndrome metabólica, ele deve apresentar no mínimo 3 destes fatores (SILVA et al. 2021).

O tecido adiposo não tem a função apenas de armazenamento de gordura em forma de triacilglicerol para geração de energia e manutenção da temperatura corporal, é considerado como um órgão endócrino metabolicamente ativo capaz de produzir moléculas, como as chamadas adipocinas, que atuam como peptídeos bioativos e participam na homeostase energética e controle neuroendócrino. As adipocinas podem ser pró inflamatórias ou anti inflamatórias, em condições normais, as anti inflamatórias se encontram em maior quantidade,

já na obesidade, as adipocinas pró-inflamatórias predominam, (SOARES *et.al*, 2020) gerando um quadro de inflamação sistêmica de baixo grau, que pode acarretar em risco cardiovascular.

A obesidade está associada a diversos impactos na qualidade de vida e na saúde, aumentando o risco para o desenvolvimento de diversas doenças. Atualmente, esse risco é atribuído ao estado de inflamação crônica, onde os adipócitos hipertrofiados tem maior chance de ativação de mecanismos de estresse nas células, assim como o aumento de citocinas pró inflamatórias, como TNF alfa, IL-6, MCP-1 e IL-1 $\beta$  gerando um estado de inflamação crônica no tecido adiposo (ALBASHIR, 2020).

Composto principalmente por adipócitos, o tecido adiposo possui outros tipos de células como: macrófagos, linfócitos, fibroblastos e células vasculares. Os macrófagos podem ser classificados em duas classes, sendo a chamada de M1 a responsável por produzir citocinas pró-inflamatórias como o TNF-  $\alpha$  e a classe M2, que produz citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 (LUMENG *et al.*, 2007).

A resistina e a leptina são adipocinas pró-inflamatórias e estão elevadas em pessoas obesas, assim como os macrófagos do subtipo M1. Já as adipocinas anti-inflamatórias como a adiponectina, interleucina-4 e interleucina-10 são encontradas em menores quantidades em pessoas obesas, contribuindo para uma inflamação sistêmica crônica (ALMEIDA, 2017; SOARES *et al.*, 2020).

Os impactos provocados pela obesidade mostram a necessidade de se manter uma dieta equilibrada associada a hábitos de vida saudáveis, assim como a busca por alternativas que possam atuar na prevenção de quadros de sobrepeso e obesidade e reforçam a necessidade de se investigar o uso das plantas medicinais difundidas popularmente com a promessa de perda de peso e melhoria dos parâmetros ligados à obesidade.

### **3.4 O Zebrafish como modelo para obesidade**

O *Danio rerio*, também conhecido por zebrafish, paulistinha ou peixe-zebra é um vertebrado que habita águas doces e tem sua origem na Ásia. Considerado um modelo experimental economicamente viável, de fácil manipulação em biotérios e de rápido desenvolvimento (48 a 72 horas pós fertilização já atinge o estágio larval e em 3 meses a maturidade reprodutiva) tem sido muito utilizado como modelo animal em pesquisas para investigar várias doenças que acometem o ser humano (ESCALEIRA, 2017).

Adotado como modelo experimental para pesquisas de diversas áreas, o zebrafish possuiu semelhanças fisiológicas e morfológicas com os mamíferos e seu genoma foi sequenciado, comprovando 70% de homologia genética com mamíferos. Outra vantagem é por se tratar de uma espécie de rápido desenvolvimento embrionário e por ser extrauterino, com desenvolvimento de órgãos nos estágios iniciais e possuir transparência, que permite a visualização de vários fenótipos e processos envolvidos na embriogênese. Além destas vantagens, o zebrafish possui alta taxa de fecundidade, gerando muitos embriões diários, o que facilita as pesquisas em larga escala (ZON; PETERSON, 2005).

Devido a história evolutiva ser compartilhada com mamíferos, o zebrafish apresenta características anatômicas e fisiológicas homólogas com humanos, além de permitir aos pesquisadores realizarem testes a níveis bioquímicos, genéticos e celulares. Estas semelhanças e características, facilitam a realização de estudos importantes para a compreensão dos processos envolvidos e que impactam a saúde humana (GARCIA, NOYES; TANGUAY, 2016).

O zebrafish se apresenta como um modelo eficaz no processo de desenvolvimento de novos medicamentos uma vez que associa as vantagens das análises *in vitro* e das análises fisiológicas dos estudos que envolvem animais, contribuindo para a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos (DEO; MACRAE, 2011). A avaliação da toxicidade utilizando o zebrafish unem as vantagens dos ensaios de toxicidade *in vitro* e *in vivo*, permitindo a avaliação da toxicidade prematura no processo de desenvolvimento de medicamento (ZON; PETERSON, 2005).

Utilizado como modelo para diversas doenças e na avaliação da toxicidade de extratos vegetais e óleos essenciais, o zebrafish se caracteriza como um modelo promissor a ser estudado, contribuindo para o desenvolvimento de fármacos e identificação de mecanismos de patologias que impactam negativamente a vida do ser humano. Seu uso para uma triagem inicial em testes de toxicidade se torna vantajoso pois possui um custo mais baixo, necessitando de uma quantidade reduzida dos compostos usados para estes testes, que se apresentam muitas vezes em quantidade reduzida e de alto valor (GARCIA; NOYES; TANGUAY, 2016).

Para o estudo da obesidade e suas complexidades, como órgãos e vias metabólicas envolvidas, o uso de modelos animais se faz necessário para o melhor entendimento das alterações envolvidas nessa patologia. Estudos com roedores são muito utilizados para o estudo da obesidade, porém necessitam de uma infraestrutura, equipe e suporte consideravelmente mais caros. O modelo animal utilizando o zebrafish se mostrou eficaz para o desenvolvimento de pesquisas para o entendimento dos processos relacionados à obesidade (OKA et al., 2010).

O zebrafish se consolidou como um ótimo modelo para o estudo e pesquisas relacionadas à obesidade pois possui órgãos semelhantes aos encontrados nos mamíferos, os quais estão envolvidos no metabolismo, assim como órgãos do aparelho digestivo, tecido adiposo e músculo esquelético e também as funções como armazenamento de lipídeos e regulação do apetite e insulina. O modelo zebrafish tem sido cada vez mais utilizado devido à presença das vias metabólicas que controlam o peso corporal nos mamíferos estarem presentes também no zebrafish (ZANG et al., 2018). Esta compatibilidade das vias fisiológicas da espécie com os mamíferos, faz com que o zebrafish responda bem à dietas obesogênicas, como aumento do peso corporal e dos triglicérides. O comportamento mais exploratório em testes de ansiedade e a menor resposta a estímulos, também foram verificados nesta espécie quando submetida a condição de dieta obesogênica (ANWER et al., 2022).

A primeira pesquisa utilizando a indução de obesidade através de dieta no zebrafish, foi realizada em 2010 por OKA et al., e teve a validação de métodos como análises químicas e histológicas, tratamentos dietéticos e análises de tecido visceral. Houve a confirmação de que mamíferos obesos e o zebrafish compartilham de vias fisiológicas comuns e consolidou o zebrafish como um modelo alternativo e eficaz nos estudos de obesidade induzida por dieta e para teste de novas substâncias que possam auxiliar o tratamento da obesidade humana. Após este estudo, outras pesquisas foram feitas utilizando o zebrafish como modelo animal de pesquisa.

Em um recente estudo realizado por VIROTE et al. (2020), onde se avaliou a prole de zebrafish oriundos de pais obesos, foi observado que a prole apresentou deformidades e distúrbios metabólicos como hiperglicemia e altos níveis de triglicérides, provocando alta letalidade na prole cerca de 60 dias pós fertilização. Resultados semelhantes foram relatados em mamíferos, onde a obesidade impacta negativamente a prole.

A semelhança estrutural e funcional com humanos presentes no zebrafish consolidou o seu uso como modelo para o estudo de várias doenças, assim como o modelo de obesidade.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido na Ala de Peixes do Biotério da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Minas Gerais (MG), Brasil.

#### **4.1 Aprovação do Comitê de Ética e Bem Estar Animal**

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal da Universidade Federal de Lavras-UFLA, sob o número 003/2021 e atende às diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONSEA) para o cuidado e uso de animais de laboratório.

#### **4.2 Obtenção do Óleo Essencial de Carqueja**

O óleo essencial de carqueja foi adquirido da empresa Lazlo® Aromaterapia LTDA, origem Brasil, cultivo orgânico. O método de extração utilizado foi a extração à vapor das folhas e este foi analisado por cromatografia gasosa combinada com um detector de espectrometria de massa, onde foram identificados oito compostos: acetato de carquejila (52 - 60%), globulol (1-2%), limoneno (4-7%), pineno (6-9%),  $\beta$ -elemeno (2-3%),  $\beta$ -cariofileno (1-2%),  $\beta$ -cadinemo (1-3%) e sabineno (1%).

#### **4.3 Alimentação**

A ração comercial utilizada foi a Ovo.Vit® (Tropical Import) considerada de alto valor energético, contendo 43% proteína bruta e 6,5% de gordura bruta, segundo o fabricante. Para adição do óleo essencial, o mesmo foi diluído em etanol (1:100) e acrescentado na ração comercial previamente moída. Após a mistura ser feita, a ração ficou por um período de 24 horas à temperatura controlada para evaporação do etanol. Foi realizada a análise de matéria seca, extrato etéreo e proteína bruta de acordo com AOAC (Association of Official Agricultural Chemists, 2005) da ração adicionada de óleo de carqueja e esta apresentou 47% de proteína bruta, 6% gordura bruta, matéria seca 90% e umidade 9%.

A gema de ovo em pó utilizada neste estudo foi a da marca Naturovos (Salvador do Sul, RS, Brasil) composta por 31% de proteína bruta e 64% de gordura bruta.

#### **4.4 Indução da Obesidade Por Superalimentação**

Foram utilizados 120 juvenis de zebrafish (linhagem WT) de ambos os sexos, com 2 meses de idade aproximadamente. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3

tratamentos, com 4 réplicas cada um, totalizando 12 aquários contendo 10 peixes cada e foram divididos nos respectivos grupos:

**Tratamento 1:** ração comercial 5 vezes ao dia *ad libitum*.

**Tratamento 2:** ração comercial 4 vezes ao dia *ad libitum* e 10mg/peixe de gema de ovo uma vez ao dia.

**Tratamento 3:** ração comercial acrescida de 1% de óleo essencial de *Baccharis trimera*, 4 vezes ao dia *ad libitum* + 10mg/peixe de gema de ovo uma vez ao dia.

O protocolo de alimentação foi adaptado de Zang et al. (2017) e Virote et al. (2020). Os animais foram alimentados por um período de oito semanas, cinco vezes ao dia (8h,10h,12h, 14h e 16h). Os animais do grupo T2 e T3 foram alimentados com gema de ovo na última alimentação enquanto o T1 recebeu apenas ração comercial.

Os animais eram mantidos em uma raque (Hydrus-Alesco, modelo ZEB 40) específica para a espécie, em sistema de recirculação, a qual possui sessenta aquários de 2,5L. O fotoperíodo adotado foi de 14:10 (luz:escuro) (DAMMSKI et al., 2011) e temperatura média de 28 °C. A limpeza dos aquários foi feita pelo sistema automatizado da raque. Parâmetros relacionados à qualidade da água como temperatura e pH foram aferidos diariamente.

#### 4.5 Avaliação do peso e comprimento

Ao final das oito semanas de tratamento, os animais foram mantidos em jejum por 14h e o peso e comprimento foram avaliados no dia seguinte. Para realizar as medições os peixes foram anestesiados com triclaína a 0,02% em água e avaliação do peso foi feita colocando cada animal em um copo com água, onde o peso foi medido em gramas, subtraindo o peso do copo com água contendo o peixe no seu interior, do peso do copo somente com água, ambos com a mesma quantidade de água. O comprimento foi medido em milímetros, utilizando um paquímetro, medindo do ponto anterior à boca até o pedúnculo caudal. As avaliações seguiram o modelo proposto por KAUR et al. (2019).

#### 4.6 Parâmetros de crescimento (TCE e IMC)

Para o cálculo da taxa de crescimento específico, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{TCE (\%)} = 100[(\ln \text{ peso final médio} - \ln \text{ peso inicial médio}) / \text{tempo}]$$

O índice de massa corporal foi calculado através da fórmula:

$$\text{IMC} = \text{Peso}(\text{mg}) / \text{Altura}(\text{cm})^2$$

#### **4.7 Parâmetros Bioquímicos**

Após as medições de peso e comprimento, os animais foram eutanasiados por aprofundamento anestésico e a glicose plasmática analisada a partir do sangue coletado da veia caudal por secção da cauda dos animais de cada grupo (3 animais por repetição), usando um glicosímetro portátil, Accu-Check (Roche Diagnostics Rotkreuz, Suíça) seguindo a metodologia proposta por KAUR et al. (2019).

Para a análise do colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos (TG), foram usadas amostras de corpo inteiro de três peixes por repetição (12 peixes por tratamento). Os homogeneizados de peixe foram feitos como descrito por Sancho et al. (2009) para os juvenis de zebrafish. Cada peixe foi homogeneizado com cinco volumes de tampão fosfato a 0.1 M (pH a 7.2 a 0° C). Após este processo, os homogeneizados foram centrifugados a 1666 g (4°C) durante 10 minutos e os sobrenadantes foram congelados para as análises posteriores. Todas determinações bioquímicas foram realizadas de acordo com o método indicado pelo fabricante. A leitura da absorbância foi realizada utilizando um espectrofotômetro de microplaca (Biotek Epoch, Biotek, EUA). A leitura de cada homogeneização foi realizada em triplicata. Os seguintes parâmetros foram determinados: colesterol total usando CHOD-POD Bioclin (Ref. K083), triglicerídeos usando GPO-POD kit Bio Técnica (Ref. 10.010.00) e HDL e LDL foram avaliados usando kits Bioclin (Ref. K071 e K088, respectivamente).

#### **4.8 Avaliação Histológica**

Doze animais de cada grupo (3 animais por repetição) foram escolhidos aleatoriamente e fixados seus corpos inteiros em formalina tamponada a 10%. Após 72 horas foram incluídos em parafina e posteriormente foram cortados os blocos transversalmente com espessura de 5µm. Os cortes da região visceral foram corados com hematoxilina-eosina (HE) e imagens microscópicas a 10x foram obtidas em microscópio óptico (Motic BA210- China) acoplado a câmera (Moticam S6- China). As análises morfométricas foram analisadas utilizando o software ImageJ® (National Institutes Of Health, Bethesda, Maryland, EUA), onde foi avaliado um corte por animal sendo medido todos os adipócitos contidos nas imagens.

## 5 Análise Estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade de variâncias, pelos respectivos testes de *Shapiro- Wilk* e *Levene*, quando atendido o pressuposto, as análises entre os tratamentos foram realizadas pelo teste de *anova (one-wa)* com *Post- Hoc* de *Tukey*. Todas as análises foram realizadas pelo programa Minitab® versão 19 (Minitab LLC, Stage Faculdade, PA). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Crescimento do zebrafish

Conforme mostrado na Tabela 1, a avaliação fenotípica dos animais foi realizada através da medição dos parâmetros de peso, comprimento, taxa de crescimento específico (TCE) e índice de massa corporal (IMC). Observando os resultados, os valores não foram estatisticamente diferentes entre os grupos. A faixa etária dos animais utilizados pode ter interferido neste resultado, pois estando em fase de crescimento, os animais não atingiram o fenótipo obeso, gastando sua energia proveniente da alimentação para o crescimento somático. Leibold e Hammerschmidt (2015) relatam a questão da idade dos animais usados em modelos de obesidade induzida por dieta e propõem que zebrafish com até dois meses pós fertilização estão em fase de crescimento e não desenvolvem obesidade.

**Tabela 1:** Médias dos valores de peso(mg) e comprimento(mm) dos tratamentos.

	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>Peso (mg)</b>	423,40± 15,94	380,17± 27,68	394,28± 33,13
<b>Comprimento (mm)</b>	28,14 ± 0,38	28,35± 0,70	28,39 ± 0,69
<b>TCE (%)<sup>1</sup></b>	1,26±0,09	1,16±0,18	1,19±0,0,15
<b>IMC<sup>2</sup> (mg/cm<sup>2</sup>)</b>	0,051±0,001	0,050±0,002	0,050±0,001

\*T1: ração comercial. T2: ração comercial + gema. T3: ração comercial com *B.trimera* + gema. Os dados são expressos como média ± desvio padrão.

<sup>1</sup>Taxa de crescimento específico

<sup>2</sup>Índice de massa corporal

Fonte: Do autor, (2022).

Os animais foram hiperalimentados por oito semanas com objetivo de gerar um balanço energético positivo para que pudessem atingir o sobrepeso ou obesidade. O balanço energético positivo é um dos fundamentos para o desenvolvimento do sobrepeso e obesidade, porém, o fator genético e ambiental também se correlaciona no ganho de peso (RAMOS; CONTRERAS; CANIZALES, 2017).

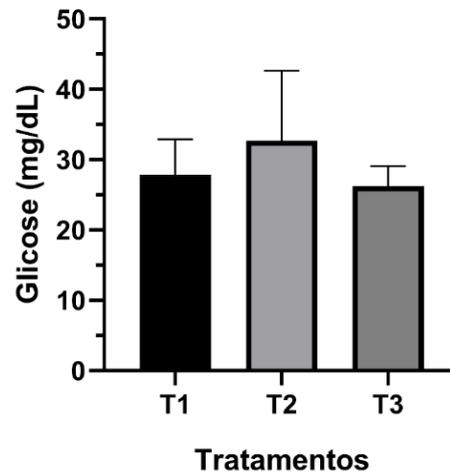
Diferente do resultado encontrado neste estudo, uma pesquisa em humanos, onde o grupo 1 recebeu cápsulas de carqueja que continham o extrato seco e moído da planta e o grupo 2 recebeu placebo, durante 30 dias, em jejum, verificou-se que o grupo 1 teve uma redução de 5% de gordura quando comparado ao grupo 2. Para Figueiredo e Pereira (2009), a perda de peso pode ser explicada pelo aumento do trânsito intestinal, relatado pelos pacientes em questionário aplicado. O aumento do trânsito intestinal diminui o contato nas vilosidades intestinais, diminuindo a absorção dos alimentos, que pode ser explicado pela capacidade da *B. trimera* exercer um efeito vaso relaxante no músculo liso, podendo ser esse o responsável pela perda de peso.

Em estudo com ratos, onde administraram o extrato metanólico por 35 dias, em doses baseadas nas usadas por humanos, foi observado uma redução do peso corporal nos animais tratados (DE SOUZA, 2010). Diante do resultado encontrado, o óleo essencial pode não exercer efeito direto na prevenção do ganho de peso, porém, mais estudos devem ser realizados, uma vez que, a espécie é popularmente conhecida por apresentar esta capacidade.

## **6.2 Níveis de glicose no sangue**

Ao final das oito semanas de tratamento, foi realizada a medição da glicemia dos animais, onde não foi observada diferenças estatísticas significativas nos níveis de glicose no sangue dos animais dos tratamentos 1, 2 e 3 (Figura 3).

Figura 3: Níveis de glicose em jejum ao final das oito semanas dos tratamentos 1, 2 e 3.



T1: ração comercial. T2: ração comercial + gema. T3: ração comercial com *B. trimera* + gema.

Fonte: Do autor, (2022).

Resultados diferentes foram encontrados por Kaut et al. (2018) em camundongos diabéticos tratados por 7 dias com 2g/Kg de extrato hidroetanólico de *B. trimera*, foi demonstrado sua capacidade hipoglicemiante.

Testes realizados com a infusão de carqueja, forma popularmente usada e com o extrato metanólico liofilizado, demonstraram sua eficácia na inibição da  $\alpha$  e  $\beta$  glicosidases, reforçando o possível uso da carqueja no tratamento da obesidade (SOUZA et al., 2011).

Não foram encontrados trabalhos na literatura avaliando o efeito do óleo essencial de carqueja sobre a glicemia de animais, apenas um trabalho relata a atividade do óleo na repolarização ventricular de ratos diabéticos e não diabéticos. Os resultados encontrados por Duque et al. (2019) demonstram que o óleo não teve efeito nas alterações presentes nos ratos diabéticos, porém, na dose testada, os animais saudáveis desenvolveram distúrbios de repolarização ventricular e hipertrofia cardíaca.

Segundo Anwer et al. (2022) em estudo com modelo de obesidade induzida por dieta em zebrafish, também não encontraram alterações na glicemia de jejum dos peixes. Esses mesmos autores também sugerem que este modelo possa exigir métodos mais sensíveis para identificação de danos fisiológicos. Esses achados reforçam a necessidade de pesquisas quanto ao efeito do óleo essencial de carqueja sobre a glicemia.

### 6.3 Parâmetros bioquímicos

Na Figura 4, estão descritos valores médios de colesterol, triglicerídeos, HDL e LDL de todos os tratamentos. Os níveis de colesterol dos tratamentos T2 e T3; tiveram um resultado estatisticamente maior que o grupo que foi alimentado apenas com ração comercial(T1). Estes valores podem ser explicados pelo fato dos grupos T2 e T3 terem recebido gema de ovo, alimento rico em colesterol, que fez com que estes apresentassem níveis de colesterol aumentados quando comparado ao grupo T1, que consumiu apenas ração. Este resultado demonstra que os animais estavam em processo de indução à obesidade, mas sem fenótipo ainda definido. Portanto, o óleo de carqueja não exerceu efeito neste parâmetro.

Apesar de não apresentarem fenótipo de obesidade, são encontradas alterações bioquímicas compatíveis com o processo de indução à obesidade, como o aumento do colesterol e dos níveis de triglicerídeos.

Para valores de triglicerídeos, o tratamento 3 apresentou níveis significantes menores que o tratamento 2, demonstrando que o óleo de carqueja apresentou efeito na redução dos triglicerídeos. Os valores de triglicerídeos não foram reduzidos ao menor nível, provavelmente pelo tempo de exposição curto ao tratamento com óleo de carqueja. Prolongar o período do uso da carqueja é uma perspectiva futura para se reduzir os níveis.

Este efeito da carqueja pode ser atribuído ao relatado por Souza et al. (2011) em testes *in vitro*, utilizando o extrato metanólico da planta, este foi capaz de inibir a lipase pancreática, cuja enzima é responsável por hidrolisar a molécula de triacilglicerol proveniente da dieta, para que possa ser absorvido posteriormente.

Em um estudo com ratos Wistar, que receberam o extrato etanólico de *B. trimera*, com o intuito de se avaliar os efeitos cardioprotetores da espécie, foi demonstrado que os animais tiveram redução dos níveis plasmáticos de glicose, colesterol e triglicerídeos quando comparado aos tratados com sinvastatina mais insulina. A capacidade cardioprotetora foi atribuída ao efeito hipolipemiante e à prevenção da formação de radicais livres (SOUZA et al. 2020).

Outro resultado encontrado no grupo alimentado com ração acrescida de carqueja (T3), foi o aumento significativo dos valores de HDL, quando comparado ao grupo T2. A capacidade da carqueja em aumentar o HDL, foi apresentada pela primeira vez em experimento com ratos tratados com extrato hidroetanólico por 28 dias e tiveram seus níveis de HDL aumentados (RABELO et al., 2018). Sabe-se que a lipoproteína de alta densidade- HDL além de atuar no transporte de lipídeos, tem função importante no transporte reverso do colesterol e mediação de

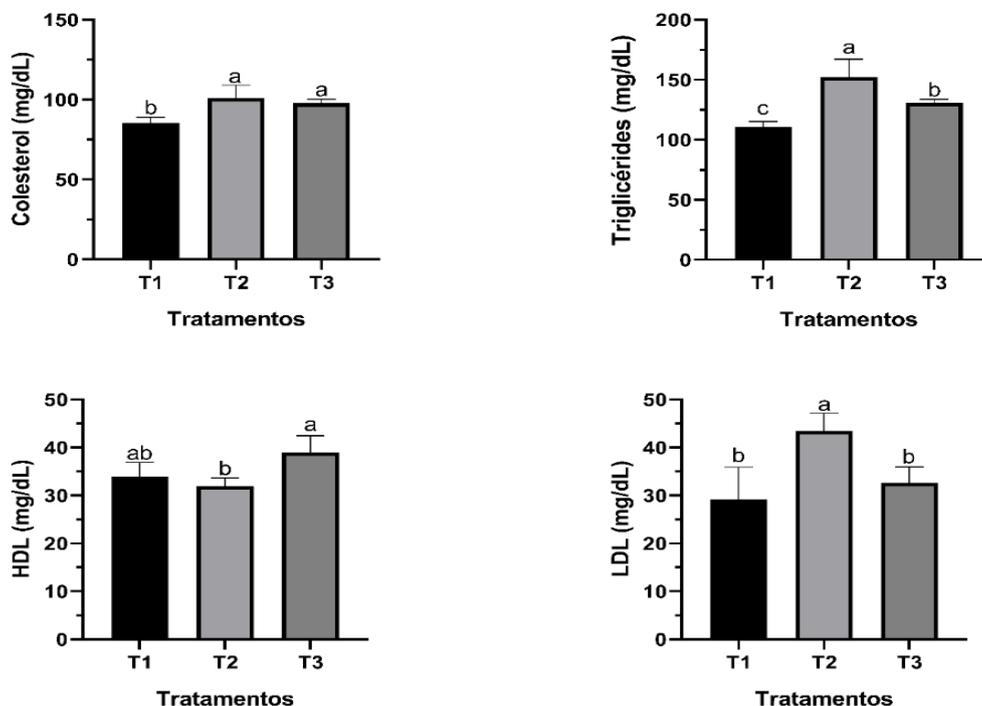
mecanismos que promovem proteção cardiovascular (BEN-AICHA; BADIMON; VILAHUR, 2020).

Os valores de LDL dos grupos demonstram que o grupo T3 apresentou resultado semelhante ao grupo que foi alimentado apenas com ração (T1), mas quando comparado ao grupo que consumiu ração e gema de ovo (T2), o grupo tratado com carqueja obteve níveis menores de LDL, mesmo consumindo uma alimentação com maior quantidade de gordura. Resultado semelhante foi encontrado por Souza et al. (2012), comprovando que os níveis da lipoproteína LDL foram reduzidos no grupo tratado com carqueja, atribuindo este efeito à capacidade de inibição da lipase identificado no extrato metanólico da espécie *B. trimera*.

Em um modelo de doença hepática induzida por etanol em camundongos, o tratamento com carqueja normalizou os níveis de HDL e LDL, reverteu o aumento de triglicerídeos e colesterol total e aumentou a excreção fecal de triglicerídeos (LÍVERO et al., 2016).

Observando estes resultados, o óleo de carqueja parece apresentar potencial sobre a melhora do perfil lipídico nos modelos testados.

Figura 4: Análise de colesterol, triglicerídeos, LDL e HDL dos tratamentos 1, 2 e 3.



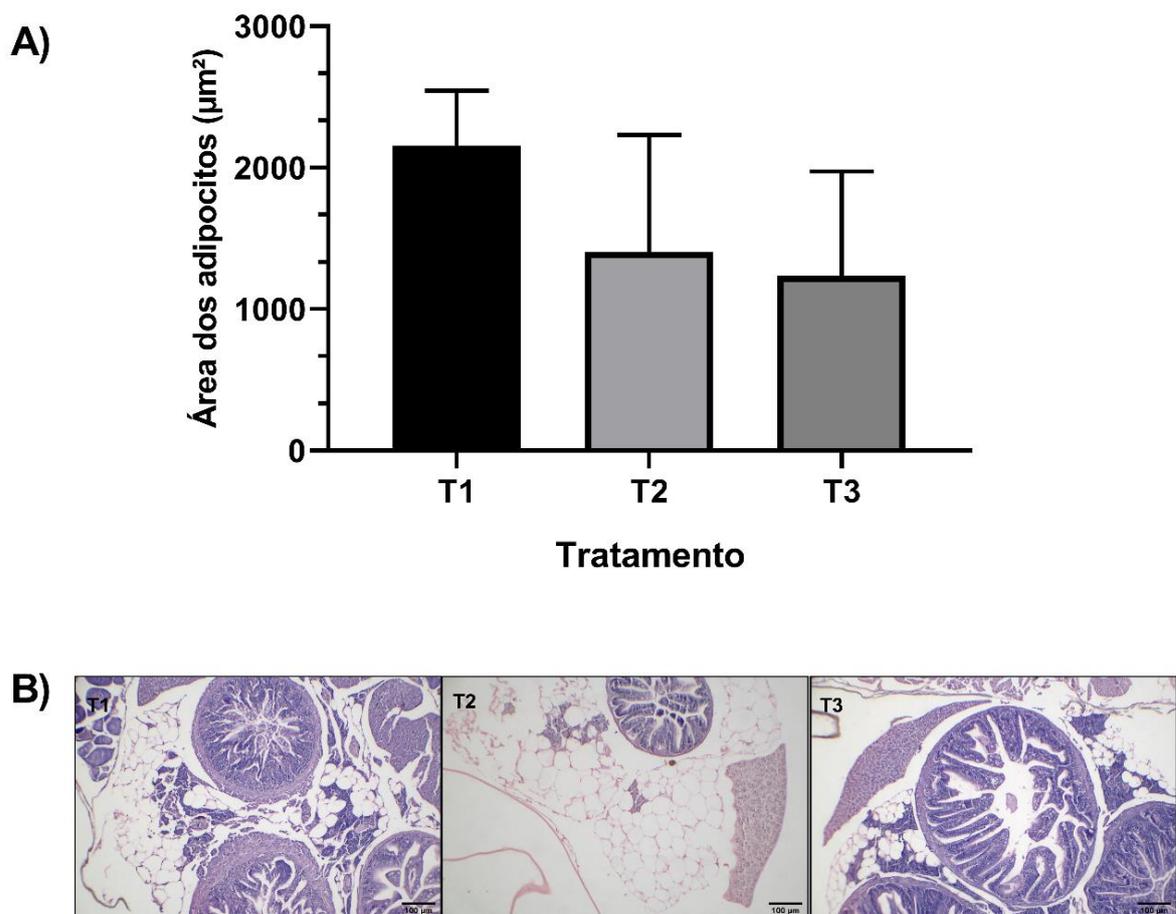
T1: ração comercial. T2: ração comercial + gema. T3: ração comercial com *B. trimera* + gema. Médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) usando análise de variância e Teste Tukey.

Fonte: Do autor, (2022).

#### 6.4 Parâmetros histológicos

A morfologia e distribuição do tecido adiposo dos três grupos experimentais foi analisada na região visceral para se estabelecer a quantidade e área dos adipócitos. A figura 5 apresenta os resultados sobre os parâmetros histológicos, onde a letra A representa a área dos adipócitos e a letra B representa os cortes histológicos da região abdominal com a descrição dos adipócitos. A avaliação morfométrica realizada nas amostras de peixes corados com hematoxilina-eosina (HE), revelou a presença de leve acúmulo de gordura nos adipócitos viscerais dos animais de todos os tratamentos, tratados com carqueja ou não. Não sendo observadas diferença estatística significante entre os grupos.

Figura 5: Morfometria dos adipócitos viscerais.



\*T1:ração comercial. T2: ração comercial+ gema.T3: ração com *B. trimera* + gema.

Fonte: Do autor, (2022).

Para Pitanga et al. (2012) a gordura visceral é definida como a quantidade de gordura localizada na região intra-abdominal e representa um importante fator no desenvolvimento de risco metabólico e cardiovascular.

Semelhante aos mamíferos, o zebrafish acumula gordura em forma de gotículas lipídicas nos adipócitos contidos no tecido adiposo cutâneo, intramuscular e visceral. Os adipócitos presentes no tecido adiposo visceral são os mais propensos à hipertrofia induzida pela dieta (OKA et al., 2010; IMRIE e SADLER, 2010; LEIBOLD e HAMMERSCHIDT, 2015).

O fato dos animais do presente estudo não apresentarem aumento excessivo da gordura visceral, pode ser explicado pela idade dos animais. Leibold e Hammerschmidt (2015) constataram em seu estudo que juvenis de zebrafish, com idade de até dois meses pós fertilização, não foram capazes de desenvolver obesidade induzida por dieta. Para os autores, a explicação está na demanda energética elevada do crescimento somático, que é priorizado nesta fase de desenvolvimento. Portanto, para estes ensaios deve-se utilizar animais com idade de 3 a 9 meses, pois após este período os animais começam a perder gordura.

Em modelo de obesidade induzida por dieta em zebrafish com idade de 5 meses pós fertilização, durante 8 semanas, estes apresentaram adipócitos viscerais aumentados quando comparado ao grupo controle, sendo nas fêmeas um aumento de 47% e machos 35% (VIROTE et al., 2020).

Portanto, pode-se atribuir a idade dos peixes usados neste estudo como um fator para o não acúmulo de gordura visceral excessiva, mesmo submetidos à hiperalimentação. O óleo de carqueja também não afetou o crescimento somático dos animais tratados.

## **7 CONCLUSÃO**

Os resultados encontrados neste estudo permitem concluir que o óleo essencial de carqueja promoveu menores níveis de triglicérides e LDL, bem como níveis mais elevados de HDL, indicando uma melhora no perfil lipídico durante o tratamento com dieta para indução de obesidade e não afetou o crescimento somático dos animais. Desta forma, outros estudos com modelos animais devem ser realizados para avaliar a toxicidade óleo essencial de carqueja na prevenção da obesidade.

## 8. REFERÊNCIAS

ALBASHIR, Ahmed Abdalazim Dafallah. The potential impacts of obesity on COVID-19. **Clinical medicine**, v. 20, n. 4, p. e109, 2020.

ALMEIDA, L. B. de. **Efeito da obesidade pré-gestacional no teor de citocinas de compartimentos maternos e fetais e na expressão de transportadores de ácidos graxos da placenta**. 2017. 145 p. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) -Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires:ISIS, p. 267-270, 1998.

ANWER, H. et al. The effects of an obesogenic diet on behaviour and cognition in zebrafish (*Danio rerio*): traits average, variability, repeatability, and behavioural syndromes. 2022.

BARBOSA, R. J. et al. Promising therapeutic use of *Baccharis trimera* (Less.) DC. as a natural hepatoprotective agent against hepatic lesions that are caused by multiple risk factors. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 254, p. 112729, 2020.

BANERJEE, M. et al. Obesity and COVID-19: a fatal alliance. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 35, n. 4, p. 410-417, 2020.

BEN-AICHA, S.; BADIMON, L.; VILAHUR, G. Advances in HDL: much more than lipid transporters. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. 732, 2020.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

Brasil, RENISUS., 2009. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Acessado em 10 de março de 2022.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R. Análise morfoanatômica comparativa de duas espécies de carqueja: *Baccharis microcephala* DC. e *B. trimera* (Less.) DC., Asteraceae. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 75-85, 2009.

CERCATO, L.M; BRANCO, P.; NAMPO; F.K; SANTOS, M.R.V; CAMARGO, E.A. Uma revisão sistemática de medicamentos plantas utilizadas para emagrecer no Brasil: há potencial para o tratamento da obesidade? **J. Ethnopharmacol**, 176, p. 286–296. 2015.

CRAVEIRO, A.A.; FERNANDES, A.G.; ANDRADE, C.H.S. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: Editora UFC, 210p. 1981.

DA ROCHA, R. R. R.; DE MORAIS FERREIRA, W.; GONÇALVES, K. A. M. Benefícios proporcionados pelo uso de óleos essenciais sobre o sistema nervoso central e sua atividade antimicrobiana: uma revisão literária. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 229-236, 2022.

DA SILVA, T. G. et al. Phytochemical characterization and inhibition of *Candida* sp. by the essential oil of *Baccharis trimera* (Less.) DC. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 6, p. 3077-3087, 2021.

DAMMSKI, A. P.; MÜLLER, B. R.; GAYA, C. Manual de Criação em Biotério. 2011.

DE MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. In: **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP., 2009.

DE OLIVEIRA, C.B.C. et al. Obesidade: inflamação e compostos bioativos. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2020.

DEO, R.C.; MACRAE, C. A. The zebrafish: scalable in vivo modeling for systems biology. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, v. 3, n. 3, p. 335-346, 2011.

DO NASCIMENTO KAUT, N. N. et al. *Baccharis trimera* (Carqueja) improves metabolic and redox status in an experimental model of type 1 diabetes. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

DUQUE, A.P. et al. Carqueja (*Baccharis trimera*) essential oil chronic treatment induces ventricular repolarization disorder in healthy rats but not in type 2 diabetic rats. **Pharmacognosy Research**, v. 11, n. 4, 2019.

ESCALEIRA, Roberta. O Zebrafish (*Danio rerio*). **Revista Arquivos Brasileiros de Medicina Naval**, v. 78, n. 1, p. 43-48, 2017.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. **Farmacopeia Brasileira**, 6a edição, v. 1, p. 60–69, 72–85, 2019.

FIGUEIREDO, A. P.; PEREIRA, R. de S.. Estudo dos efeitos de cápsulas de carqueja (*Baccharis Trimerica* (LESS) DC), sobre o metabolismo lipídico de pacientes em processo de emagrecimento. **Conexão Ciência**, v. 4, n. 1, p. 15, 2009.

GARCIA, G. R.; NOYES, P. D.; TANGUAY, R. L. Advancements in zebrafish applications for 21st century toxicology. **Pharmacology & therapeutics**, v. 161, p. 11-21, 2016.

GOMES, A. L. et al. Chemical Characterization of a Commercial Essential oil of Carqueja (*Baccharis trimera*). In: **Proceedings of the Food and Nutrition Symposium**. 2018.

HALLARE, A.V.; KOHLER, H. R.; TRIEBSKORN, R. Developmental toxicity and stress protein responses in zebrafish embryos after exposure to diclofenac and its solvent, DMSO. **Chemosphere, Oxford**, v. 56, n. 7, p. 659-666, Aug. 2004.

IMRIE, D.; SADLER, K. C. White adipose tissue development in zebrafish is regulated by both developmental time and fish size. **Developmental Dynamics**, v. 239, n. 11, p. 3013-3023, 2010.

- KAUR, N. et al. Cinnamon attenuates adiposity and affects the expression of metabolic genes in diet-induced obesity model of zebrafish. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 47, n. 1, p. 2930-2939, 2019.
- KIMMEL, C. B. et al. Stages of embryonic development of the zebrafish. **Developmental Dynamics**, New York, v. 203, n. 3, p. 253-310, July 1995.
- LEIBOLD, S.; HAMMERSCHMIDT, M. Long-term hyperphagia and caloric restriction caused by low-or high-density husbandry have differential effects on zebrafish postembryonic development, somatic growth, fat accumulation and reproduction. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0120776, 2015.
- LÍVERO, F.A.R. et al. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* ameliorates alcoholic fatty liver disease in mice. **Chemico-biological interactions**, v. 260, p. 22-32, 2016.
- LUMENG, C.N, BODZIN, J.L, SALTIEL, A.R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **J Clin Invest**, v. 117, n.1, p. 175–184, 2007.
- MARTELLETO, G. K. S. et al. Principais fatores de risco apresentados por pacientes obesos acometidos de COVID-19: uma breve revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 13438-13458, 2021.
- MATOZINHOS, F. P. **Fatores ambientais e individuais associados à obesidade**. Tese (Doutorado em Enfermagem) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- MELO, L. C.; SILVA, M. A. M da; CALLES, A.C. do N. Obesidade e função pulmonar: uma revisão sistemática. **Einstein (São Paulo)**, v. 12, p. 120-125, 2014.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigitel **Brasil: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal**. Brasília: Ministério da Saúde; 2018.
- MORAN-RAMOS, S.; LÓPEZ-CONTRERAS, B. E.; CANIZALES-QUINTEROS, S.I. Gut microbiota in obesity and metabolic abnormalities: a matter of composition or functionality?. **Archives of medical research**, v. 48, n. 8, p. 735-753, 2017.
- NASCIMENTO, D.S.M et al. *Baccharis trimera* (Less.) DC exhibits an anti-adipogenic effect by inhibiting the expression of proteins involved in adipocyte differentiation. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 972, 2017.
- OKA, T, et al. Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity. **BMC physiology**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2010.
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. (2013). Test No. 236: Fish embryo acute toxicity (FET) test. Guidelines for the Testing of Chemicals.
- PEDRAZZI, A.H.P. et al. Hematological evaluation of carqueja (*Baccharis trimera*) infusion. **Fitoterapia**, v.68, n.1, p.26-9, 1997.

RABASCO, S. Coumarin 47 and permethrin effects on zebrafish embryos: FET tests and behavioural challenges. 2018.

RABELO, A. C. S.; COSTA, D. C. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. **Chemico-biological interactions**, v. 296, p. 65-75, 2018.

RABELO, A. C. S. et al. *Baccharis trimera* protects against ethanol induced hepatotoxicity in vitro and in vivo. **Journal of ethnopharmacology**, v. 215, p. 1-13, 2018.

RODRIGUES, H. G. et al. Embryotoxic, teratogenic and abortive effects of medicinal plants. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 359-366, 2011.

SAHID, E. D. N. et al. *Baccharis trimera* (Less.) DC leaf derivatives and eupatorin activities against *Leishmania amazonensis*. **Natural Product Research**, p. 1-5, 2021.

SANCHO, E., FERNÁNDEZ-VEGA, C., VILLARROELI, M.J., ANDREU-MOLINER, E., FERRANDO, M.D., 2009. Physiological effects of tricyclazole on zebrafish (*Danio rerio*) and post-exposure recovery. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 150, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2009.02.004>

SILVA, F. et al. Assessment of *Baccharis trimera* (Less.) DC. essential oil content in different packages during storage. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 54-58, 2013.

SILVA, M. F. et al. PREVALÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Scientia Generalis**, v. 2, n. 2, p. 298-306, 2021.

SIMÕES, C. M. O; MENTZ, L. A; SCHENK, E. P.; IRGANG. B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. UFRGS, Porto Alegre, p. 173. 1998.

SIMÕES-PIRES, C. A. et al. Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to sect. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. **Plant Systematics and Evolution**, v. 253, n. 1, p. 23-32, 2005.

SOARES, P.E.M. et al. O Papel das Adipocinas na Imunologia da Obesidade. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, 2020.

SOUZA, S. P. de et al. Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera* (Less.) DC., Asteraceae: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 450-455, 2011.

SOUZA, S. P. et al. Study of antiobesity activity of methanolic extract of *Baccharis trimera* (Less.) DC. **Braz. J. Pharm**, v. 93, n. 1, p. 27-32, 2012.

SOUZA, M. M. Q. et al. *Baccharis trimera* (Less.) DC: an innovative cardioprotective herbal medicine against multiple risk factors for cardiovascular disease. **Journal of Medicinal Food**, v. 23, n. 6, p. 676-684, 2020.

UPADHYAY, Jagriti et al. Obesity as a disease. **Medical Clinics**, v. 102, n. 1, p. 13-33, 2018.

VIROTE, B.D.C.R. et al. Obesity induction in adult zebrafish leads to negative reproduction and offspring effects. **Reproduction**, v. 160, n. 6, p. 833-842, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42665/1/WHO\\_TRS\\_916.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42665/1/WHO_TRS_916.pdf) Acesso em: 05 jan. 2021.

YVES-RENE, N.; FERNAND, C. **Therapeutic d-ortho-menthatriene 1 (7), 5, 8-ol-3**. U.S. Patent n. 3,112,245, 26 nov. 1963

ZANG, L.; MADDISON, L. A.; CHEN, W. Zebrafish as a model for obesity and diabetes. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 6, p. 91, 2018.

ZANG, L.; SHIMADA, Y.; NISHIMURA, N. Development of a novel zebrafish model for Type 2 diabetes mellitus. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1461, 2017.

ZON, L. I.; PETERSON, R. T. In vivo drug discovery in the zebrafish. **Nature reviews Drug discovery**, v. 4, n. 1, p. 35-44, 2005.