



Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Instituto Biomédico
Departamento de Ciências Fisiológicas

ÓLEO ESSENCIAL DE CARQUEJA (*BACCHARIS TRIMERA*)
REDUZ OS NÍVEIS GLICÊMICOS DE CAMUNDONGOS
C57BL/6 INSULINO-RESISTENTES MAS NÃO PROMOVE
AUMENTO DA COGNIÇÃO

CRISTIANE SANTINO DA SILVA

RIO DE JANEIRO

2017

CRISTIANE SANTINO DA SILVA

ÓLEO ESSENCIAL DE CARQUEJA (*BACCHARIS TRIMERA*) REDUZ
OS NÍVEIS GLICÊMICOS DE CAMUNDONGOS C57BL/6 INSULINO-
RESISTENTES MAS NÃO PROMOVE AUMENTO DA COGNIÇÃO

Monografia apresentada ao
Departamento de Ciências
Fisiológicas no Instituto Biomédico da
Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro para obtenção do título
de Bacharel.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Paula
Machado da Rocha

RIO DE JANEIRO

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

DA SILVA, Cristiane Santino

Óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera*) reduz os níveis glicêmicos de camundongos c57bl/6 insulino-resistentes mas não promove aumento da cognição. Cristiane Santino da Silva, Rio de Janeiro, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, Instituto Biomédico, 2017.

58 pag

Monografia – Bacharel em Biomedicina – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

1. *Baccharis trimera*; 2. Óleo essencial de carqueja; 3. Diabetes; 4. Memória

I. UNIRIO - Monografia

TÍTULO DA MONOGRAFIA

ÓLEO ESSENCIAL DE CARQUEJA (*BACCHARIS TRIMERA*) REDUZ OS NÍVEIS GLICÊMICOS DE CAMUNDONGOS C57BL/6 INSULINO-RESISTENTES MAS NÃO PROMOVE AUMENTO DA COGNIÇÃO

AUTORA

CRISTIANE SANTINO DA SILVA

Monografia apresentada como pré-requisito para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, submetida à aprovação da banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Ana Paula Machado da Rocha

Profa. Dra. Cristiane Barbosa Rocha

Profa. Dra. Patrícia dos Santos Costa

Rio de Janeiro, 06 de dezembro de 2017.

Dedico aos meus pais, Severina e Antonio,
e a minha irmã Charlene.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, que superaram diversos obstáculos sociais e conseguiram proporcionar a mim e minha irmã a educação que eles nunca tiveram.

A minha irmã, pela paciência e companheirismo, por sempre acreditar em mim e me incentivar, e por ser meu exemplo e inspiração.

As amigas do CPII que apesar de seguirmos em diferentes direções sempre damos um jeito de cruzar novamente nossos caminhos: Ana, Juliana, Bianca, Laura, Dani, Patricia, Dani e Isabella.

A minha orientadora por todos os ensinamentos e pela confiança depositada em mim.

A Jéssica pela amizade e parceria no início desse projeto e pelos conselhos e torcida ao final dele.

Aos colegas do Centro Acadêmico e da Semana de Biomedicina que me ensinaram a dar o meu melhor e a enxergar que é por opção de coração.

Aos amigos que surgiram ao longo desses cinco anos e fizeram/fazem parte dessa jornada: Rafaela, Lucas, Camila e Glaucia. Agradeço especialmente as três pessoas que se tornaram as mais importantes: Alexandre, Lana e Leticia. Obrigada pela amizade, as risadas, os conselhos e principalmente pela paciência e compreensão.

“Não é preciso muita força para se apegar, mas é preciso para deixar ir.”

J.C. Watts

RESUMO

O aumento do consumo de alimentos hipercalóricos têm acrescido o número de casos de diabetes tipo 2 decorrente de uma resistência insulínica. Aparentemente, a resistência insulínica também está relacionada com a maior prevalência de demência em pacientes com diabetes tipo 2. A ingestão de dietas hipercalóricas pode aumentar a carga amiloide cerebral e comprometer a memória, pois a dislipidemia tem importante papel no desenvolvimento da resistência insulínica. Um estudo recente sugere que o óleo essencial de carqueja possui ação hipoglicemiante em ratos diabéticos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar se o óleo essencial de carqueja promove redução da glicemia em camundongos C57BL/6 insulino-resistentes e se, uma vez idosos, promove um ganho cognitivo. Para tal, os animais foram divididos em quatro grupos, tratados com dieta comum (C e OBt) e hipercalórica (HC e HC+OBt) até o desenvolvimento da resistência insulínica. Aos 11 meses de idade, iniciou-se o tratamento com o óleo essencial de carqueja a 20 mg/kg/dia nos grupos OBt e HC+OBt. O teste do Labirinto aquático de Morris utilizado para analisar o aprendizado dos camundongos foi realizado em três momentos, antes e depois da inserção da dieta hipercalórica (aos 6 e 11 meses), e após o tratamento com o óleo (aos 12 meses). O óleo teve um efeito significativo na redução do peso dos animais tratados com a dieta hipercalórica, além de diminuir a glicemia dos mesmos, no entanto, não alterou os níveis de colesterol e triglicérides. À medida que os animais envelheciam foi possível observar um declínio cognitivo, exceto nos animais que consumiram dieta hipercalórica. Além disso, o óleo essencial de carqueja não apresentou benefícios para a memória nesses animais.

Palavras-chave: *Baccharis trimera*. Óleo essencial de carqueja. Diabetes. Memória.

ABSTRACT

Increases in the consumption of hypercaloric foods has been rising the number of cases of type II diabetes due to insulin resistance. Apparently, insulin resistance is also related to the increased prevalence of dementia in patients with type 2 diabetes. Ingestion of hypercaloric diets may increase brain amyloid load and impairs memory, since dyslipidemia plays an important role in the development of insulin resistance. A recent study suggests that carqueja essential oil has hypoglycemic action in diabetic rats. Therefore, the objective of this study was to evaluate if carqueja essential oil promotes a reduction of glycemia in insulin-resistant C57BL/6 mice and, once elderly, promotes a cognitive gain. For this, the animals were divided in four groups, treated with a common diet (C and OBt) and hypercaloric diet (HC and HC + OBt) until the development of insulin resistance. At 11 months of age, the treatment with the carqueja essential oil, by gavage, at 20 mg/kg/day was started in the OBt and HC OBt groups. The Morris Water Maze used to analyze the learning of mice was performed at three times, before and after the insertion of the hypercaloric diet (at 6 and 11 months), and after the treatment with the oil (at 12 months). The oil had a significant effect on reducing the weight of the animals treated with the hypercaloric diet, in addition to decreasing the glycemia of the same, however, did not alter the levels of cholesterol and triglycerides. As the animals aged, it was possible to observe a cognitive decline, except in the animals that consumed a hypercaloric diet. In addition, the carqueja essential oil did not present memory benefits in these animals.

Keywords: *Baccharis trimera*. Carqueja essential oil. Diabetes. Memory.

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT - 5-hidroxitriptamina (serotonina)
DA - Doença de Alzheimer
APOE - Apolipoproteína E
A β - β -amiloide
BHE - Barreira hematoencefálica
BT – *Baccharis trimera*
CCL - Comprometimento cognitivo leve
DHC – Dieta hipercalórica
DM - Diabetes melito
DM2 - Diabetes melito tipo 2
EPM - Teste de labirinto em cruz elevado
GLP-1 - Peptídeo semelhante à glucagon 1
GLUT - Transportador de glicose
GLUT4 - Transportador de glicose tipo 4
IGF - Fator de crescimento semelhante à insulina
iNOS - Óxido nítrico sintetase induzível
IRS-1 - Substrato do receptor de insulina 1
IRS-2 - Substrato do receptor de insulina 2
LCR - Líquido cefalorraquidiano
NADPH - Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NO – Óxido nítrico
OMS – Organização Mundial da Saúde
PI3K – Fosfatidilinositol-3-cinase
PPAR- γ - Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
RI - Resistência insulínica
Ris – Receptores de insulina
ROS - Espécies reativas de oxigênio
SNC – Sistema nervoso central
LAM – Labirinto aquático de Morris

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.....	15
Figura 2 - Visão geral do papel central da resistência à insulina no cérebro (RIC) em distúrbios cognitivos e metabólicos	23
Figura 3 - Sinalização de insulina neuronal danificada na doença de Alzheimer (DA).....	25
Figura 4 - Aplicações do teste do Labirinto aquático de Morris.....	33
Figura 5 - Linha do tempo da metodologia aplicada.....	36
Figura 6 - Peso médio em gramas dos grupos ao longo do experimento.....	37
Figura 7 - Glicemia dos grupos Controle, OBt, HC e HC+OBt ao longo do experimento	39
Figura 8 - Curva de tolerância a glicose e área sobre a curva (AUC).....	40
Figura 9 - Latência, em segundos, no teste do labirinto aquático de Morris.....	41
Figura 10 - Latência, em segundos, no teste do labirinto aquático de Morris, com camundongos dos diferentes grupos aos 12 meses de idade.....	42
Figura 11 - Porcentagem de tempo nos quadrantes do teste do labirinto aquático de Morris.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso e consumo de ração observados nos diferentes idades dos camundongos C57BL/6.....38

Tabela 2 - Glicemia observada nas diferentes idades dos camundongos C57BL/6; valores de triglicérides e colesterol total analisados ao final do experimento.....38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	Plantas medicinais.....	13
1.1.1	<i>Baccharis Trimer</i> a (Carqueja).....	14
1.1.1.1	Ações medicinais.....	15
1.1.1.2	Óleo essencial.....	17
1.2	Diabetes melito.....	18
1.3	Correlação entre Diabetes tipo 2 e Doença de Alzheimer.....	21
1.3.1	Resistencia insulínica.....	23
1.4	Demência.....	27
1.4.1	Doença de Alzheimer.....	28
1.5	Dieta hipercalórica.....	28
2	OBJETIVOS.....	31
2.1	Objetivos específicos.....	31
3	METODOLOGIA.....	32
3.1	Animais.....	32
3.2	Labirinto Aquático de Morris (LAM).....	32
3.3	Tratamento.....	34
3.3.1	Dieta.....	34
3.3.2	Óleo essencial de carqueja.....	34
3.4	Glicemia.....	35
3.5	Coleta de amostras e análises bioquímicas.....	35
3.6	Análises estatísticas.....	35
4	RESULTADOS.....	37
4.1	Peso.....	37
4.2	Parâmetros bioquímicos.....	38
4.3	Labirinto aquático de Morris (LAM).....	40
5	DISCUSSÃO.....	44
6	CONCLUSÃO.....	50
7	REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

1.1 Plantas medicinais

O Brasil é detentor de uma das maiores biodiversidades do planeta. Sua flora rica em princípios ativos vem sendo utilizada na medicina popular durante anos, devido ao conhecimento e influência de tribos indígenas brasileiras, da colonização europeia e dos escravos africanos (DE REZENDE; COCCO, 2002).

A procura de plantas medicinais por parte da população está relacionada a diversos fatores, sendo alguns deles, o fato de não necessitar de prescrição de um profissional habilitado, os prejuízos devido ao uso abusivo ou incorreto de medicamentos sintéticos e devido à crença popular, na qual eles são vistos como inofensivos, sem efeitos secundários (RATES, 2001). Essa crença acaba sendo corroborada pelo Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas, que mostra que as plantas correspondem a 1,09% dos registros de intoxicações humanas, enquanto os medicamentos correspondem a 30,37% (SINITOX, 2014).

Atualmente a Organização Mundial da Saúde (OMS) considera fundamental que se realizem investigações experimentais das plantas utilizadas com fins medicinais e de seus princípios ativos, para garantir sua eficácia e segurança terapêutica. Portanto, tornou-se primordial o desenvolvimento de pesquisas e tecnologias que possibilitem aprofundar o conhecimento dos potenciais terapêuticos destas plantas (MORAES; CERQUEIRA, 2006).

Ao se realizar pesquisas em busca desses potenciais é fundamental a preocupação com a autenticidade da amostra vegetal. Ela é dada por parâmetros de identificação botânica, por meio de ensaios macroscópicos e microscópicos, bem como pela presença dos marcadores químicos ativos (SIMÕES, 2001). A inexistência ou a falta de informações sobre a caracterização de espécies fitoterápicas pode incorrer em coletas equivocadas de materiais nativos ou espontâneos, ocorrendo confusão entre as diferentes espécies, podendo ocasionar: intoxicações, uso inadequado de plantas que não tem efeito sobre a doença que se

pretende combater e contribuir para o desenvolvimento inseguro de fitoterápicos (BUDEL, 2003).

Por isso, em dezembro de 2008, foi instituído no país o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (RENISUS) do SUS com o intuito de inserir com segurança, eficácia e qualidade, plantas medicinais e fitoterápicos na atenção básica a saúde. Este programa visa reconhecer as práticas populares e tradicionais do uso de plantas medicinais e remédios caseiros, além de orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da RENAFITO (Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos) (PORTAL DA SAÚDE, 2014).

O RENISUS já catalogou diversas espécies vegetais, de diferentes regiões, que tiveram o uso referenciado de acordo com as categorias do Código Internacional de Doenças (CID-10) (PORTAL DA SAÚDE, 2014). Dentre as diferentes espécies relacionadas, a carqueja (*Baccharis trimera*) é citada e tem seu uso indicado para o combate de feridas e problemas estomacais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

1.1.1 *Baccharis Trimer*a (Carqueja)

A carqueja está entre uma das dez plantas mais comercializadas no Brasil. Trata-se de uma planta medicinal de alto nível de importância que foi incluída há quase um século no Código Farmacêutico Brasileiro (BRANDÃO *et al.*, 2009). Pertencente à família *Asteraceae*, o gênero *Baccharis* é composto por 433 espécies (HEIDEN, 2014). Este se distribui em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, sendo mais encontradas nas regiões sul e sudeste do Brasil. Geralmente são plantas de pequeno porte, arbustos perenes de 50 cm a 4 m de altura, porém podem ser encontrados na forma rasteira, subarbustos, trepadeiras ou excepcionalmente árvores (BUDEL, 2003). Quando arbustos, são bastante ramificados na base, possuem caules e ramos verdes com expansões triangulares. As inflorescências são do tipo capítulo, dispostas lateralmente nos ramos, de cor esbranquiçada (Figura 1) (HATTORI; NAKAJIMA, 2008).

Entre as espécies que fazem parte desse grupo está a *Baccharis trimera*, conhecida por bacanta, bacárida, cacaia-amarga, cacália-amarga, cacália-

amargosa, caclia-doce, cuchi-cuchi, carque, carqueja-amarga, carqueja-amargosa, carqueja-do-mato, carquejinha, condamina, iguape, quina-de-condomiana, quinsu-cucho, tiririca-de-babado, tiririca-de-balaio, tiririca-de-bêbado, três-espigas, vassoura; carqueja (castelhano); carquexia (espanhol); querciulo (italiano); carqueija, ou tojo (português de Portugal) (PLANTAS E ERVAS MEDICINAIS, [2017]).



Figura 1. *Baccharis trimera* (Less.) DC. Fonte: Rosângela Rolim. http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=5013

Sua constituição é altamente relevante por ser rica em metabólitos secundários, como óleos essenciais, fitomelaninas, ácido caféico e seus ésteres, flavonoides, alguns alcaloides, e ainda uma combinação de poliacetilenos e lactonas sesquiterpênicas que atuam como compostos de defesa (BUDEL, 2003; KARAM *et al.*, 2013).

1.1.1.1 Ações medicinais

Sendo amplamente empregada na medicina popular, a tendência é a carqueja ser utilizada fresca e inteira, geralmente na forma de chá, principalmente para problemas hepáticos, disfunções estomacais e intestinais. Acredita-se também, que sua ação diurética auxilie na eliminação de toxinas (CORTEZ; JACOMOSI; CORTEZ, 1999). Na Argentina, a população rural acredita que essa planta combate a impotência no homem e a esterilidade na mulher (BUDEL, 2003). As diferentes

propriedades atribuídas a *Baccharis trimera* (BT) vêm sendo estudadas por diversos autores ao longo dos anos, algumas já tendo sido validadas.

Dentre as diferentes propriedades da carqueja, pode-se verificar a atividade moluscicida, promovida por flavonas diterpênicas isoladas da *Baccharis trimera* (SANTOS FILHO *et al.*, 1980, *apud* BUDEL, 2003). Já o extrato bruto de diclorometano e, sua respectiva fração aquosa, de folhas de carqueja, causa mortalidade significativa de esquistossomos quando as fêmeas são expostas a ensaios *in vitro*. Enquanto nos tratamentos *in vivo*, observou-se contra diferentes estágios da esquistossomose, uma redução no peso do parasita nos animais infectados tratados, bem como a redução dos ovos viáveis, diminuindo o número de granulomas hepáticos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014). De Oliveira *et al.* (2012b) observaram que o óleo essencial de carqueja é capaz de diminuir a motilidade dos vermes do *Equistossoma mansoni* e promover uma taxa de mortalidade de 100%, após 30 horas de exposição.

A atividade antimicrobiana foi constatada contra estirpes de *S. aureus*, sendo observado um sinergismo com todas as drogas antimicrobianas testadas (BETONI *et al.*, 2006). Além disso, observou-se que o óleo essencial de carqueja promove alterações morfológicas nas estruturas fúngicas das cinco espécies estudadas, e uma ação antifúngica frente a fungos filamentosos dermatófitos (CANESCHI, 2013).

A carqueja também apresenta ação vasodilatadora ao inibir a contração da musculatura lisa da veia porta de ratos, provavelmente por bloqueio de canais de cálcio (TORRES *et al.*, 2000), bem como é capaz de promover o relaxamento de anéis aórticos de ratos Wistar, contraídos com noradrenalina (GÓMEZ *et al.*, 2016).

Extratos de carqueja também são capazes de promover ação antiácida (GAMBERINI *et al.*, 1991); antiulcerativa (GAMBERINI *et al.*, 1991; DIAS *et al.*, 2009; BIONDO *et al.*, 2011) e de reduzir a área de lesão ulcerativa (DIAS *et al.*, 2009; LÍVERO *et al.*, 2016); bem como apresentam propriedades anti-hepatotóxicas (SOICKE e LENG-PESCHLOW, 1987) e diminuem o estresse oxidativo induzido pelo consumo crônico e agudo de etanol (LÍVERO *et al.*, 2016).

Alguns trabalhos também têm relatado atividade anti-mutagênica (NAKASUGI e KOMAI 1998); anti-inflamatória (GENÉ *et al.*, 1996; DE OLIVEIRA *et al.*, 2012a) e analgésica (GENÉ *et al.*, 1996), possivelmente devido a inibição da síntese de prostaglandinas. Além disso, o extrato hidroalcoólico de folhas de carqueja foi capaz de melhorar o sistema antioxidante de defesa e inibir a expressão de fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH) e genes de óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) em neutrófilos. Isso explicaria a inibição da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e óxido nítrico (NO), sendo que o extrato também neutralizou diretamente essas espécies (PÁDUA *et al.*, 2014). Essa atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico da carqueja poderia estar também relacionada aos efeitos neuroprotetores, uma vez que reduziu a toxicidade β -amiloide em células neurais (PAIVA *et al.*, 2015).

Verificou-se, ainda, que o óleo essencial promoveu uma inibição da arborização axodendrítica e redução na proliferação e diferenciação de células gliais de retina, decorrente de uma redução no processo proliferativo celular (LOSQUI *et al.*, 2009).

1.1.1.2 – Óleo essencial

Os óleos essenciais são ricos em compostos terpênicos como os monoterpenos, presentes em cerca de 90% dos óleos, e os sesquiterpenos. Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo este termo empregado para designar todas as substâncias de origem de unidades do isopreno (AZAMBUJA, 2017). O monoterpeno carquejol, presente no óleo essencial de carqueja, é considerado um marcador químico importante na determinação da autenticidade de amostras comerciais de óleo, assim como a presença de acetato de carquejila (SIMÕES-PIRES *et al.*, 2005).

Em 1959, Naves Yves-Rene e Caujolle Fernand iniciaram um estudo sobre os efeitos farmacodinâmicos e farmacológicos do carquejol, cujas propriedades hipotérmica e analgésica foram posteriormente patenteadas nos Estados Unidos da América (GIVAUDAN CORP, 1963).

O óleo essencial de carqueja é um líquido amarelado de forte odor característico, cujos compostos podem ser divididos em quatro subclasses: monoterpenos (Sabineno, β -Pineno, β -Felandreno, D-Limoneno e cis- β -Ocimeno), monoterpenos oxigenados (Carquejol e Acetato de carquejila), sesquiterpenos (β -Elemeno, β -Copaeno, β -Humuleno, γ -Elemeno, β -Cadineno e β -Selinino) e sesquiterpenos oxigenados (Germacreno-D-4-ol e Elemol) (GOMES *et al.*, 2017).

Há poucos trabalhos na literatura com óleo essencial de carqueja e um efeito potencial observado recentemente em ratos Wistar diabéticos foi o hipoglicemiante. (dados não publicados).

1.2 Diabetes melito

A diabetes melito (DM) é uma doença crônica que afeta o metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas (NEGRI, 2005). Ela ocorre quando o pâncreas não produz mais insulina ou quando o corpo não consegue utilizá-la de maneira eficiente. A insulina auxilia na captação de glicose pelas células adiposas e musculares através do desencadeamento de diversas reações enzimáticas. A interferência nessa homeostase glicêmica leva a desordens metabólicas (ARSA *et al.*, 2009), manifestando-se através da hiperglicemia, condição que ocasiona poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia, visão turva, além de complicações agudas como cetoacidose. A hiperglicemia crônica está associada a danos, disfunções e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos (GROSS *et al.*, 2002).

As células do endotélio vascular tornam-se alvos primários dos danos hiperglicêmicos por causa do fluxo contínuo de glicose através deles. A hiperglicemia também leva a um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio dentro das células endoteliais da aorta (ROCHA *et al.*, 2006). Os pacientes com DM possuem maior risco de apresentar doenças cardiovasculares, estas que, são a principal causa de morte em ambos os tipos de diabetes (CASTRO *et al.*, 2006). De acordo com a Associação Americana de Diabetes existem 4 classificações de DM: tipo 1 ou insulino-dependente, tipo 2 ou não insulino-dependente, gestacional e secundária a outras patologias. Independente da

classificação, a principal característica do DM é a manutenção da glicemia em níveis acima dos valores considerados normais (ARSA *et al.*, 2009).

O Diabetes melito tipo 1 é caracterizado pela deficiência completa ou parcial na produção de insulina. Isso ocorre devido a um processo autoimune, no qual há a destruição das células beta do pâncreas (FERREIRA; CAMPOS, 2014). Essa perda pode deixar os pacientes suscetíveis a cetoacidose, muitas vezes sendo a primeira manifestação da doença (GROSS *et al.*, 2002), que normalmente se manifesta durante a adolescência (FERREIRA; CAMPOS, 2014). Pessoas com esse tipo necessitam de administrações diárias de insulina para regular a quantidade de glicose no sangue. A causa do diabetes tipo 1 é desconhecida e atualmente não é evitável (ARSA *et al.*, 2009).

O Diabetes melito tipo 2 (DM2) é uma síndrome heterogênea que resulta de defeitos da secreção e da ação da insulina, onde fatores genéticos e ambientes estão envolvidos. Nos subtipos mais raros de DM2, observa-se um efeito quase que exclusivamente genético, com pouca interferência dos fatores ambientais (formas monogênicas) (REIS; VELHO, 2002). Nestas formas monogênicas, que representam entre 5 a 10% dos casos de diabetes, uma mutação no gene do receptor da insulina ou no gene da insulina transmitida de forma autossômica-dominante é suficiente para promover a hiperglicemia (ARSA *et al.*, 2009). Na grande maioria dos casos não houve qualquer incidente que pudesse ter ocasionado ou contribuído para o surgimento da doença, que geralmente ocorre de modo progressivo no decorrer dos anos (FERREIRA; CAMPOS, 2014).

Na forma mais comum de DM2, o estilo de vida sedentário, alimentação desbalanceada, tabagismo, associados ao excesso de peso, são indispensáveis para o seu desenvolvimento (REIS; VELHO, 2002). Esse conjunto de fatores influencia diretamente no desenvolvimento da resistência insulínica (RI).

A resistência à insulina ocorre quando os tecidos periféricos sensíveis à insulina não respondem bem à insulina circulante, o que leva a níveis aumentados da glicemia (SALAMEH *et al.*, 2016). Essa resistência impede o desencadeamento de respostas enzimáticas, que envolvem a autofosforilação da tirosina quinase para

o substrato IRS-1 e IRS-2, os quais fosforilam diversas proteínas, como a PI3K, que está associada à síntese e translocação dos transportadores de glicose (GLUT) para a membrana celular. Assim, no DM2, a translocação de GLUT-4 e a captação de glicose pelas células ficam prejudicadas, levando à hiperglicemia crônica (ARSA *et al.*, 2009).

O organismo tenta regularizar o excesso de glicose através da excreção urinária e aumentando ainda mais a produção de insulina. Este processo em longo prazo pode levar as células betas à exaustão deixando-as incapazes de produzir quantidades suficientes para manter a regulação (FERREIRA; CAMPOS, 2014). Além da hiperglicemia crônica, anormalidades no metabolismo de lipídios (excesso de ácidos graxos livres circulantes no sistema porta) são observadas com frequência em diabéticos tipo 2, contribuindo para a formação de ateromas e aparecimento de lesões no músculo liso dos vasos sanguíneos, além de disfunções endoteliais desencadeadas pela resistência à insulina (ARSA *et al.*, 2009).

Geralmente há uma maior pré-disposição para o desenvolvimento desta patologia na faixa etária acima dos 40 anos de idade, com pico de incidência ao redor dos 60 anos. Porém, devido aos maus hábitos já citados, tem se visto um aumento considerável no número de crianças obesas ou com sobrepeso, diagnosticadas com diabetes. O controle da doença consiste basicamente em uma dieta regrada, uso de medicamentos orais ou injetáveis e na sua grande maioria, não exige o uso de insulina (FERREIRA; CAMPOS, 2014; GROSS *et al.*, 2002).

Estima-se que 422 milhões de adultos viviam com diabetes em 2014 no mundo, comparado com 108 milhões em 1980 (WHO, 2016). Hoje, no Brasil, há mais de 13 milhões de pessoas vivendo com diabetes, representando 6,9% da população. Isso reflete o aumento dos fatores de risco associados, como excesso de peso ou obesidade, o que justifica a maioria das pessoas apresentarem o tipo 2 da doença (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

1.3 Correlação entre Diabetes tipo 2 e Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) e a diabetes tipo 2 estão atualmente entre as principais ameaças à saúde humana em todo o mundo (DE FELICE, 2013). A demência é muitas vezes precedida por um estágio em que os pacientes apresentam evidências de declínio cognitivo (frequentemente perda de memória), isso é referido como comprometimento cognitivo leve (CCL). Muitos pacientes com CCL avançam para a DA e a coexistência do diabetes pode aumentar o risco de progressão. Determinados fatores aumentam esse risco, como a idade, etnia, educação, presença de depressão, doenças microvasculares e macrovasculares, estresse oxidativo, e maior duração do DM2 (MENEILLY; TESSIER, 2015).

A conexão entre essas doenças foi identificada inicialmente no estudo de Rotterdam (OTT *et al.*, 1999), e ao longo dos anos outros estudos prospectivos e retrospectivos com base na população demonstraram que a prevalência de demência é aumentada em pacientes com diabetes tipo 2 (MENEILLY; TESSIER, 2015). O declínio cognitivo e a neurodegeneração mostraram-se aumentados não apenas no DM2 em si, mas também na pré-diabetes (LUCHSINGER *et al.*, 2004). Alguns autores consideram que a DA é uma forma de diabetes específica do cérebro (DE LA MONTE; WANDS, 2008; AKTER *et al.*, 2010).

Curiosamente, muitos dos distúrbios metabólicos encontrados em indivíduos obesos também podem ser observados na doença de Alzheimer. Isso significa que existe uma ampla sobreposição entre regiões cerebrais afetadas por DA bem como pela DM2 e a obesidade (KULLMANN *et al.*, 2016). Vários estudos demonstraram uma associação negativa entre medidas antropométricas de obesidade, como peso corporal, índice de massa corporal (IMC) ou circunferência da cintura e desempenho cognitivo (ELIAS *et al.*, 2012). Está bem estabelecido que a obesidade aumenta o risco de resistência à insulina e DM2 (BONADONNA *et al.*, 1990; MATSUZAWA *et al.*, 2011). Um estilo de vida não saudável (por exemplo, falta ou atividade física insuficiente, nutrição inadequada), pode começar já nos primeiros anos de vida influenciando essa associação, podendo ter um papel importante na susceptibilidade ao AD mais tarde na vida (DE FELICE, 2013).

Em suma, a DM2 e a obesidade têm efeitos adversos na estrutura e função do cérebro, afetando vários domínios cognitivos. A obesidade de meia idade em particular está negativamente associada à memória e à função executiva, enquanto que os pacientes com DM2 exibem desempenho prejudicado em quase todos os testes neuropsicológicos (KULLMANN *et al.*, 2016).

O DM2 está relacionado ao dano vascular, o que resulta em infartos e micro sangramentos (BRUNDEL; KAPPELLE; BIESSELS, 2014). Ao mesmo tempo, uma redução no volume de matéria cinzenta, espessura cortical, bem como perda de integridade da substância branca estão associadas à obesidade e ao DM2. O lobo frontal e as regiões subcorticais, como o hipocampo, são particularmente susceptíveis a tal declínio. Da mesma forma, os biomarcadores de imagem da demência incluem atrofia, deposição de β -amiloide e hipometabolismo do lobo temporal, principalmente no hipocampo, mas também nos córtices pré-frontal e parietal. Estas são consideradas como características patológicas precoces da DA e se sobrepõem com o declínio cognitivo em pacientes com obesidade e DM2 (KULLMANN *et al.*, 2016).

A resistência à insulina em longo prazo é um critério de diagnóstico chave para o diabetes melito (CHEKE *et al.*, 2017). Em distúrbios metabólicos periféricos, como a DM2, o estresse metabólico prolongado e a sinalização pro-inflamatória, levam a sinalização de insulina atenuada e a diminuição da capacidade de resposta celular à insulina (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011). Devido à sua importância no funcionamento do cérebro, recentemente a sinalização de insulina vem recebendo mais atenção. Uma das razões para isso é porque a resistência à insulina passou a ser observada também no envelhecimento cerebral e na demência, sendo outro fator responsável por influenciar na estrutura e função do cérebro (Figura 2). (KULLMANN *et al.*, 2016; CHEKE *et al.*, 2017).

De fato, estudos usando modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* indicaram que a insulina regula a sobrevivência neuronal, atua como um fator de crescimento e regula a função e a plasticidade do circuito. Além disso, níveis mais baixos de insulina e diferentes componentes das vias de sinalização de insulina foram descritos no hipocampo de DA e em modelos animais de DA, indicando que um

cenário de resistência à insulina cerebral se desenvolve desta patologia. Como resultado desses e de outros estudos, a sinalização defeituosa da insulina no cérebro é agora considerada como uma característica importante da patologia do DA (DE FELICE; BENEDICT, 2015; UMEGAKI *et al.*, 2017).

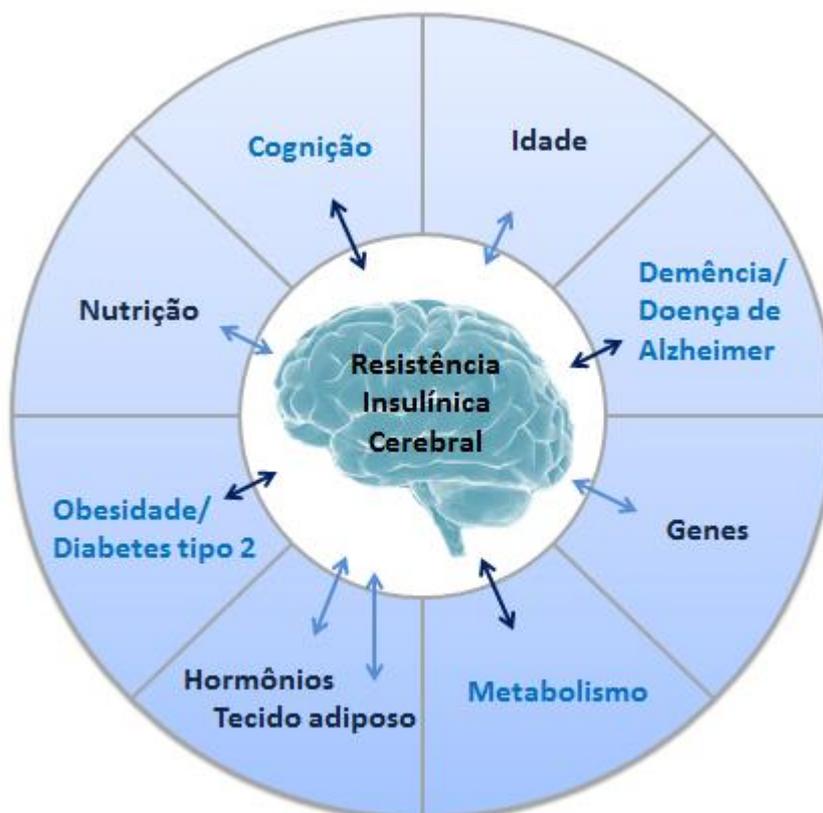


Figura 2. Visão geral do papel central da resistência à insulina no cérebro (RIC) em distúrbios cognitivos e metabólicos. A RIC foi identificada na obesidade e no DM2, assim como na demência. Ela está associada a disfunções metabólicas periféricas e ao declínio cognitivo particularmente em relação à função da memória. Fatores como o tecido adiposo, hormônios, nutrição, certas mutações genéticas e idade estão associados. Fonte: Adaptado de KULLMANN *et al.*(2016).

1.3.1 Resistência Insulínica

Desde a descoberta da insulina em 1922, o músculo esquelético, o tecido adiposo e o fígado são tradicionalmente considerados como órgãos-chave sensíveis à insulina, o cérebro até então era considerado insensível (DE FELICE; LOURENCO, 2014).

O sistema nervoso central (SNC) pode utilizar a glicose independentemente dos processos mediados pela insulina, na medida em que a glicose pode entrar no cérebro através da difusão facilitada (GLUT-1) pela barreira hematoencefálica (BHE). Ela é então absorvida pelas células cerebrais através de uma gama de carregadores de glicose independentes à insulina. A insulina, sendo um grande hormônio peptídico, não atravessaria passivamente a BHE. Por este motivo, durante muito tempo, a função cerebral foi, portanto, considerada como independente da insulina (KULLMANN *et al.*, 2016).

As evidências das ações da insulina no cérebro emergiram mais recentemente, aproximadamente 35 anos atrás, com estudos que mostraram que as ações hipotalâmicas da insulina regulam a homeostase da energia periférica. Os efeitos da insulina no cérebro não estão restritos ao hipotálamo, uma vez que os receptores de insulina (RIs) também foram detectados em altas densidades em outras regiões do cérebro, sugerindo que o papel da insulina no SNC se estende além do controle hipotalâmico (MARINO; XU; HILL, 2011).

O hipocampo, uma região que está fundamentalmente envolvida na aquisição, consolidação e lembrança de novas memórias, apresenta níveis particularmente elevados de RIs, sugerindo que a insulina poderia desempenhar um papel nos mecanismos de plasticidade sináptica e na formação de memória em roedores e humanos (ZHAO; ALKON, 2001; DE FELICE; LOURENCO, 2014). Foi proposta que a insulina para regular a proliferação neuronal, apoptose, transmissão sináptica, degeneração neuronal, na produção de neurotransmissores importantes, para atuar como um fator de crescimento, possivelmente ativando receptores de IGF e na memória e aprendizagem (DE FELICE, 2013; NAMENI *et al.*, 2017).

As proteínas do substrato IRS-1 e IRS-2 desempenham funções centrais na transmissão de sinais dos receptores de insulina e IGF-1 para várias vias intracelulares, incluindo as vias PI3K/AKT e ERK/MAPK, em tecidos periféricos (Figura 3) (BOURA-HALFON; ZICK, 2009). Os papéis específicos de IRS-1 e IRS-2 em funções cognitivas do cérebro não são completamente compreendidos. O IRS-1 parece regular positivamente a memória e é inibido nos cérebros da doença de Alzheimer e modelos animais. Reduzir a inibição do IRS-1 melhorou a cognição em

camundongos. Por outro lado, a sinalização do IRS-2, atua como um modulador negativo de comprometimento da memória, por exemplo, prejudica a formação da coluna dendrítica. Os efeitos benéficos da remoção de IRS-2 são vistos na patologia da doença de Alzheimer reduzindo os déficits cognitivos no modelo de camundongo transgênico de DA (DE FELICE, 2013; KULLMANN *et al.*, 2016).

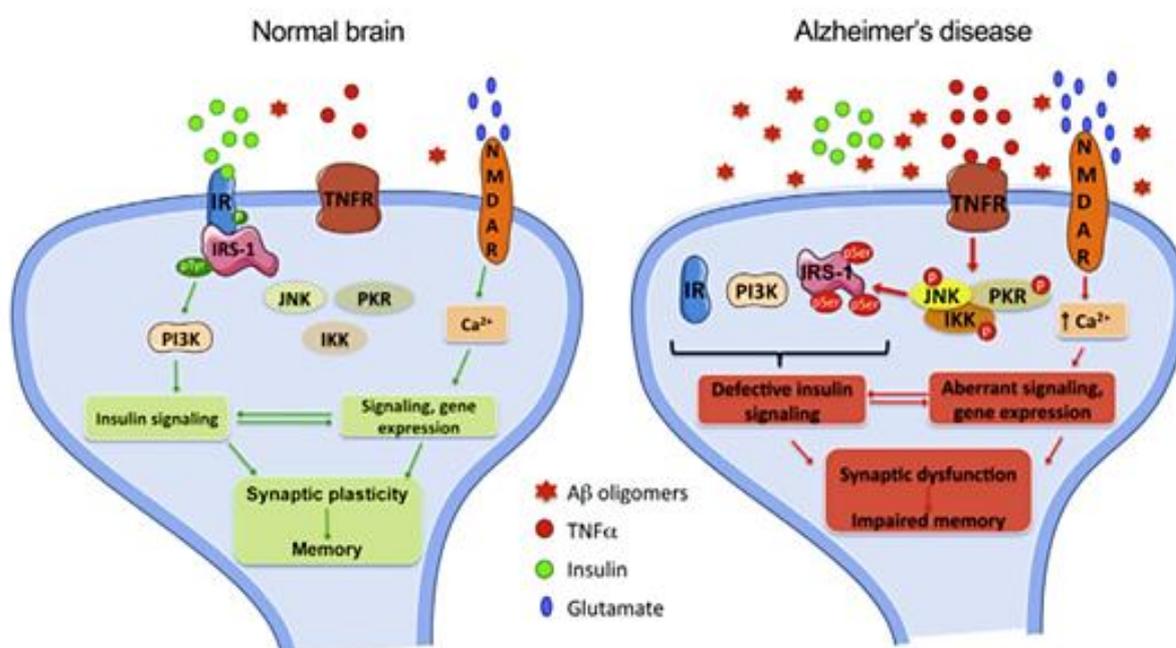


Figura 3. Sinalização de insulina neuronal danificada na doença de Alzheimer (DA). Esboço esquemático da sinalização de insulina neuronal no cérebro normal (esquerda) e cérebro com DA (direita). Sob condições fisiológicas, a ligação de insulina ao seu receptor de superfície celular (IR) desencadeia sua autofosforilação e posteriormente a fosforilação de tirosina do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1). Isso resulta em ativação da fosfo-enzima 3-quinase (PI3K) e respostas celulares a jusante que facilitam a plasticidade sináptica e a memória, influenciadas também pela ativação dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDARs) que ativam a sinalização e a expressão de genes envolvidos nesses processos. A sincronização entre a sinalização NMDAR e IR pode modular as ações da insulina na memória. Na DA, o acúmulo de oligômeros β -amilóide (Aβ) leva a níveis aumentados do fator de necrose tumoral α (TNF-α) e a ativação de quinases sensíveis ao estresse (c-Jun N-terminal quinase [JNK], ácido ribonucleico de cadeia dupla dependente de proteína quinase [PKR] e IκBα quinase [IKK]), resultando na fosforilação de serina inibitória de IRS-1. Os oligômeros Aβ instigam a remoção de IRs da superfície celular e a redistribuição para as células do corpo. Esses eventos combinados bloqueiam a sinalização da insulina neuronal. A ativação aberrante de NMDARs por oligômeros Aβ resulta em excesso no influxo de Ca²⁺, estresse oxidativo neuronal e sinalização interrompida, levando a uma plasticidade sináptica prejudicada. Nessas condições, a ativação putativa de proteínas tirosino fosfatases, pode inibir ainda mais a sinalização de IRS-1, levando ao comprometimento da sinapse e a falha de memória. pSer, fosfoserina; pTyr, fosfotirosina; TNFR, receptor de TNF-α. Fonte: DE FELICE; LOURENCO; FERREIRA, 2014.

O aumento dos níveis de citocinas inflamatórias e a redução do fluxo sanguíneo são fatores que contribuem para o desenvolvimento da resistência

insulínica (RI). A inflamação crônica está presente em muitos pacientes com DM2, e níveis elevados de citocinas inflamatórias estão associados a uma menor cognição em pacientes com diabetes. É possível que o aumento dos níveis de citocinas contribua para a demência ao ter um efeito direto sobre o cérebro, contribuindo para a doença vascular ou causando resistência à insulina. Os pacientes com DM2 apresentam desregulação do eixo pituitário hipotalâmico e altos níveis de cortisol.

Existe uma associação entre níveis aumentados de cortisol e disfunção cognitiva nesses pacientes. O aumento dos níveis de cortisol está associado a anormalidades microvasculares em pacientes com diabetes. Além do impacto na circulação, altos níveis de cortisol podem ter efeitos prejudiciais sobre o hipocampo. (MENEILLY; TESSIER, 2015).

Além disso, os pacientes com DA tipicamente são hiperinsulinêmicos tanto em estado de jejum como em resposta a um teste de tolerância oral à glicose. A hiperinsulinemia periférica prolongada pode diminuir os receptores de insulina na barreira hematoencefálica, levando à fosforilação de tau e a produção de β -amiloide, e conseqüentemente a sua acumulação e efeitos tóxicos (MENEILLY; TESSIER, 2015; KULLMANN *et al.*, 2016; UMEGAKI *et al.*, 2017).

O primeiro indício molecular de como o cérebro pode tornar-se resistente à insulina em DA veio de estudos que demonstraram que os oligômeros $A\beta$ se ligam a neurônios do hipocampo e desencadeiam a remoção de RIs da membrana plasmática (DE FELICE, 2013).

No estudo de Cheke e colaboradores (2017), participantes humanos, magros e obesos, foram escaneados usando uma ressonância magnética ao completar um teste de memória episódica que avaliou a capacidade de lembrar os detalhes integrados do item, espacial e temporal de eventos anteriores. Em participantes magros, a tarefa provocou atividade significativa em regiões do cérebro, que é conhecido por lembrar-se de memórias episódicas, como hipocampo, giro angular e córtex pré-frontal e dorsolateral. Tanto a obesidade como a resistência à insulina foi associada com uma atividade funcional significativamente reduzida em toda essa área. Essas descobertas indicam que a obesidade está associada à atividade

funcional reduzida em áreas cerebrais centrais apoiando a memória episódica e que a resistência à insulina pode ser uma peça-chave nesta associação.

Parece provável então que o reforço da sensibilidade e das ações da insulina no SNC possam fornecer resultados encorajadores na prevenção e resgate do declínio da memória (DE FELICE *et al.*, 2014).

1.4 Demência

Atualmente, as estimativas indicam que 35,6 milhões de pessoas em todo o mundo vivem com demência. Estima-se que este número dobrará até 2030 e mais do que triplicará até 2050. A demência é uma síndrome de natureza crônica ou progressiva, na qual há distúrbios de múltiplas funções como memória, pensamento, orientação, compreensão, cálculo, capacidade de aprendizagem, linguagem e julgamento. As deficiências da função cognitiva são comumente acompanhadas e ocasionalmente precedidas pela deterioração do controle emocional, do comportamento social ou motivação, levando a um declínio da qualidade de vida (WHO, 2012).

Ela afeta cada pessoa de maneira diferente, dependendo da personalidade original e gravidade da patologia. Os problemas ligados à demência podem ser compreendidos em três etapas: estágio inicial - primeiro ano ou dois; estágio intermediário - do segundo ao quarto ou quinto ano; e fase tardia - quinto ano adiante. Esses períodos são dados apenas como uma orientação aproximada, às vezes as pessoas podem apresentar uma deterioração mais rápida, às vezes mais devagar (WHO, 2012).

A doença de Alzheimer é a forma mais comum de demência e possivelmente contribui com 60-70% dos casos no mundo. Outros principais contribuintes incluem a demência vascular, a demência com corpos de Lewy e um grupo de doenças que contribuem para a demência frontotemporal (WHO, 2012). Alguns pacientes podem até apresentar uma demência mista (MENEILLY; TESSIER, 2015).

1.4.1 Doença de Alzheimer

No Brasil, há cerca de 1,2 milhão de casos, a maior parte deles ainda sem diagnóstico. Não se sabe por que a Doença de Alzheimer (DA) ocorre, mas são conhecidas algumas lesões cerebrais características dessa doença (ABRAZ, [2017]). As autópsias *post-mortem* revelam algumas características, como: acumulação de placas β -amilóide ($A\beta$); emaranhados neurofibrilares (acumulação de *tau* hiperfosforilado); perda generalizada de neurônios; alterações nos sistemas de neurotransmissores e atrofia nas regiões do cérebro responsáveis pela memória e processamento, incluindo hipocampo, amígdala, córtex frontal e parietal. A deposição de placas $A\beta$ é considerada o evento central na patogênese. A não degradação deste peptídeo ou a superprodução leva à deposição amiloide, que por sua vez, provoca a multiplicidade dos eventos já citados, levando as disfunções cognitivas (KULLMANN *et al.*, 2016; SALAMEH *et al.*, 2016; DE FELICE *et al.*, 2014).

Vários fatores de risco modificáveis contribuem para o desenvolvimento de DA. Diabetes, idade avançada, inatividade física e obesidade estão entre os fatores de risco que compartilham características patológicas, incluindo dislipidemia e resistência à insulina. Além disso, também há o fator de risco genético mais forte para DA esporádica (representam menos de 5% dos casos de DA total), a presença da isoforma E4 do gene APOE, que altera a fisiologia lipídica no cérebro e periferia (SALAMEH *et al.*, 2016).

1.5 Dieta hipercalórica

O hipocampo é vulnerável as consequências adversas de dietas ricas em gorduras que levam a alteração do metabolismo da glicose (NAMENI *et al.*, 2017). A dislipidemia pode ser o resultado de fatores genéticos e de dieta, e vários subgrupos lipídicos, incluindo ácidos graxos (saturados ou não saturados), triglicerídeos, colesterol e fosfolípidos, são alterados na DA (SALAMEH *et al.*, 2016). Os estudos que investigam o papel dos lipídios no cérebro revelaram o metabolismo lipídico anormal como um processo patofisiológico importante no desenvolvimento da doença. (CREEGAN *et al.*, 2015; FOLEY, 2010).

As dietas que consistem em um aumento no consumo de gorduras saturadas e trans envolvem uma maior incidência de DA, enquanto as dietas ricas em gorduras saudáveis são protetoras (LUCHSINGER; MAYEUX, 2004). O excesso de ingestão de gordura saturada aumenta os lipídios circulantes, incluindo ácidos graxos livres e citocinas inflamatórias e requer uma redistribuição do teor de lipídios nas células. O aumento do nível de lipídios pode afetar importantes funções celulares envolvidas em DA, incluindo flexibilidade da membrana celular, potencial oxirredução e agregação de A β . Além dos mecanismos acima mencionados, a obesidade e a dislipidemia resultantes da dieta podem atuar no cérebro através da resistência à insulina (LIM; MARTINS; MARTINS, 2014).

Existe um rico campo de estudos que investiga os efeitos da dieta sobre a aprendizagem e a memória em humanos e modelos de roedores. Nos seres humanos, uma dieta rica em gordura e açúcar diminui o desempenho nas tarefas de memória dependentes do hipocampo. As dietas com alto teor de gordura têm sido associadas à diminuição do desempenho em numerosos testes cognitivos e aumento do risco de doença de Alzheimer. Os ácidos graxos saturados dietéticos mais elevados, em particular, estão associados ao mau desempenho cognitivo. Em roedores, o consumo de uma dieta com alta porcentagem de gordura (por kcal) afeta negativamente o desempenho em uma variedade de tarefas de aprendizagem e memória (KASPER *et al.*, 2017).

Segundo Nameni e colaboradores (2017), uma dieta de gordura de 59% conduz a deficiência no transporte de insulina da periferia para o líquido cefalorraquidiano (LCR) via sensibilidade reduzida à insulina (pacientes com distúrbios neurodegenerativos apresentam baixa concentração de insulina no LCR). A dieta rica em gordura indicou um efeito negativo sobre a função da memória, reduzindo a sensibilidade à insulina no SNC. Os resultados deste estudo mostraram que a RI depende não apenas do peso corporal dos animais, mas também da quantidade de teor de gordura da dieta.

Em um esforço para delinear o papel dos triglicerídeos sobre o comprometimento cognitivo associado à obesidade, um estudo foi concluído usando

ratos envelhecidos em uma série de tarefas de memória dependentes do hipocampo ou não. Este estudo demonstrou que deficiências cognitivas ocorreram nestes ratos obesos induzidos por dieta (FARR *et al.*, 2008).

Outro estudo examinou o transporte de insulina em camundongos obesos, magros ou obesos famintos, onde foi possível observar que a redução do transporte insulínico através da BHE em ratos obesos induzidos por dieta e aumento do transporte em estado de fome. Além disso, este estudo demonstrou que o transporte de insulina é influenciado pelo nível de triglicérides. A insulina no cérebro age como um fator de saciedade. Ela faz isso através de uma série de mecanismos, incluindo reduzir o apetite e diminuir a massa corporal. Alterações na capacidade do cérebro para responder à insulina, portanto, podem influenciar no peso corporal e na resposta a insulina periférica. Por extensão, um declínio na passagem de insulina através da BHE poderia contribuir para o ganho de peso corporal e resistência à insulina periférica através da indução da obesidade (URAYAMA; BANKS, 2008).

Sendo assim, certas classes de medicamentos para diabetes, particularmente análogos de GLP-1 e agentes que reduzam a resistência à insulina, como as glitazonas, teriam um impacto positivo na cognição (MENEILLY; TESSIER, 2015). Pequenos estudos piloto em humanos sugerem que os agonistas de PPAR- γ podem preservar ou melhorar a função cognitiva em DA, provavelmente através da sinalização de insulina melhorada no cérebro (SATO *et al.*, 2011).

Exenatida-4 e Liraglutida também restauraram a sinalização de insulina prejudicada nos cérebros de um modelo de rato transgênico de DA, melhorando a cognição e diminuindo a acumulação de A β (DE FELICE, 2013). O impacto da administração de insulina nasal na memória declarativa foi investigado em humanos e modelos animais e de forma confiável mostra um efeito benéfico (CRAFT; CHOLERTON; BAKER, 2012).

Logo, vincular mecanismos patogênicos no cérebro de DA aos mecanismos presentes nas doenças metabólicas, fornece a ideia para o uso de agentes antidiabéticos como uma nova terapêutica em DA e como uma estratégia para prevenir o declínio cognitivo nos diabéticos. (De FELICE *et al.*, 2015) .

2 OBJETIVOS

Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar se o óleo essencial de carqueja promove redução da glicemia em camundongos C57BL/6 insulino-resistentes e se, uma vez idosos, promove um ganho cognitivo.

2.1 Objetivos específicos

- ✓ Induzir resistência insulínica em camundongos C57BL/6 com dieta de cafeteria hipercalórica;
- ✓ Avaliar a glicemia dos camundongos C57BL/6 antes da incorporação da dieta hiperlipídica, durante a dieta e após o tratamento com óleo essencial de carqueja;
- ✓ Avaliar a capacidade de aprendizagem e memória dos camundongos C57BL/6 através do teste do Labirinto aquático de Morris aos 6 meses, 11 meses e 12 meses de idade e;
- ✓ Avaliar os níveis de colesterol e triglicerídeos dos camundongos C57BL/6 após o tratamento com óleo essencial de carqueja.

3 METODOLOGIA

3.1 Animais

Todas as experiências foram aprovadas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (CEUA/001/2016).

Os camundongos C57BL/6 ao se alimentarem de dietas com alto teor de gordura, desenvolvem obesidade, hiperglicemia de leve a moderada, e hiperinsulinemia, por isso são amplamente utilizados em áreas de pesquisa com diabetes e obesidade (INSTITUTO DE CIENCIA E TECNOLOGIA EM BIOMODELOS, 2017). Estas características fizeram com que os C57BL/6 fossem escolhidos para esse estudo. Os animais aos seis meses de idade foram divididos em quatro grupos:

- i) Controle (C) - 7 camundongos C57BL/6 que receberam apenas água *ad libitum* e ração comercial comum;
- ii) Controle + óleo essencial de carqueja (OBt) - 6 camundongos C57BL/6 que receberam ração comercial comum e aos 11 meses de idade foram tratados com 20 mg/kg/dia de Obt por gavagem;
- iii) Ração hipercalórica (HC) - 8 camundongos C57BL/6 que foram tratados com dieta hipercalórica por 3 meses a partir dos 6 meses de idade, até o desenvolvimento da resistência insulínica (RI) e;
- iv) Ração hipercalórica + óleo essencial de carqueja (HC+OBt) - 8 camundongos C57BL/6 que foram tratados com dieta hipercalórica por aproximadamente 3 meses até o desenvolvimento da RI. Após esse período foi iniciado o tratamento com 20 mg/kg/dia de Obt, por gavagem, durante 4 semanas.

3.2 Labirinto Aquático de Morris (LAM)

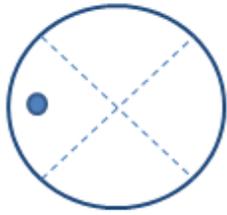
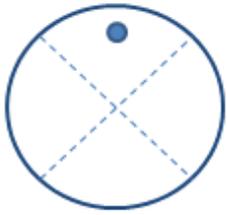
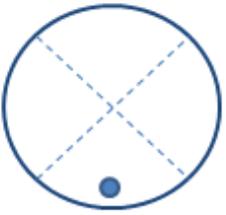
O teste do LAM foi utilizado para acessar o aprendizado espacial e a memória dos camundongos. Um aparato grande e circular foi preenchido com água, a qual foi misturada tinta guache branca com o intuito de ocultar da vista dos animais a plataforma de escape submersa. Uma pequena câmera de vídeo posicionada

acima da piscina para registrar cada experimento. Pistas visuais foram mantidas constantes na sala ao longo de todo o experimento e organizadas de forma que cada quadrante tivesse uma sugestão visual única.

Todos os grupos de animais foram submetidos a três baterias de testes, contendo cinco dias cada. Nos dias 1, 2, 3 e 4 de cada bateria, os animais tinham quatro testes de treinamento de dois minutos cada para localizar a plataforma (com um intervalo de quinze minutos entre eles). Essa que, teve a posição modificada a cada bateria. Uma vez que a plataforma foi atingida, o camundongo foi autorizado a permanecer na plataforma por 10 segundos. Se o camundongo não encontrou a plataforma em dois minutos, ele foi guiado até ela e depois deixou-se permanecer na plataforma por 10 segundos. Nos dias 5, a plataforma foi retirada, e foram realizados dois testes de dois minutos (Tabela 1).

A baterias de LAM foram realizadas no início do experimento (aos 6 meses de idade dos animais), após a constatação da resistência insulínica através da dieta hipercalórica (aos 11 meses), e por fim após o tratamento com o óleo essencial de carqueja (aos 12 meses). Analisando-se assim a latência do tempo para o encontro da plataforma e o tempo relativo gasto em cada quadrante alvo.

Figura 4. Aplicações do teste do Labirinto aquático de Morris

LAM	Bateria 1 (6 meses)	Bateria 2 (11 meses)	Bateria 3 (12 meses)
Plataforma			
Dia 1 (plataforma submersa)	4 testes	4 testes	4 testes
Dia 2 (plataforma submersa)	4 testes	4 testes	4 testes
Dia 3 (plataforma submersa)	4 testes	4 testes	4 testes
Dia 4 (plataforma submersa)	4 testes	4 testes	4 testes
Dia 5 (sem plataforma)	2 testes (2')	2 testes (2')	2 testes (2')

3.3 Tratamento

3.3.1 Dieta

Os grupos Controle e OBt receberam a ração padrão com um valor calórico de 306 kcal/100g (informação do rótulo: carboidratos = 45,5%, gorduras = 4,0% e proteínas = 22,0%) durante todo o experimento. Inicialmente, os grupos HC e HC+OBt receberam a ração padrão, porém, após o primeiro teste do labirinto aquático de Morris (LAM) iniciou-se o tratamento com uma dieta rica em gordura (estimativas: carboidratos = 45,2%, gorduras = 25,5% e proteínas = 16,6%) tendo seu valor calórico em torno de 477,1 kcal/100g (TERRA, A. M. *et al.*, 2017). Esta última dieta foi produzida internamente usando a ração padrão Nuvilar® em pó, chocolate ao leite, amendoim e biscoito maizena (3: 2: 2: 1). A mesma durou três meses, até a constatação da resistência insulínica. Todos os grupos tiveram livre acesso à água e a comida.

3.3.2. Óleo essencial de carqueja

O óleo essencial de carqueja utilizado foi obtido através da empresa Laszlo Aromaterapia Ltda., Lote 001365. Este foi analisado por cromatografia gasosa combinada com um detector de espectrometria de massa. Foram identificados 15 compostos, que podem ser divididos em quatro subclasses: monoterpenos (5 membros), monoterpenos oxigenados (2), sesquiterpenos (6) e sesquiterpenos oxigenados (2). O acetato de carquejila foi o principal composto encontrado neste óleo essencial: (46,24 ± 4,21)% (GOMES, A. *et al.*, 2017).

O óleo foi emulsificado com xantana em água e a administração foi realizada por sondagem orogástrica (gavagem), na dose de 20 mg/kg/dia, nos grupos OBt e HC+OBt. O tratamento começou as 11 meses de idade, após o segundo teste de LAM e durou até o último teste de LAM aos 12 meses.

3.4 Glicemia

Para avaliação do perfil glicêmico dos animais, foram realizadas medições ao longo de todo experimento, com jejum prévio de 6 horas, através do glucômetro (Accu Chek Performa, Roche Diagnóstics, São Paulo-SP). As amostras de sangue foram coletadas por secção de vasos sanguíneos da região caudal do animal. A tolerância diminuída a glicose, característica da resistência insulínica, foi confirmada mediante o teste de tolerância oral a glicose, no qual é ministrado, por gavagem, 2g/kg de glicose e, posteriormente, a glicemia é medida por glucômetro em diferentes tempos: 0, 15, 30, 45, 90 e 120 minutos.

3.5 Coleta de amostras e análises bioquímicas

Após a realização do último teste de LAM, os animais sofreram eutanásia por deslocamento cervical e amostras de sangue foram retiradas através de punção intracardíaca. A centrífuga foi utilizada na centrifugação do sangue coletado, a 2500rpm durante 15 minutos, para obtenção do soro.

A partir destas amostras de soro, realizamos as dosagens do colesterol total e triglicerídeos, através do kit comercial Bioclin, Quibas, MG, BR. Os testes foram realizados de acordo com a metodologia indicada pelo fabricante, em um espectrofotômetro digital (EDUTECH – EEQ-9023).

3.6 Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism, versão 6.0. Para a análise estatística entre os diferentes grupos o teste utilizado foi o Two-Way ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni. Já para a análise intergrupos foi utilizado o Teste *T* Student. Adotamos o nível de significância α do teste, neste caso foi usado $\alpha=5\%$, sendo valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significantes. Todos os resultados foram apresentados pela média \pm EPM.

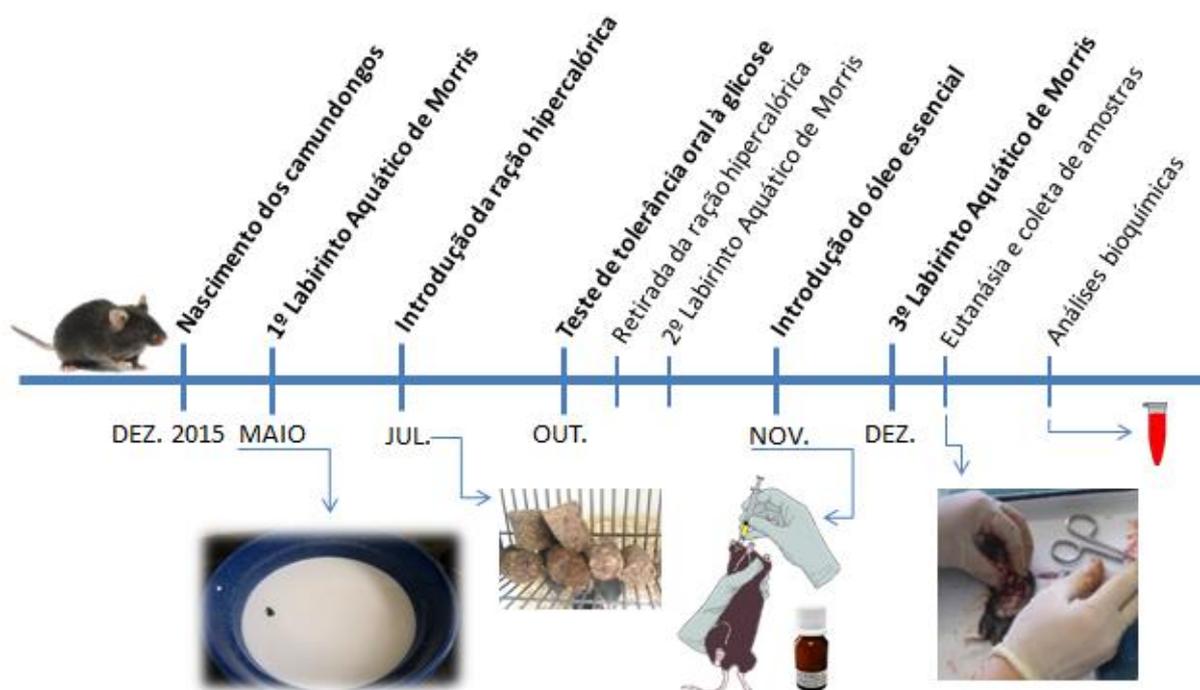


Figura 5. Linha do tempo da metodologia aplicada.

4 RESULTADOS

4.1 Peso

No presente estudo, é possível observar que o grupo Controle manteve o peso relativamente constante ao longo do experimento. Ao compará-lo com os grupos HC e HC+OBt, conseguimos constatar que a dieta hipercalórica realmente apresenta grande influência no peso dos animais, considerando que houve um aumento proeminente do peso nestes grupos após a inserção da nova dieta (Figura 6). Verificamos uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos Controle e OBt em relação aos grupos HC e HC+OBt. Após o tratamento com o óleo essencial de carqueja, houve uma leve redução do peso no grupo OBt, e uma redução significativa no HC+OBt ($p < 0,05$) (Tabela 1).

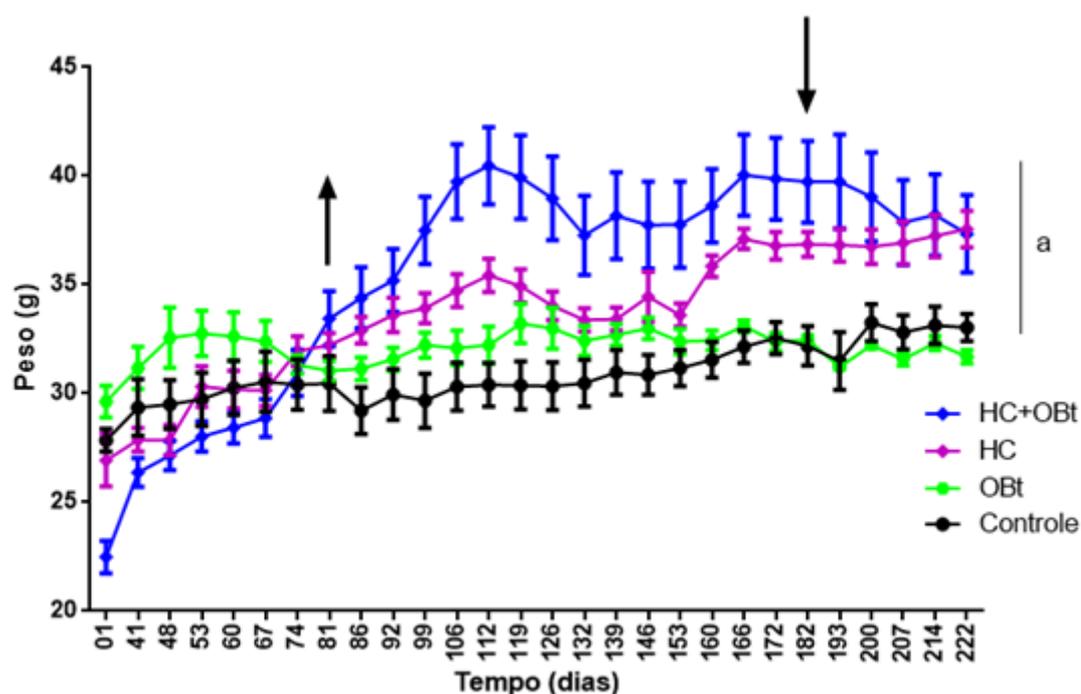


Figura 6. Peso médio em gramas dos grupos ao longo do experimento. Setas para cima (↑): inserção da dieta hipercalórica aos grupos HC; seta para baixo (↓): início do tratamento com óleo de carqueja aos grupos OBt. a. Diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos Controle e OBt em relação aos grupos HC e HC+OBt.

Durante o período do tratamento com o óleo essencial (12 meses), momento no qual todos os grupos já estavam novamente recebendo a dieta padrão, foi possível observar um aumento significativo do consumo de ração do grupo HC em

relação a quando recebia a dieta hipercalórica (11 meses), o mesmo não foi observado no grupo HC+OBt (Tabela 1).

Tabela 1. Peso e consumo de ração observados nas diferentes idades dos camundongos C57BL/6.

		Controle	OBt	HC	HC+OBt
Peso (g)	6 meses	29,22±1,08	31,15±0,52	33,61±0,8	34,41±1,4
	11 meses	32,56±0,74	32,38±0,42	36,87±0,57 ^a	39,74±1,87 ^a
	12 meses	33,04±0,62	31,70±0,31	37,57±0,84 ^a	37,35±1,79 ^{a,d}
Consumo (g/dia)	6 meses	3,45±0,69	5,00±0,1	4,05±0,75	3,18±0,17
	11 meses	3,65±0,24	5,42±0,12 ^b	3,72±0,21	2,98±0,13
	12 meses	3,59±0,10	4,53±0,32	5,50±1,27 ^{c,e}	3,45±0,24

a. Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos grupos Controle e OBt.

b. Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos grupos HC+OBt.

c. Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos grupos Controle, HC e HC+OBt.

d. Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos 11 meses.

e. Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao tratamento com ração HC.

4.2 Parâmetros bioquímicos

A dieta hipercalórica promoveu um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores glicêmicos dos camundongos C57BL/6, bem como nos níveis de colesterol total, no entanto não observamos alterações significativas nas taxas de triglicerídeos, no entanto, o tratamento com óleo de carqueja não alterou os níveis de colesterol total e triglicerídeos (Tabela 2).

Tabela 2. Glicemia observada nas diferentes idades dos camundongos C57BL/6; valores de triglicerídeos e colesterol total analisados ao final do experimento.

		Controle	OBt	HC	HC+OBt
Glicemia (mg/dl)	6 meses	118,4±0,4	128,8±3,9	148,1±3,7	141,6±5,5
	11 meses	139,6±7,2	143,8±9,8	163,8±3,2 ^a	175,6±9,9 ^a
	12 meses	135,7±5,2	118,2±9,3	152,6±5,6 ^a	143,9±6,3 ^{a,b}
Triglicerídeos (mg/dl)		50,49±7,2	60,2±10,4	60,45±2,32	69,11±10,31
Colesterol total (mg/dl)		74,13±5,88	69,2±4,3	94,6±4,99 ^a	118,5±16,36 ^a

a. Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos grupos Controle e OBt.

b. Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao período de 12 e 11 meses de idade.

A glicemia foi dosada ao longo de todo experimento, e foi possível verificar uma diferença significativa ($p < 0,05$) dos níveis glicêmicos entre os grupos com a dieta padrão e com a dieta hipercalórica. Após a introdução da dieta de cafeteria, era

esperado um aumento proeminente dos níveis glicêmicos que pudesse indicar intolerância a glicose, constatada através do Teste oral de tolerância a glicose (Figura 7). Com o início do tratamento, foi possível notar que o óleo essencial de carqueja reduziu significativamente ($p < 0,05$) a glicemia dos camundongos no grupo HC+OBt. Observamos também uma redução na glicemia dos animais que ingeriram ração comum tratados com o óleo essencial de carqueja (OBt), porém não significativo.

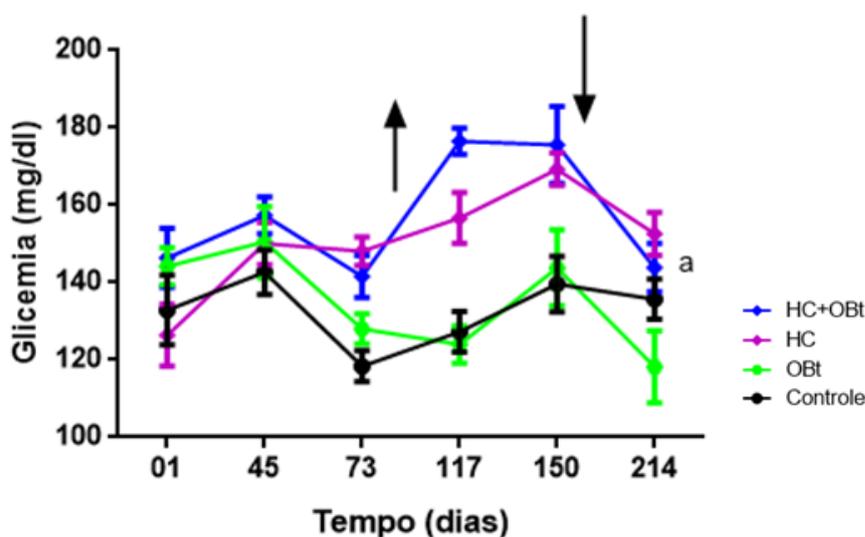


Figura 7. Glicemia dos grupos Controle, OBt, HC e HC+OBt ao longo do experimento Seta para cima (\uparrow): inserção da dieta hipercalórica aos grupos HC; seta para baixo (\downarrow): início do tratamento com óleo de carqueja aos grupos OBt.
a. Diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos Controle e OBt em relação aos grupos HC e HC+OBt;

Após o consumo por 3 meses da dieta hipercalórica, antes do tratamento com óleo essencial de carqueja ser iniciado, foi realizado o Teste oral de tolerância à Glicose (TOTG), visando verificar uma possível resistência à insulina. Como pode ser observado na figura 8, a tolerância a glicose foi significativamente superior ($p < 0,05$) nos grupos que receberam a dieta hipercalórica (HC e HC+OBt) em relação aos grupos Controle e OBt.

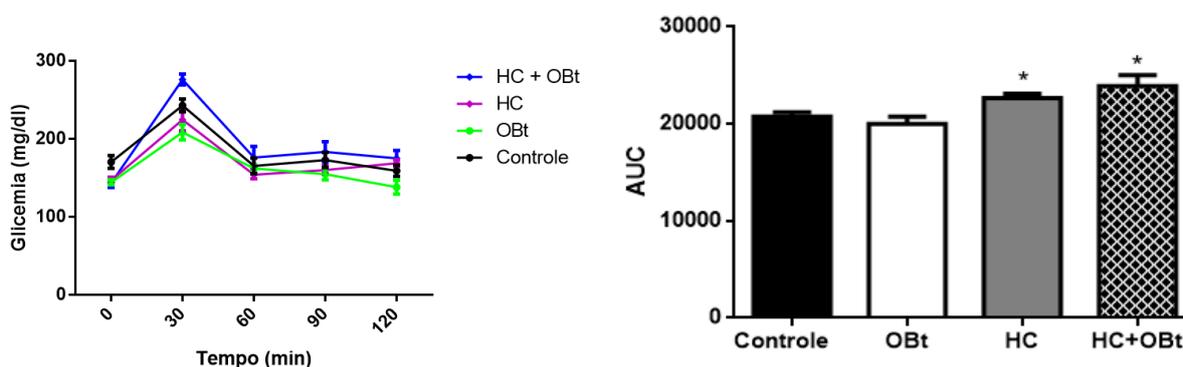


Figura 8. Curva de tolerância a glicose e área sobre a curva (AUC). A dieta hipercalórica foi capaz de promover tolerância a glicose após 3 meses de tratamento.

* Diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos HC e HC+OBt em relação aos grupos Controle e OBt.

4.3 Labirinto aquático de Morris (LAM)

Ao analisarmos a latência para o encontro da plataforma no LAM, observou-se uma redução da cognição dos animais à medida que envelheciam nos grupos Controle e OBt (11 meses). Possivelmente, não foi observada uma piora entre os 11 e 12 meses no grupo Controle, em função do curto espaço de tempo. Os grupos HC e HC+OBt após inserção da dieta hipercalórica (11 meses), apresentaram um desempenho similar aos 6 meses de idade, apresentando um resultado inesperado, de que a dieta melhora a cognição. Já aos 12 meses, após a administração do óleo essencial, o grupo HC+OBt apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) na capacidade de memorização/aprendizado. Também é possível observar uma piora no grupo OBt aos 12 meses (Figura 9). Desta forma, fica claro que o OBt não favorece um aumento na cognição.

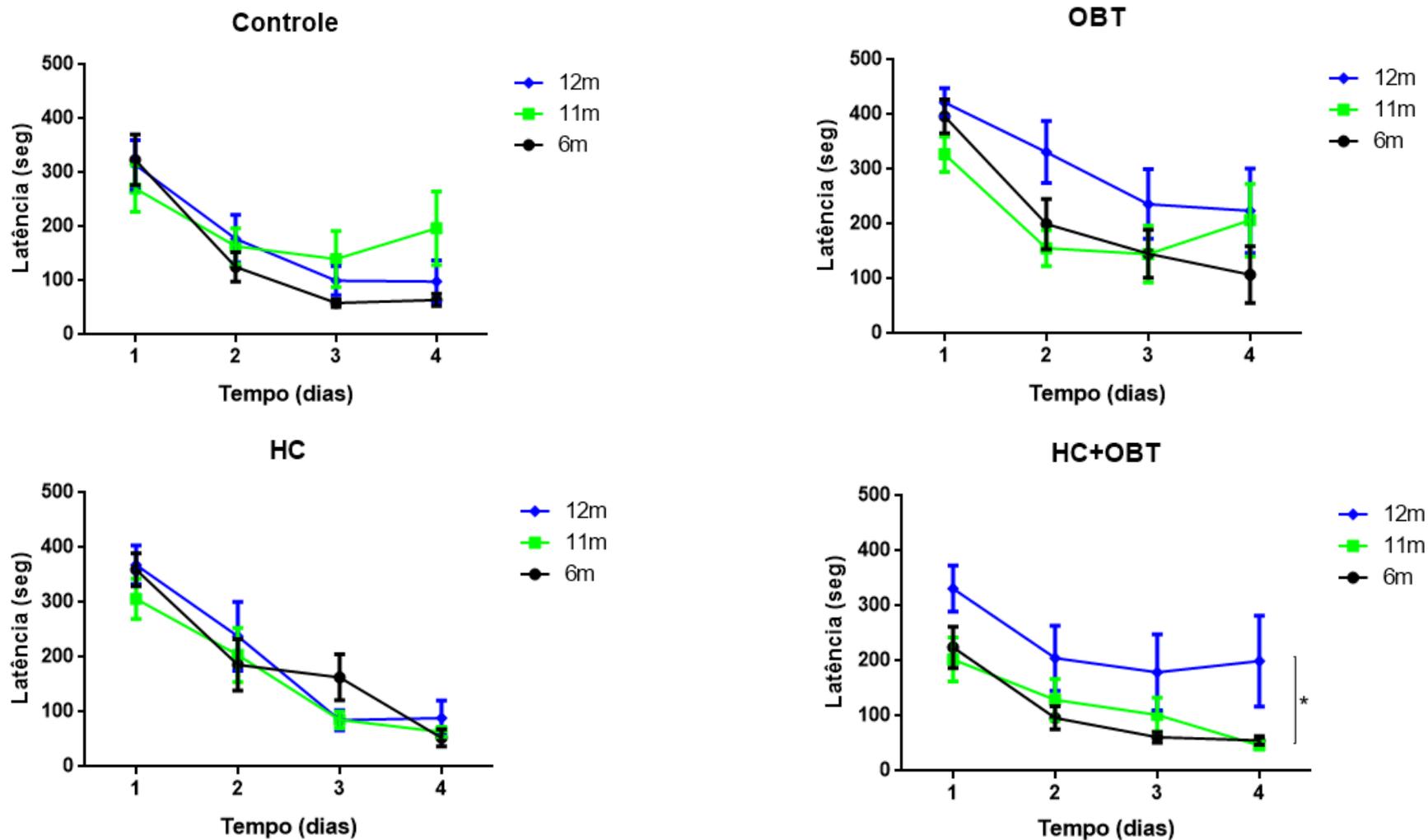


Figura 9. Latência, em segundos, no teste do labirinto aquático de Morris. Aos 6 meses, teste inicial; 11 meses, teste após dieta hipercalórica; 12 meses, teste após tratamento om Obt. .

* Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação às idades de 6 e 12 meses

A ausência de efeito do Obt sobre o aprendizado/memória pode observada melhor na figura 10, onde a latência no grupo que recebeu apenas o óleo essencial é significativamente superior ($p < 0,05$) ao grupo Controle.

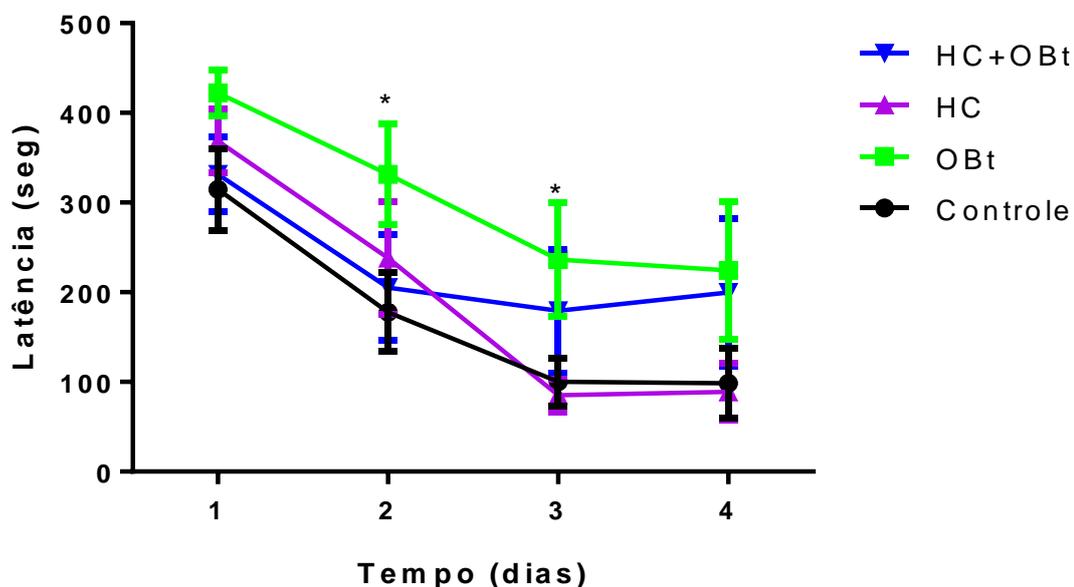


Figura 10. Latência, em segundos, no teste do labirinto aquático de Morris, com camundongos dos diferentes grupos aos 12 meses de idade.

* Diferença significativa do grupo OBt em relação ao grupo Controle.

Ao examinarmos os diagramas que mostram o percentual de tempo gasto pelos animais no quadrante 1 (Q1), local no qual se encontrava a plataforma, os dados observados anteriormente são corroborados. Pode-se observar que aos 6 meses os animais no T5 aprenderam onde estava a plataforma, visto que o percentual de tempo no Q1 é significativamente ($p < 0,05$) maior que em T1. No grupo HC e HC+OBt, aos 11 meses, o percentual de tempo em Q1 é maior em T5 quando comparamos com os 6 meses, demonstrando que a dieta hipercalórica trouxe algum benefício para a memória dos animais. Já aos 12 meses, com a administração do óleo de carqueja, houve uma diminuição no percentual de tempo gasto dos animais no quadrante Q1 e aumento nos demais quadrantes nos grupos OBt e HC+OBt (Figura 11).

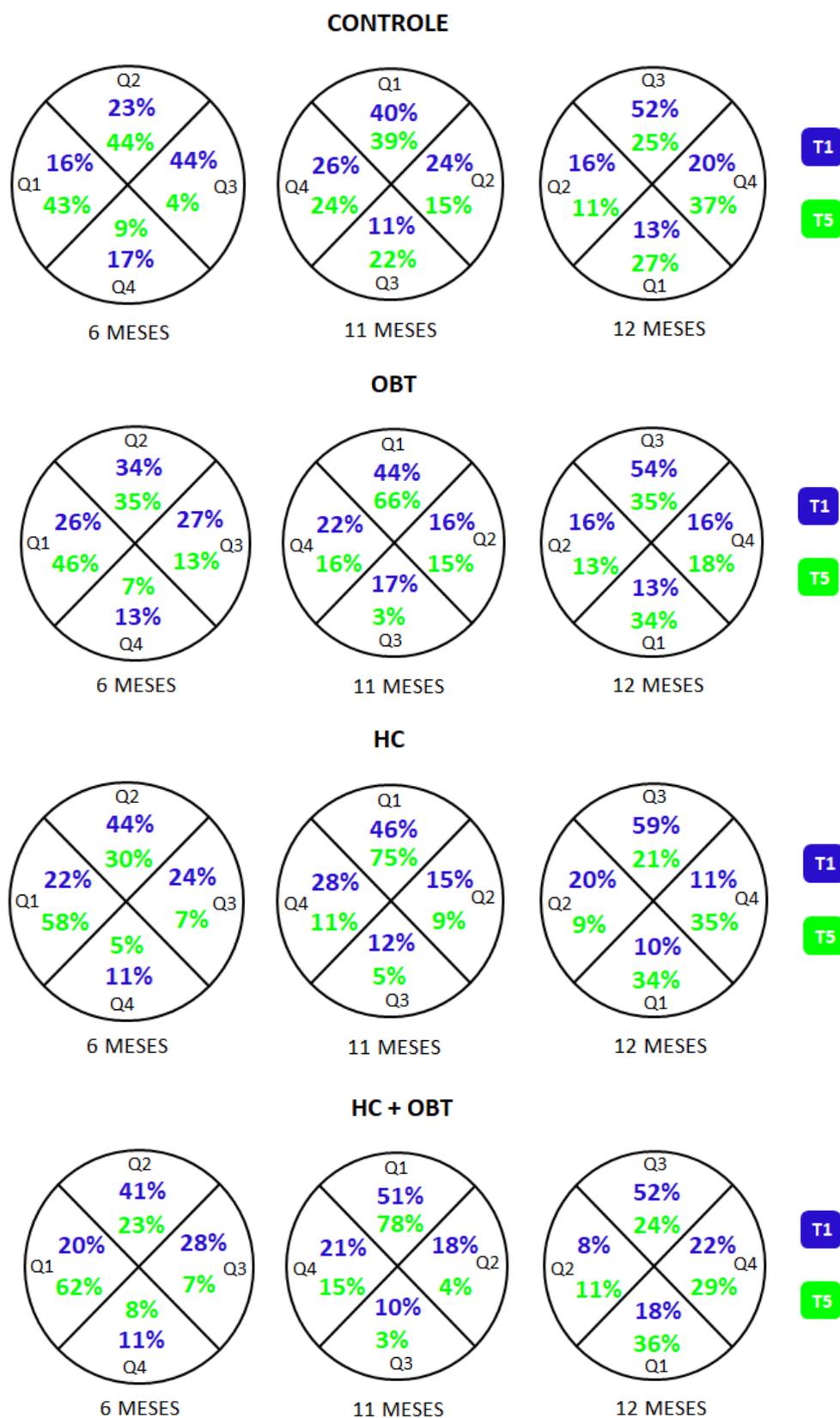


Figura 11. Porcentagem de tempo nos quadrantes do teste do labirinto aquático de Morris. Q1, quadrante onde estava localizada a plataforma; T1= na presença da plataforma; T5= na ausência da plataforma).

5 DISCUSSÃO

Diversos estudos epidemiológicos demonstram uma associação entre a obesidade causada pela ingestão de gordura na dieta e um risco aumentado de desenvolver DA. Existem muitas teorias para explicar a conexão entre DA e a síndrome metabólica, incluindo sinalização de insulina cerebral prejudicada e distúrbios no metabolismo lipídico. No entanto, a ligação molecular e celular entre as patologias ainda não foi elucidada (KOTHARI *et al.*, 2017).

Dietas ricas em gorduras saturadas estão associadas à obesidade, diabetes tipo 2 e RI. Na literatura diversos estudos já constataram que o tratamento com rações hipercalóricas em ratos e camundongos são capazes de aumentar o peso dos animais (KOTHARI *et al.*, 2017; PARK *et al.*, 2001; LEE *et al.*, 2011; YEN *et al.*, 2017; CHU *et al.*, 2017; HATZIDIS *et al.*, 2017; BUSQUETS *et al.*, 2017; UNDERWOOD; THOMPSON, 2016^a; SOBESKY *et al.*, 2014; WOODIE; BLYTHE, 2017).

Segundo Hariri e Thibault (2010), normalmente são utilizadas dietas ricas em gordura na faixa de 30-78% da ingestão total para estudar obesidade em ratos e camundongos. Em geral, dietas contendo mais de 30% da energia total como gordura levam ao desenvolvimento da obesidade. Porém, pesquisadores já induziram obesidade através de porcentagens que variaram de 13 a 85%. No presente estudo foi utilizada para a indução da resistência insulínica uma dieta de cafeteria com 25,5% de gordura. Após a substituição da dieta comum, pela dieta hipercalórica (DHC) nos grupos HC e HC+OBt, foi possível observar um aumento significativo no peso destes grupos em relação aos grupos Controle e OBt, condizendo com o que é observado na literatura.

Existem poucos estudos que avaliam a capacidade emagrecedora da *Baccharis trimera*. Em um estudo com humanos, cápsulas de carqueja desidratada mostraram eficácia na redução do peso dos pacientes após 30 dias de tratamento (FIGUEIREDO; PEREIRA, 2011). Já em animais, o extrato metanólico de *Baccharis trimera* apresentou uma ação emagrecedora, acreditando-se que seja devido a sua inibição da lipase pancreática. (SOUZA *et al.*, 2012). Até o presente momento, não

foram encontrados estudos na literatura que avaliassem o efeito do óleo essencial de BT sobre o peso.

A avaliação dos dados desta pesquisa demonstrou que o óleo essencial de carqueja foi capaz de reduzir, de modo significativo, o peso dos animais que foram tratados com a alimentação rica em gordura e carboidratos. Esse resultado demonstra a necessidade de mais pesquisas sobre a carqueja sendo utilizada na redução de peso induzido por dietas hipercalóricas, podendo assim, se tornar um novo método fitoterápico para o tratamento da obesidade.

Não foi observada alteração na ingestão de ração entre os grupos tratados com dieta padrão e os com dieta hipercalórica, assim como estudos que relatam o peso dos alimentos consumidos, não demonstram (LEE *et al.*, 2011; YEN *et al.*, 2017). Porém, durante o período do tratamento com o óleo essencial, momento no qual todos os grupos já estavam novamente recebendo a dieta padrão, foi possível observar um aumento significativo do consumo do grupo HC em relação a quando recebia a dieta hipercalórica. O mesmo não foi observado no grupo HC+OBt, mostrando que o óleo essencial de carqueja pode apresentar um efeito anorexígeno após um período de maior ingestão calórica.

As análises da relação entre a administração da carqueja e das taxas de colesterol e triglicerídeos variam na literatura. Um grupo já demonstrou que a *Baccharis trimera* proporciona a diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídeos (SOUZA *et al.*, 2012), enquanto outros estudos não demonstraram diferença (NASCIMENTO, 2013; FERREIRA *et al.*, 2004). No nosso estudo, observamos que o óleo essencial de carqueja não foi capaz de alterar esses parâmetros bioquímicos.

A dieta com alto teor de gordura é uma abordagem bem estabelecida para induzir RI em órgãos periféricos e hipotálamo. Ela induz RI hepática e comprometimento da plasticidade sináptica em camundongos C57BL/6. Além disso, a DHC está associada com RI telencefálico e efeitos deletérios sobre integridade sináptica e comportamentos cognitivos (KOTHARI *et al.*, 2017).

Diversos autores (PARK *et al.*, 2001; NASCIMENTO, 2013; YEN *et al.*, 2017; BUSQUETS *et al.*, 2017; UNDERWOOD; THOMPSON, 2016^b; LEE *et al.*, 2011), confirmaram que apesar de períodos variados de tratamento e composição calórica diferentes, todas as dietas hipercalóricas aumentaram os níveis glicêmicos nos animais de pesquisa, produzindo resistência à insulina. Assim como eles, constatamos que houve uma diferença significativa dos níveis glicêmicos entre os grupos tratados com a dieta padrão e com a dieta hipercalórica. E após a realização do TOTG, confirmou-se que os grupos HC e HC+OBt apresentaram uma tolerância a glicose diminuída, em comparação aos grupos Controle e OBt.

A *Baccharis trimera* é mencionada por Feijó e colaboradores (2012) em um estudo sobre as plantas medicinais utilizadas como hipoglicemiantes para o tratamento de diabetes no Rio Grande do Sul e, segundo Cecílio e colaboradores (2008) e Borges *et al.* (2008), esta espécie é uma das mais citadas na literatura pela sua utilização popular para o tratamento desta doença em todo o Brasil. Oliveira *et al.* (2005) demonstraram que o extrato aquoso da carqueja apresenta ação hipoglicemiante em camundongos Swiss diabéticos. Assim como, um estudo recente realizado pelo nosso grupo comprovou que o óleo essencial de carqueja possui potencial efeito hipoglicemiante em ratos diabéticos (dados não publicados).

Foi possível notar nos nossos resultados, que o óleo essencial de carqueja reduziu significativamente a glicemia dos camundongos no grupo HC+OBt. Observamos também uma redução na glicemia dos animais que ingeriram ração comum e foram tratados com o óleo essencial de carqueja (Obt), porém não significativo.

Kothari e colaboradores (2017), mostrou que a DHC apresenta efeitos nos transportadores neuronais de glicose no cérebro. Eles observaram na membrana plasmática, uma diminuição na concentração de GLUT1 (que diminuiu 46,7%) e GLUT3 (diminuiu 40,81%) em lisados cerebrais de ratos alimentados com DHC (em comparação com os controles). Estes dados indicam a diminuição da absorção de glicose no cérebro após a dieta. A sinalização de insulina pode induzir tanto a expressão como a translocação de transportadores de glicose para a membrana plasmática. Esses resultados estariam de acordo com estudos publicados

anteriormente sobre os cérebros de pacientes que foram diagnosticados com DA e diabetes. Já Busquets e colaboradores (2017), detectaram a presença de deposições de peptídeos β -amiloides no grupo experimental tratado com dieta hipercalórica, comparado aos controles.

Segundo Cordner e Tamashiro (2015), a maioria esmagadora em mais de 40 estudos em roedores, descobriu que o consumo de DHC prejudica o desempenho dependente do hipocampo no Teste aquático de Morris. Esta associação foi descrita em vários modelos com camundongos e ratos que foram expostos a uma DHC entre 1 mês e 8 meses. Entre as várias dietas usadas nestes experimentos estão porcentagens de gordura que variam de 21% a 60%. Alguns estudos não relataram nenhuma alteração do desempenho no LAM, após o consumo de dieta hipercalórica, como por exemplo, Woodie e Blythe (2017).

Está bem estabelecido que ocorre um declínio na performance no LAM com o aumento da idade dos animais. Pelo menos parte deste declínio está ligado a mudanças da idade na habilidade aquática, de locomoção e exploração. Além disso, animais idosos, assim como humanos, demonstram alterações na cognição em diversas tarefas, e tem se descoberto que isso coincide com mudanças estruturais e fisiológicas em regiões cerebrais envolvidas nessas funções (D'HOOGE; DE DEYN, 2001). No presente estudo, pode-se observar que aos 6 meses de idade os animais aprenderam a localização da plataforma, visto que o percentual de tempo no quadrante de interesse é significativamente maior em T5 em relação a T1. Ao analisarmos a latência para o encontro da plataforma, nota-se uma redução da cognição dos animais à medida que envelheciam nos grupos Controle e OBt (11 meses) como esperado. Talvez não tenha sido observada uma piora dos 11 para 12 meses no grupo Controle em função do curto espaço de tempo entre as últimas baterias.

Os grupos HC e HC+OBt após a inserção da dieta hipercalórica (11 meses), surpreendentemente apresentaram um desempenho similar aos 6 meses de idade na latência para encontro da plataforma, demonstrando que a dieta hipercalórica ocasionou uma melhora na cognição. Tanto no grupo HC quanto HC+OBt, aos 11 meses, é possível observar um percentual de tempo em Q1 maior em T5. Esses

resultados são opostos aos achados anteriores que demonstraram o desempenho prejudicado de animais submetidos a uma tarefa de aprendizagem espacial, tendo somente Pini *et al.* (2016) encontrado algo semelhante aos nossos resultados.

A indução de dano cognitivo através da dieta hipercalórica não apresenta um protocolo, sendo observados resultados com o uso de rações que apresentam diferentes porcentagens de gordura, ingredientes e com tratamentos variados de tempo. Isso nos leva a duas hipóteses possivelmente complementares. A primeira é de que apesar da constatação de tolerância a glicose, o tempo de tratamento com a ração de cafeteria utilizada pelo nosso grupo não foi o suficiente para induzir danos no aprendizado. De acordo com Hatzidis e colaboradores (2017), a duração da dieta hipercalórica é fundamental para que os sintomas de DM2 em camundongos C57BL/6 não sejam revertidos com a mudança da dieta HC para a dieta regular.

Pini e colaboradores (2016), constatou que os animais tratados com dietas hipercalóricas e de cafeteria apresentaram níveis menores de ansiedade no teste de EPM. De acordo com alguns autores, o estresse pode dificultar os processos de aprendizagem e de memória. Portanto, sugeriu-se que o melhor desempenho apresentado pelos animais tratados na tarefa de aprendizagem e memória no LAM pode estar relacionado à menor ansiedade observada nesses animais.

Logo, a segunda hipótese é que a dieta de cafeteria (chocolate e amendoim) é rica em triptofano, um aminoácido precursor direto da serotonina. Provavelmente, essa dieta facilitou a quantidade de serotonina disponível. A serotonina (5-HT) está relacionada com o humor dos animais, geralmente ajuda a diminuir os níveis de estresse, mas também está relacionado aos processos de aprendizagem e memória (IZQUIERDO, 2011 *apud* PINI *et al.*, 2016). Glikmann-johnston *et al.* (2015) relataram que modificações farmacológicas nas concentrações de 5-HT, tanto por recaptação quanto por liberação, interferem no funcionamento da memória espacial, sendo que o aumento da concentração extracelular de 5-HT mantém ou melhora o desempenho enquanto a diminuição torna-se prejudicial a memória espacial. Miri *et al.* (2017) mostrou que a ingestão de L-triptofano durante 21 dias, por um modelo experimental de DA, apresentou melhora significativa na memória espacial dos animais no LAM.

Quando observamos os camundongos as 12 meses, após a administração do óleo essencial de carqueja, verificamos que o grupo HC+OBt apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) na capacidade de memorização/aprendizado quando observamos a latência, sendo também possível observar uma piora no grupo OBt. Além disso, houve uma diminuição no percentual de tempo gasto dos animais no quadrante Q1 nos grupos OBt e HC+OBt entre os 11 e 12 meses. Desta forma, fica claro que o OBt não favorece um aumento na cognição, mas, observando o comportamento dos animais é possível que o OBt tenha alguma ação ansiolítica/sedativa. No entanto, outros testes são necessários para que essa hipótese possa ser avaliada.

6 CONCLUSÃO

Após a dieta com cafeteria hipercalórica, verificamos a elevação da glicemia nos grupos tratados e constatamos a resistência insulínica nos camundongos C57BL/6 medida através do teste oral de tolerância a glicose. Com a introdução do óleo de carqueja, foi possível observar que ele é capaz de provocar uma melhora significativa nos níveis glicêmicos dos animais tratados com dieta hipercalórica e Obt.

Apesar do óleo não provocar alterações nos níveis de colesterol total e triglicerídeos após o tratamento, ele apresentou um efeito emagrecedor promovendo uma leve redução no peso do grupo Obt, e uma redução significativa no HC+Obt.

Quanto a capacidade de aprendizagem e memória dos camundongos C57BL/6 através do teste do Labirinto aquático de Morris observamos um declínio cognitivo esperado nos grupos Controle e Obt devido ao envelhecimento, e ainda que o resultado dos grupos tratados com a dieta de cafeteria não tenha sido o esperado, este resultado não influenciou na averiguação de que o óleo essencial de carqueja não apresenta benefícios para a memória.

7 REFERÊNCIAS

ABRAZ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALZHEIMER. **O que é Alzheimer**. [2017]. Disponível em: <<http://abraz.org.br/sobre-alzheimer/o-que-e-alzheimer>>. Acesso em: 20 set. 2017.

AKTER, K. et al. Diabetes mellitus and Alzheimer's disease: Shared pathology and treatment? **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 71, n. 3, p. 365–376, 2010.

ARSA, G. et al. Diabetes Mellitus tipo 2: Aspectos fisiológicos , genéticos e formas de exercício físico para seu controle. **Revista Brasileira de Cineantropom de Desempenho Humano**, v. 11, n. 1, p. 103–111, 2009.

AZAMBUJA, W. **Óleos essenciais**. [2017]. Disponível em: <<http://www.oleosessenciais.org/quimica-dos-oleos-essenciais-e-numero-cas/>> Acesso em: 7 out. 2017.

BETONI, J. et al. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on Staphylococcus aureus diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 4, p. 387–390, 2006.

BIONDO, T. M. A. et al. Antisecretory actions of Baccharis trimera (Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: Analysis of underlying mechanisms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 2, p. 368–373, 2011.

BONADONNA, R. C. et al. Obesity and insulin resistance in humans: A dose-response study. **Metabolism**, v. 39, n. 5, p. 452–459, 1990.

BORGES, K. B.; BAUTISTA, H. B.; GUILERA, S. Diabetes – Utilização De Plantas Medicinais Como Forma Opcional De Tratamento Diabetes -Utilization of Medicinal Plants As an Optional Form of Treatment. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.1, n. 2, p. 12–20, 2008.

BOURA-HALFON, S.; ZICK, Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. **AJP: Endocrinology and Metabolism**, v. 296, n. 4, p. E581–E591, 2009.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Traditional uses of American plant species from the 1st edition of Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 478–487, 2009.

BRUNDEL, M.; KAPPELLE, L. J.; BIESELS, G. J. Brain imaging in type 2 diabetes. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 12, p. 1967–1981, dez. 2014.

BUDEL, J. M. **Estudo farmacognóstico de espécies de carqueja: Baccharis dracunculifolia DC., B. articulata (Lam.) Pers., B. cylindrica (Less.) DC. e B. gaudichaudiana DC., ASTERACEAE**. Universidade Federal do Paraná, 2003.

BUSQUETS, O. et al. Long-term exposition to a high fat diet favors the appearance of β -amyloid depositions in the brain of C57BL/6J mice. A potential model of sporadic Alzheimer's disease. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 162, p. 38–45, 2017.

CANESCHI, C. A. **Potencial Antifúngico do óleo essencial de Baccharis trimera Less (D.C)**. Universidade Federal de Juiz de Fora, 2013.

CASTRO, S. H. DE; MATO, H. J. DE; GOMES, M. DE B. Parâmetros antropométricos e síndrome metabólica em diabetes tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 3, p. 450–455, 2006.

CECÍLIO, A. B. et al. Vegetal species indicated to use in diabetes treatment. v. V, n. 3, p. 23–27, 2008.

CHEKE, L. G. et al. Obesity and insulin resistance are associated with reduced activity in core memory regions of the brain. **Neuropsychologia**, v. 96, n. January, p. 137–149, 2017.

CHU, D. et al. C57BL/6J mice as a polygenic developmental model of diet-induced obesity. **Physiological Reports**, v. 5, n. 7, p. e13093, 2017.

CORDNER, Z. A.; TAMASHIRO, K. L. K. Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. **Physiology and Behavior**, v. 152, p. 363–371, 2015.

CORTEZ, L. E. R.; JACOMOSSI, E.; CORTEZ, D. A. G. Levantamento das plantas medicinais utilizadas na medicina popular de Umuarama, PR. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar.**, v. 3, n. (2), p. 97–104, 1999.

CRAFT, S.; CHOLERTON, B.; BAKER, L. D. Insulin and Alzheimer's Disease: Untangling the Web. **Journal of Alzheimer's Disease**, p. 1–13, 2012.

CREEGAN, R. et al. Diet, nutrients and metabolism: cogs in the wheel driving Alzheimer's disease pathology? **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 10, p. 1–19, 2015.

D'HOOGE, R.; DE DEYN, P. P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. v. 36

DE FELICE, F. G. Alzheimer's disease and insulin resistance: translating basic science into clinical applications. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 2, p. 531–539, 2013.

DE FELICE, F. G.; BENEDICT, C. A key role of insulin receptors in memory. **Diabetes**, v. 64, n. 11, p. 3653–3655, 2015.

DE FELICE, F. G.; LOURENCO, M. V.; FERREIRA, S. T. How does brain insulin resistance develop in Alzheimer's disease? **Alzheimer's and Dementia**, v. 10, n. 1 SUPPL., p. S26–S32, 2014.

DE LA MONTE, S. M.; WANDS, J. R. Alzheimer's Disease Is Type 3 Diabetes- Evidence Reviewed. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 22, n. 6, p. 1101–1113, 2008.

DE OLIVEIRA, C. B. et al. Phenolic enriched extract of *Baccharis trimera* presents anti-inflammatory and antioxidant activities. **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 1113–1123, 2012a.

DE OLIVEIRA, R. N. et al. *Schistosoma mansoni*: In vitro schistosomicidal activity of essential oil of *Baccharis trimera* (less) DC. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 2, p. 135–143, 2012b.

DE OLIVEIRA, R. N. et al. Anthelmintic activity in vitro and in vivo of *Baccharis trimera* (Less) DC against immature and adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Experimental Parasitology**, v. 139, n. 1, p. 63–72, 2014.

DE REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 36, n. 3, p. 282–288, 2002.

DIAS, L. F. T. et al. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 309–314, 2009.

ELIAS, M. F.; GOODELL, A. L.; WALDSTEIN, S. R. Obesity, cognitive functioning and dementia: Back to the future. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 30, n. SUPPL.2, p. S113–S125, 2012.

FARR, S. A. et al. Obesity and hypertriglyceridemia produce cognitive impairment. **Endocrinology**, v. 149, n. 5, p. 2628–2636, 2008.

FEIJÓ, A.M.; BUENO, M.E.N.; CEOLIN, T.; LINCK, C.L.; SCHWARTZ, E.; LANGE, C.; MEINCKE, S.M.K.; HECK, R.M.; BARBIERI, R.L.; HEIDEN, G. Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. **Rev. Bras. Pl. Med.**, 14(1): 50-56, 2012.

FERREIRA, T. M. et al. Estudo experimental para análise da ação hepatoprotetora de *baccharis trimera*. **Livro de resumos/XVI Salão de Iniciação Científica e XIII Feira de Iniciação Científica da UFRGS**. Porto Alegre .UFRGS, p. 123, 2004.

FERREIRA, V. A.; CAMPOS, S. Avanços farmacológicos no tratamento do diabetes tipo 2. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 8, n. 3, p. 72–78, 2014.

FIGUEIREDO, A. P.; PEREIRA, R. DE S. Estudo dos efeitos de cápsulas de carqueja (*baccharis trimera* (less) d.c.), sobre o metabolismo lipídico de pacientes em processo de emagrecimento. **Conexão Ciência (Online)**, v. 4, n. 1, p. 29–43, 2011.

FOLEY, P. Lipids in Alzheimer's disease: A century-old story. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1801, n. 8, p. 750–753, 2010.

GAMBERINI, M. T. et al. Inhibition of gastric secretion by a water extract from *Baccharis triptera* Mart. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1991.

GENÉ, R. M. et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. **Planta Medica**, v. 62, p. 232–235, 1996.

GIVAUDAN CORP. YVES-RENE, N.; FERNAND, C.. **Therapeutic d-orthomenthatriene 1 (7), 5, 8-ol-3**. US3112245 A, 26 nov. 1963

GLIKMANN-JOHNSTON, Y. et al. Hippocampal 5-HT_{1A} Receptor and Spatial Learning and Memory. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, n. JAN, p. 1–10, 2015.

GOMES, A. et al. Chemical characterization of a commercial essential oil of carqueja (*Baccharis trimera*). v. 1, p. 480, 2017.

GÓMEZ, M. A. et al. Vasorelaxant Effect of a *Baccharis trimera* Infusion on Precontracted Rat Aortic Rings. **Natural product communications**, v. 11, n. 0, p. 1–4, 2016.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. **Annual Review of Immunology**, v. 29, n. 1, p. 415–445, 2011.

GROSS, J.L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J.L.; REICHEL, A.J.; AZEVEDO, M. J. Diabetes Mellito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 1, p. 16–26, 2002.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 2, p. 270–299, 2010.

HATTORI, E. K. O.; NAKAJIMA, J. N. A família Asteraceae na estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiros, Perdizes, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 59, n. 4, p. 687–749, 2008.

HATZIDIS, A. et al. Removal of a high-fat diet, but not voluntary exercise, reverses obesity and diabetic-like symptoms in male C57Bl/6J mice. **Hormones**, v. 16, n. 1, p. 62–74, 2017.

HEIDEN, G. **Systematics of Baccharis (Asteraceae : Astereae)**. Universidade de São Paulo, 2014.

INSTITUTO DE CIENCIA E TECNOLOGIA EM BIOMODELOS. C57BL/6J (Inbred), [2017]. Disponível em: <<https://www.ictb.fiocruz.br/content/c57bl6j-inbred>>. Acesso em: 30 out. 2017.

KARAM, T. K. et al. Carqueja (*Baccharis trimera*): Utilização terapêutica e biossíntese. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 280–286,

2013.

KASPER, J. M. et al. Cognitive deficits associated with a high-fat diet and insulin resistance are potentiated by overexpression of ecto-nucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase-1. **International Journal of Developmental Neuroscience**, mar. 2017.

KOTHARI, V. et al. High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 2, p. 499–508, 2017.

KULLMANN, S. et al. Brain Insulin Resistance at the Crossroads of Metabolic and Cognitive Disorders in Humans. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 4, p. 1169–1209, 2016.

LEE, Y. S. et al. Inflammation is necessary for long-term but not short-term high-fat diet-induced insulin resistance. **Diabetes**, v. 60, n. 10, p. 2474–2483, 2011.

LIM, W. L. F.; MARTINS, I. J.; MARTINS, R. N. The involvement of lipids in alzheimer's disease. **Journal of Genetics and Genomics**, v. 41, n. 5, p. 261–274, 2014.

LÍVERO, F. A. et al. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* promotes gastroprotection and healing of acute and chronic gastric ulcers induced by ethanol and acetic acid. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 389, n. 9, p. 1–14, 2016.

LOSQUI, Y. R. et al. Atividade de *Baccharis trimera* (Less.) DC., (Asteraceae) sobre cultura de células in vitro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 931–936, 2009.

LUCHSINGER, J. et al. Hyperinsulinemia and risk of Alzheimer disease. **Neurology**, v. 63, n. October (1 of 2), p. 1187–1192, 2004.

LUCHSINGER, J. A; MAYEUX, R. Dietary factors and Alzheimer's disease. **The Lancet Neurology**, v. 3, n. October, p. 579–587, 2004.

MARINO, J.; XU, Y.; HILL, J. Central insulin and leptin-mediated autonomic control of glucose. **Trends Endocrinol Metab.**, v. 22, n. 7, p. 275–285, 2011.

MATSUZAWA, Y.; FUNAHASHI, T.; NAKAMURA, T. The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism. **Journal of atherosclerosis and thrombosis**, v. 18, n. 8, p. 629–639, 2011.

MENEILLY, G.; TESSIER, D. Diabetes, dementia and hypoglycemia. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 67, p. 1–4, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos – PPNPMF, [2017]. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas->

medicinais-e-fitoterapicos-ppnmpf/politica-e-programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos/plantas-medicinais-de-interesse-ao-sus-renisus> Acesso em: 24 out. 2017.

MIRI, A. L. et al. Estudo Do L-Triptofano Na Depressão Ocorrida Pela Doença De Alzheimer Em Modelos Experimentais. **Journal of Physical Education**, v. 28, n. 1, p. 1–8, 2017.

MORAES, K.; CERQUEIRA, F. PLANTAS MEDICINAIS: o uso popular e a identificação botânica. **PÓS EM REVISTA**, p. 242–245, 2006.

NAKASUGI, T.; KOMAI, K. Antimutagens in the Brazilian Folk Medicinal Plant Carqueja (*Baccharis trimera* Less.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2560–2564, 1998.

NAMENI, G. et al. Insulin Deficiency: A Possible Link between Obesity and Cognitive Function. **International Journal of Developmental Neuroscience**, 2017.

NASCIMENTO, N. N. DO. **Avaliação dos efeitos do extrato de baccharis trimera (carqueja) sobre parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em modelo de diabetes melito tipo 1 induzido avaliação dos efeitos do extrato de baccharis trimera (carqueja) sobre parâmetros metabó.** Universidade Federal de Ouro Preto, 2013.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 121–142, 2005.

OLIVEIRA, A. C. P. et al. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, n. 3, p. 465–469, 2005.

OTT, A. et al. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. **Neurology**, v. 53, n. 9, p. 1937–1937, 1999.

PADUA, B. C. et al. *Baccharis trimera* Improves the Antioxidant Defense System and Inhibits iNOS and NADPH Oxidase Expression in a Rat Model of Inflammation. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 14, n. 11, p. 975–984, 2014.

PAIVA, F. et al. Carqueja (*Baccharis trimera*) Protects against oxidative stress and beta-amyloid-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–15, 2015.

PARK, S. et al. Effect of high fat diet on insulin resistance: dietary fat versus visceral fat mass. **Journal of Korean medical science**, v. 16, n. 4, p. 386–90, 2001.

PINI, R. T. B. et al. Effects of cafeteria diet and high fat diet intake on anxiety, learning and memory in adult male rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 8305, n. March, p. 1–13, 2016.

PLANTAS E ERVAS MEDICINAIS. *Baccharis trimera* (Less.) DC. - CARQUEJA. [2017]. Disponível em: <http://www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/Baccharis_trimera.htm>. Acesso em: 12 ago. 2017.

PORTAL DA SAÚDE. **Plantas de Interesse ao SUS. Maio.** 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/oministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/465-sctie-raiz/daf-raiz/ceaf-sctie/fitoterapicos-cgafb/l1-fitoterapicos/12552-plantas-de-interesse-ao-sus>>. Acesso em: 24 out. 2017.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 57–69, 2001.

REIS, A. F.; VELHO, G. Bases Genéticas do Diabetes Mellitus Tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 4, p. 426–432, 2002.

ROCHA, F. D. et al. Diabetes mellitus e estresse oxidativo : produtos naturais como alvo de novos modelos terapêuticos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 87, n. 2, p. 49–54, 2006.

SALAMEH, T. S. et al. Insulin resistance, dyslipidemia, and apolipoprotein E interactions as mechanisms in cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Experimental Biology and Medicine**, v. 0, p. 1–8, 2016.

SATO, T. et al. Efficacy of PPAR-gama agonist pioglitazone in mild Alzheimer disease. **Neurobiology of Aging**, v. 32, n. 9, p. 1626–1633, 2011.

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. 1–4, p. 23–32, 2005.

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia - da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/UFRGS / UFSC, 2001

SINITOX. SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO-FARMACOLÓGICAS. Dados de intoxicação. **Casos Registrados de Intoxicação Humana por Agente Tóxico e Circunstância. Brasil, 2014**. Disponível em: <<https://sinitox.icict.fiocruz.br/dados-nacionais>> Acesso em 30 jul. 2017.

SOBESKY, J. L. et al. High-fat diet consumption disrupts memory and primes elevations in hippocampal IL-1 β , an effect that can be prevented with dietary reversal or IL-1 receptor antagonism. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 42, p. 22–32, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **O Que é Diabetes?** [2017] Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/publico/diabetes/oque-e-diabetes>> Acesso em: 20 set. 2017.

SOICKE, H.; LENG-PESCHLOW, E. Characterisation of Flavonoids from *Baccharis trimera* and their Antihepatotoxic Properties. **Planta Medica**, v. 53, n. 1, p. 37–39,

1987.

SOUZA, S. DE; PEREIRA, L.; SOUZA, A. Estudo da atividade antiobesidade do extrato metanólico de *Baccharis trimera* (Less.) DC. **Rev. Bras.**, v. 93, n. 1, p. 27–32, 2012.

TERRA, A. M. et al. INDUCTION OF TYPE 2 DIABETES IN RATS BY IN-HOUSE PREPARED HIGH-FAT DIET AND LOW STREPTOZOTOCIN DOSE. p. 92, 2017.

TORRES, L. M. B. et al. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth muscle. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 617–619, 2000.

UMEGAKI, H. et al. The Associations among Insulin Resistance, Hyperglycemia, Physical Performance, Diabetes Mellitus, and Cognitive Function in Relatively Healthy Older Adults with Subtle Cognitive Dysfunction. v. 9, n. March, p. 1–8, 2017.

UNDERWOOD, E. L.; THOMPSON, L. T. A high-fat diet causes impairment in hippocampal memory and sex-dependent alterations in peripheral metabolism. **Neural Plasticity**, v. 2016, 2016a.

UNDERWOOD, E. L.; THOMPSON, L. T. High-fat diet impairs spatial memory and hippocampal intrinsic excitability and sex-dependently alters circulating insulin and hippocampal insulin sensitivity. **Biology of sex differences**, v. 7, n. 1, p. 9, 2016b.

URAYAMA, A.; BANKS, W. A. Starvation and triglycerides reverse the obesity-induced impairment of insulin transport at the blood-brain barrier. **Endocrinology**, v. 149, n. 7, p. 3592–3597, 2008.

WOODIE, L.; BLYTHE, S. The differential effects of high-fat and highfructose diets on physiology and behavior in male rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dementia: a public health priority. **Dementia**, p. 7, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global reports on Diabetes. p.6, 2016.

YEN, H. W. et al. Effects of pre-germinated brown rice treatment high-fat diet-induced metabolic syndrome in C57BL/6J mice. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 81, n. 5, p. 979–986, 2017.

ZHAO, W. Q.; ALKON, D. L. Role of insulin and insulin receptor in learning and memory. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 177, n. 1–2, p. 125–134, 2001.