

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

***EFEITOS BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS DA ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO
AQUOSO DE *baccharis trimera* EM RATOS SUBMETIDOS A PROTOCOLO DE
INDUÇÃO DIETÉTICA DE ESTEATOSE HEPÁTICA***

LÍVIA MARIA NUNES SILVA

MACEIÓ-2015

LÍVIA MARIA NUNES SILVA

***EFEITOS BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS DA ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO
AQUOSO DE *baccharis trimera* EM RATOS SUBMETIDOS A PROTOCOLO DE
INDUÇÃO DIETÉTICA DE ESTEATOSE HEPÁTICA***

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: **Profa. Dra. Terezinha da Rocha Ataíde**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientadora: **Profa. Dra. Suzana Lima de Oliveira**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-2015

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

S586e Silva, Livia Maria Nunes.
Efeitos bioquímicos e histológicos da administração do extrato aquoso de *Baccharis trimera* em ratos submetidos a protocolo de indução dietética de esteatose hepática / Livia Maria Nunes Silva. – 2015.
47 f. : il.

Orientadora: Terezinha da Rocha Ataíde.
Coorientadora: Suzana Lima de Oliveira.
Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.
Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Esteatose hepática - Dietas. 2. *Baccharis trimera* - Uso. 3. Fitoterapia.
4. Carqueja – Plantas medicinais. I. Título.

CDU: 612.39



**MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões
BR 104, km 14, Tabuleiro do Martins, Maceió-AL, 57072-970
Fone/fax: 82 3214-1160

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

**“EFEITOS BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS DA ADMINISTRAÇÃO DO
EXTRATO AQUOSO DE *Baccharis trimera* EM RATOS SUBMETIDOS A
PROTOCOLO DE INDUÇÃO DIETÉTICA DE ESTEATOSE HEPÁTICA”**

por

Livia Maria Nunes Silva

A Banca Examinadora, reunida aos 29 dias do mês de abril do ano de 2015,
considera a candidata APROVADA.

Prof. Dra. Terezinha da Rocha Ataíde
Faculdade de Nutrição/ Universidade Federal de Alagoas
(Orientadora)

Prof. Dra. Glaucevane da Silva Guedes
Faculdade de Nutrição/ Universidade Federal de Alagoas
(Examinadora)

Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo
Faculdade de Enfermagem e Farmácia/ Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento
Faculdade de Enfermagem e Farmácia/ Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dra. Gabriela Muniz de Albuquerque Melo
Faculdade Maurício de Nassau
(Examinadora)

AGRADECIMENTOS

Eu agradeço sobremaneira a Deus e a minha família pelo estímulo e apoio, em especial ao meu amado esposo Dowell, pela paciência e apoio, permitindo minha permanência distante de casa durante esses dois anos de curso e especialmente por me conceder essa graça maravilhosa que será o nosso bebê; meus pais, bens mais que preciosos, que são meu porto seguro, sempre me protegendo e me estimulando positivamente em todos os momentos; meu irmão Leandro que é um pedaço de mim e que torce por minhas conquistas como se fossem dele e minha cunhada Karla que além de companheira de todas as horas, foi uma das principais responsáveis pelo meu egresso na minha vida acadêmica e profissional e nos deu nosso tesourinho que nos faz tão felizes a cada palavra e ação, a minha querida sobrinha Larissinha!

Agradeço também ao apoio da minha orientadora professora Terezinha e co-orientadora, professora Suzana pela confiança, paciência e colaboração em todo o processo de confecção do trabalho e à banca avaliadora pela aceitação do convite.

Aos professores parceiros que colaboraram cedendo seus laboratórios como o professor Luciano Grillo, a professora Cristina Delgado, o professor Euzébio e a professora Letícia pela identificação botânica.

Aos meus colegas de trabalho e meus colegas e amigos que ajudaram diretamente na prospecção dos experimentos e pelo apoio durante todo o processo como Airta, Wanessa, Eudes, Neto, Ferlany, Max, Carol, Glauber, Nassib, Zeca.

RESUMO

A doença hepática gordurosa não alcoólica é caracterizada por uma gama de disfunções, que podem levar a alterações morfológicas e funcionais nos hepatócitos, variando desde esteatose até esteato-hepatite, podendo evoluir para cirrose e hepatocarcinoma. A patogenia da doença envolve um desequilíbrio entre a produção e a degradação e/ou a exportação de triglicerídios. O diagnóstico é realizado através de métodos de imagem, exames bioquímicos e biópsia hepática, que é considerada o padrão-ouro. O tratamento geralmente envolve a terapêutica de comorbidades, através de estratégias e medicamentos para perda de peso, hipolipidemiantes e sensibilizadores da insulina, além de terapias alternativas, como a fitoterapia, um recurso de fácil acesso e baixo custo, caracterizado pelo tratamento de afecções através da utilização de substratos naturais de origem botânica. Esta dissertação apresenta dois artigos: uma revisão da literatura a respeito do uso de fitoterápicos na doença hepática gordurosa não alcoólica e um segundo artigo, que objetivou analisar os efeitos bioquímicos e histológicos da administração do extrato aquoso de *baccharis trimera* (carqueja), em ratos submetidos a protocolo de indução dietética de esteatose hepática. Este último, refere-se a um estudo experimental com duração de 30 dias, com 30 ratos *Wistar*, divididos em quatro grupos, o grupo LAB, que recebeu dieta comercial e administração oral de solução salina, o grupo AIN, que recebeu dieta indutora de esteatose hepática e administração de solução salina, o grupo CARQMIN, que recebeu a dieta indutora e o extrato da *baccharis trimera* em sua menor dose (3 mg/dia) e o grupo CARQMAX, que recebeu a dieta indutora e o extrato aquoso da *baccharis trimera* em sua maior dose (6 mg/dia). O ganho de peso e o consumo alimentar foram registrados durante todo período experimental, para o cálculo do coeficiente de eficiência alimentar (CEA). Foram realizadas análises fitoquímicas qualitativas do extrato aquoso da *baccharis trimera* e determinações bioquímicas séricas de glicose, lipídios e provas de função e lesão hepática, e análise histológica do tecido hepático, para observação da presença e do grau de esteatose. O CEA aumentou em todos os grupos que receberam a dieta AIN. Observou-se um aumento significativo nos valores de triglicerídios e da fração VLDL nos animais dos grupos tratados com a carqueja, quando comparados aos animais do grupo LAB. Para o colesterol total e o HDL, observou-se uma tendência de elevação nos animais tratados com a carqueja, especialmente em sua maior dose. Curiosamente, o grupo AIN apresentou valores de AST inferiores aos dos demais grupos, e de ALT menores que os do grupo LAB. Embora não tenha havido diferença entre os grupos nem no número de casos de esteatose hepática ($P=0,06$), nem em seu estadiamento, o resíduo ajustado da frequência de ausência de esteatose para o grupo LAB foi de 2,8, indicando que este grupo apresentou uma frequência de ausência de esteatose maior que a do esperado pelo acaso. O uso do extrato aquoso da *baccharis trimera* no presente estudo não preveniu, nem atenuou a esteatose hepática induzida pela dieta; além disso, tal uso promoveu alterações no perfil lipídico sérico dos animais.

Palavras-chave: esteatose hepática. *baccharis trimera*. fitoterapia.

ABSTRACT

Nonalcoholic fatty liver disease is characterized by a range of disorders that can lead to morphological and functional changes in hepatocytes, ranging from steatosis to steatohepatitis, may progress to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The pathogenesis of the disease involves an imbalance between production and degradation and / or export of triglycerides. Diagnosis is made by imaging methods, biochemical tests and liver biopsy, which is considered the gold standard. Treatment usually involves treatment of comorbidities, through strategies and medications for weight loss, lipid-lowering and insulin sensitizers, and alternative therapies such as herbal medicine, easy access feature and low cost, characterized by the treatment of diseases through use of natural substrates of botanical origin. This dissertation presents two articles: a literature review about the use of herbal medicines in non-alcoholic fatty liver disease and a second article, which aimed to analyze the biochemical and histological effects of administration of the aqueous extract of trimera baccharis (gorse), in rats submitted dietary protocol induction of hepatic steatosis. The latter refers to an experimental study over 30 days, with 30 rats were divided into four groups, the LAB group receiving commercial diet and oral administration of saline, the AIN group that received inducing diet hepatic steatosis and saline administration, CARQMIN group, which received the inducing diet and the trimera baccharis extract in its lower dose (3 mg / day) and CARQMAX group, which received the inducing diet and aqueous extract of baccharis trimera in its highest dose (6 mg / day). Weight gain and food consumption were recorded throughout the trial period, to calculate the coefficient of feed efficiency (CEA). Qualitative phytochemical analysis of aqueous extract of trimera baccharis and serum biochemical tests were performed glucose, lipids and function tests and liver damage, and histological analysis of the liver tissue, to observe the presence and degree of steatosis. CEA increased in all groups that received the diet AIN. There was a significant increase in triglyceride values and VLDL fraction in animal groups treated with the gorse, when compared to the animals of the LAB group. For total and HDL cholesterol, there was a trend towards increase in the animals treated with the coot, especially in their highest dose. Interestingly, the AIN group had AST values lower than those of other groups, and lower ALT that the LAB group. Although there was no difference between groups or the number of cases of hepatic steatosis ($P = 0.06$), nor in its staging, the set residue frequency of absence of steatosis to the LAB group was 2.8, indicating that This group showed a frequency of no steatosis greater than expected by chance. The use of aqueous extract of trimera baccharis in this study did not prevent or attenuated hepatic steatosis induced by diet; Furthermore, such use made changes in serum lipid profiles of the animals

Key Words: hepatic steatosis. *baccharis trimera*. herbal medicine.

LISTA DE ABREVIATURAS

- AIN** - *American Institute of Nutrition* (Instituto Americano de Nutrição)
- ALT**- *alanine aminotransferase* (alanina aminotransferase)
- ALP**- *alkaline phosphatase* (fosfatase alcalina)
- AST**- *aspartate aminotransferase* (aspartatoaminotransferase)
- ANOVA** - análise de variância
- BIOCEN** – biotério central
- CEA** - coeficiente de eficiência alimentar
- CEUA/UFAL** - Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFAL
- CG/EM** - cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
- CHCl₃** - triclorometano
- DHGNA** - doença hepática gordurosa não alcoólica
- FANUT/UFAL**- Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas
- FeCl₃** - cloreto férrico
- GGT**- gama-glutamyltransferase
- HDL**- *high density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade)
- HCl** - ácido clorídrico
- HUPAA**- hospital universitário professor Alberto Antunes
- ICBS/UFAL** - Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas
- IMC** - índice de massa corpórea
- IR** - índice de retenção
- LDL** - *low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade)
- NaOH** - hidróxido de sódio
- Na₂SO₄** - sulfato de sódio
- VLDL** - *very low density lipoprotein* (lipoproteína de muito baixa densidade)
- OMS** - Organização Mundial de Saúde
- RENISUS** - relação nacional de plantas medicinais de interesse do Sistema Único de Saúde
- TNF- α** - *tumor necrosis factor alpha* (fator alfa de necrose tumoral)

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO GERAL	8
2 COLETÂNEA DE ARTIGOS	11
2.1 Capítulo de revisão: A utilização da fitoterapia na doença hepática gordurosa não alcoólica.....	12
2.2 Artigo de resultados: Efeitos bioquímicos e histológicos da administração do extrato aquoso de <i>baccharis trimera</i> em ratos submetidos a protocolo de indução dietética de esteatose hepática.....	22
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada por alterações histológicas e funcionais nos hepatócitos, abrangendo desde a esteatose hepática, que ocorre quando o acúmulo de lipídios no tecido hepático excede 5% a 10% do peso do fígado, até a esteato-hepatite, com inflamação hepatocitária e fibrose, podendo evoluir para cirrose hepática até hepatocarcinoma (BRAUNERSREUTHER et al., 2012; FARRELL et al., 2012; SOUZA et al., 2012; WILLIAMSON et al., 2011).

A importância da DHGNA tem crescido nos últimos anos pela sua prevalência, atingindo 20% a 30% da população em países ocidentais, principalmente em consequência da obesidade, sedentarismo e alimentação rica em calorias (BARŠIĆ et al., 2012; BORGES, 2010).

A DHGNA é considerada o componente hepático da síndrome metabólica, que é caracterizada por anormalidades como obesidade, resistência à insulina, dislipidemia e risco elevado para doenças cardiovasculares (CHAVES et al., 2012; FARRELL et al., 2012; KARNIKOWSKI et al., 2007; MAZO et al., 2011).

A patogênese da doença é multifatorial e ainda não está completamente elucidada, porém, estudos demonstram que o aumento do conteúdo intracelular de triglicerídios ocorre devido ao desequilíbrio entre a produção e a exportação desses lipídios. O aumento da oferta ou da síntese endógena de ácidos graxos pode levar ao acúmulo de triglicerídios nos hepatócitos se a beta-oxidação mitocondrial e a produção e secreção de VLDL forem insuficientes; este acúmulo pode atingir níveis elevados, gerando estresse oxidativo, com formação de radicais livres, ocasionando dano mitocondrial. A peroxidação lipídica resultará em dano hepático direto, podendo provocar o agravamento da doença (FARRELL et al., 2012; LAM, 2009; MAZO et al., 2011; SOLER et al., 2008; SOUZA et al., 2012; YOUNOSSI, 2009).

O diagnóstico da DHGNA requer exclusão de outras doenças como, por exemplo, as hepatites virais e alcoólicas, e a utilização de medicamentos com efeitos hepatotóxicos. Os métodos diagnósticos mais utilizados na atualidade incluem os de imagem, como ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética, exames bioquímicos, como determinação de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), gama-

glutamyltransferase (GGT), além de biópsia hepática, que ainda é considerada padrão-ouro e o único exame que avalia e classifica o estadiamento da doença (BARŠIĆ et al., 2012; PINTO, 2006; RAMOS, 2011).

Dada à etiologia multifatorial da DHGNA, não existe um tratamento padrão exclusivo. As modalidades de tratamento mais aceitas são perda de peso gradual, através de mudanças dietéticas, prática de atividade física regular e medicamentos para perda de peso, uso de sensibilizadores da insulina, agentes antioxidantes e citoprotetores (FILIPPATOS e ELISAF, 2010; HARRISON et al., 2009; PINTO, 2006; ROCHA et al., 2007).

Além dessas alternativas, o uso de chás de plantas medicinais é altamente difundido no Brasil, que possui uma imensa diversidade de espécies nativas usadas para os mais variados fins. Porém, há necessidade de estudos que comprovem a eficácia desta modalidade terapêutica, que aparece como uma alternativa, principalmente para a população carente (ROSA, 2011).

Grande parte da população recorre às terapias alternativas para o tratamento de estados patológicos; dentre elas, a fitoterapia assume lugar de destaque. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população mundial recorre à fitoterapia para o tratamento de doenças (NOVAIS et al., 2004). Tal alternativa terapêutica é caracterizada pelo tratamento de afecções através da utilização de substratos naturais de origem botânica. Diversas plantas medicinais têm sido estudadas e utilizadas com o objetivo de redução de peso e atividade hipolipidemiante, principalmente aquelas com ação inibidora de lipases, ou com propriedades termogênicas, ou supressoras do apetite (MANENTI, 2010).

Neste contexto, o presente estudo visa contribuir com a discussão da utilização da fitoterapia como estratégia preventiva e terapêutica na doença do fígado gorduroso não alcoólico, particularmente na esteatose hepática. A dissertação é composta por dois artigos; o primeiro trata-se de uma revisão da literatura, intitulada: *A utilização da fitoterapia na doença hepática gordurosa não alcoólica*, e o segundo artigo, fruto de um trabalho experimental, intitula-se: *Efeitos bioquímicos e histológicos da administração do extrato aquoso de baccharis trimera em ratos submetidos a protocolo de indução dietética de esteatose hepática*.

Capítulo de revisão

A utilização da fitoterapia na doença hepática gordurosa não alcoólica

INTRODUÇÃO

Um fitoterápico é definido como um medicamento utilizado para tratar afecções, obtido através de matéria-prima vegetal ativa, com eficácia e riscos de utilização conhecidos, capaz de ser reproduzido com qualidade constante (BRASIL, 2004). De acordo com Castro et al. (2004), uma planta medicinal pode ser definida como qualquer vegetal que produza substâncias biologicamente ativas utilizadas terapêuticamente ou que deem origem a fármacos semissintéticos.

O uso de plantas como alternativa terapêutica curativa é milenar e considerado importantíssimo para a história, medicina e cultura da humanidade (TOMAZZONI et al., 2006). Os métodos convencionais, como a alopatia, por serem onerosos e por muitas vezes serem mais agressivos ao organismo, estão perdendo espaço para as práticas não convencionais e alternativas, como a fitoterapia (ZHANG, 2000).

A maior utilização de fitoterápicos pela população pode ser explicada pelo incentivo de pesquisas científicas, que permitem maior segurança na utilização e novas descobertas viáveis e pelo fato de a população estar buscando métodos terapêuticos menos agressivos ao organismo. Para orientar de forma segura e adequada o uso de fitoterápicos e plantas medicinais, os profissionais de saúde necessitam de conhecimento prévio, pois os mesmos devem estar atentos à efetividade dos princípios ativos e aos riscos de intoxicação (ALBERTASSE et al., 2010; BRUNING et al., 2012; FORMIGA BEZERRA et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2013).

Apesar de o uso de plantas medicinais ser disseminado na população, sua efetividade em relação às doenças hepáticas crônicas é pouco conhecida e os estudos são escassos. Os estudos com humanos apontam, em sua maioria, para melhorias nos sintomas referidos, sem observar, no entanto, outros indicadores mais precisos, como a histologia hepática e marcadores bioquímicos (STICKEL e SCHUPPAN, 2007).

Assim, novas investigações são necessárias para melhor determinar o uso da fitoterapia nas doenças hepáticas, em especial no que se refere ao tratamento e/ou prevenção da doença hepática gordurosa não alcoólica.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA)

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada por alterações histológicas e funcionais nos hepatócitos, abrangendo desde a esteatose hepática até inflamação e fibrose hepatocitária, podendo evoluir em casos mais graves para cirrose hepática até hepatocarcinoma. É considerada a doença hepática mais prevalente em países ocidentais, acometendo de 20% a 30% da população, e está associada ao estilo de vida adotado na atualidade. Mesmo considerada alta, tal prevalência pode estar ainda subestimada, devido aos difíceis métodos diagnósticos, como a biópsia hepática (BEDOGNI et al., 2005; CHITTURI et al., 2011; FAN e FARREL, 2009; WILLIAMSON et al., 2011; WONG et al., 2012).

A patogenia da DHGNA não está inteiramente elucidada, porém, sugere-se que o acúmulo de triglicerídios, a esteatose hepática, interfere na resposta dos hepatócitos às mudanças nos níveis de insulina, resultando em resistência à insulina, sendo esta considerada a primeira fase da doença. A progressão da doença ocorre quando, junto à esteatose, ocorrer fibrose e necro-inflamação decorrentes do estresse oxidativo, resultante da oxidação mitocondrial de ácidos graxos e da expressão de citocinas inflamatórias (FARESE JR. et al., 2012; SOUZA et al., 2012).

Devido a sua etiologia multifatorial, o tratamento da doença não está bem estabelecido. Entre as modalidades terapêuticas estão incluídas perda de peso gradual, modificações dietéticas e uso de medicamentos, além de terapias alternativas, como a fitoterapia e o uso de plantas medicinais, que merecem destaque, especialmente no Brasil, pelo incentivo do Governo Federal em pesquisas na última década (BRASIL-RENISUS, 2009; FILIPPATOS e ELISAF, 2010; HARRISON et al., 2009; PINTO, 2006; ROCHA et al., 2007).

Fitoterápicos e a DGHNA

Estudos clínicos com fitoterápicos são rotineiramente realizados, especialmente na China, que é pioneira no uso da fitoterapia, onde a prática é bastante difundida e os estudos sobre o tema são amplamente publicados; nesse país, só se recorre à alopatia quando não se encontra um substituto fitoterápico equivalente (SANTOS et al., 2011).

O uso da fitoterapia para o tratamento de doenças hepáticas, em particular, demonstra efeitos positivos como, por exemplo, ação anti-inflamatória e anti-fibrótica (VERMA e THULUVATH, 2007).

Dentre as plantas mais comumente utilizadas no tratamento da DHGNA em estudos clínicos estão *Crataegus pinnatifida*, *Salvia miltiorrhiza*, *orientalis Alisma*, *Bupleurum Chinense*, *Cassia obtusifolia*, *Astragalus membranaceous* e *Rheum palmatum* (LIU et al., 2013).

Pei et al. (2012) avaliaram, em seu estudo com adultos acometidos por esteato-hepatite não alcoólica, o uso do fitoterápico chinês denominado *Qinggan Huatan Huoxue* e observaram melhora em relação ao peso corporal, índice de massa corpórea (IMC), lipidograma, marcadores de lesão hepática e resultados da ultrassonografia hepática. Estudo semelhante foi realizado por Ji et al.(2004), que avaliaram os efeitos da utilização de outro fitoterápico denominado *Qinggan Huoxu* e observaram redução dos níveis sanguíneos de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), de gama-glutamilttransferase (GGT), de triglicerídios e da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), redução dos níveis de marcadores de fibrose hepática e citocinas e melhora no dano oxidativo lipídico hepático.

A partir da utilização da decocção do fitoterápico *Tiaozhi Yanggan* em pacientes portadores de doença hepática gordurosa não alcoólica, foi observada melhora dos sintomas hepáticos, da função do fígado, dos lipídios sanguíneos e dos índices iconográficos (GU et al., 2007). Da mesma maneira, o uso do fitoterápico *Yiqi Sanju* em pacientes igualmente diagnosticados com DHGNA, proporcionou melhora no IMC, na circunferência da cintura e nos indicadores HOMA2 -IR, ALT, AST, TG (LOU et al., 2008).

Estudos experimentais relacionados ao uso de fitoterápicos, especificamente na DHGNA, também são realizados e os resultados encontrados são semelhantes aos estudos clínicos, como no estudo de Chechi et al. (2010), que observaram menor concentração de gordura hepática utilizando óleo de linhaça em ratos portadores de síndrome metabólica.

Wang et al. (2013) observaram redução da adiponectina e do acúmulo de lipídios hepáticos utilizando o extrato de *Artemisia scoparia*, em camundongos com obesidade induzida por dieta. A ingestão da fração rica em triterpenóides da *Ilex hainanensis*, por sua vez, causou efeito antioxidante, anti-inflamatório e melhora da esteatose hepática em ratos *Sprague-Dawley*, que receberam dieta hiperlipídica (CUI et al., 2013). Em contrapartida, no estudo de Kim et al. (2013), utilizando a suplementação com *garcinia combogia*, observou-se redução significativa do acúmulo de gordura visceral, do tamanho dos adipócitos e da intolerância à glicose em ratos com obesidade induzida por dieta rica em gordura, no entanto, também foram observados surgimento de fibrose hepática, processo inflamatório e efeito oxidante.

Nos estudos de Hussein et al. (2011) e Yamabe et al. (2009), utilizando *Ilex paraguariensis* (chá mate) e *matcha* (chá verde), em ratos que receberam dieta hiperlipídica e ratos diabéticos, respectivamente, foi observada redução da ingestão de alimentos e do peso corporal e aumento dos níveis de leptina, assim como da glicemia, dos lipídios sanguíneos e hepáticos e do tecido adiposo.

Metabólitos secundários e a DHGNA

Uma dieta rica em frutas, legumes e verduras pode prevenir diversos tipos de câncer e reduzir o risco de desenvolvimento de enfermidades crônicas não transmissíveis; esses efeitos se devem à combinação de micronutrientes, antioxidantes, fibras e substâncias fitoquímicas presentes nestes alimentos. As substâncias bioativas de tais alimentos apresentam a propriedade de prevenir e/ou atenuar as afecções crônicas não transmissíveis (*World Cancer Research Fund.*, 2007).

As substâncias responsáveis por proporcionar os efeitos encontrados com a utilização de fitoterápicos, segundo Baladrin (1985), são os metabólitos secundários presentes em espécies vegetais. As espécies vegetais são compostas por metabólitos primários, como carboidratos, proteínas e lipídios, e metabólitos secundários, que são produzidos a partir da síntese dos metabólitos primários, como, por exemplo, os compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais e alcalóides. Tais compostos apresentam grande importância, pois atuam na atração de polinizadores, defendem contra o estresse ambiental, além de serem os responsáveis pelos efeitos medicinais ou tóxicos das plantas.

Uma vez que o desenvolvimento e a progressão de doenças hepáticas crônicas estão intimamente ligados ao dano oxidativo dos hepatócitos, os produtos naturais podem, dessa maneira, exercer efeito protetor para o órgão. Dentre os compostos mais encontrados nos vegetais incluem-se os fenólicos, especialmente os flavonóides, que possuem grande atividade biológica, principalmente relacionada às defesas antioxidantes (FERNANDES, 2013).

Os flavonóides são substâncias aromáticas contendo 15 átomos de carbono (C15) no seu esqueleto básico e, conforme seu estado de oxidação, apresentam-se como diferentes classes: antocianinas, flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavononas e flavanas, com múltiplos efeitos biológicos, como atividade antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral, poder de redução da fragilidade e permeabilidade capilares; inibição da destruição do colágeno e da agregação plaquetária (ARAÚJO, 2008; FILHO et al., 2001).

As catequinas, substâncias polifenólicas, exercem ação hipolipemiante, termogênica, antioxidante e anti-inflamatória, que podem mitigar a ocorrência e a progressão da DHGNA (MASTERJONH e BRUNO, 2012).

Os fitoesteróis, por sua vez, são compostos bastante semelhantes ao colesterol e, devido a esta similaridade, parecem ser responsáveis pela excreção fecal do colesterol dietético e pela consequente redução do colesterol sérico. Os efeitos dos esteróides vegetais na redução do colesterol sanguíneo têm sido amplamente estudados por suas propriedades hipocolesterolêmicas (ARAÚJO, 2008).

As saponinas são compostos que apresentam propriedades detergentes e surfactantes. Nas plantas, têm a função de regular o crescimento, defender contra insetos e patógenos. No organismo humano, exercem efeito antioxidante e citotóxico, atuando contra células tumorais, e reduzem a absorção de lipídios, pois se ligam aos sais biliares e ao colesterol no tubo digestivo, impedindo sua absorção (SCHENKE et al., 2007).

Espécies da família *Asteraceae*, em especial a espécie *baccharis*, apresentam uma variedade de metabólitos secundários, com destaque para os flavonóides e terpenos, reconhecidos pela importância para a medicina no tratamento e prevenção de vários males, como do estômago, fígado, anemias, inflamações, diabetes e doenças na próstata, sendo também descritos como remédio para o processo de desintoxicação do organismo (VERDI et al., 2005).

Considerações finais

Diante do exposto, torna-se evidente a importância do uso de fitoterápicos como potencial alternativa terapêutica para o tratamento de doenças hepáticas, inclusive da doença hepática gordurosa não alcoólica, notadamente na redução da ingestão de alimentos, IMC e peso corporal, aumento dos níveis de leptina, melhora dos níveis séricos de glicose, lipídios e marcadores de lesão e fibrose hepática, redução dos níveis de citocinas e melhora no dano oxidativo lipídico hepático.

Assim, são necessários estudos adicionais neste contexto, para a descoberta de novas espécies com capacidade preventiva e curativa e a investigação de seus possíveis efeitos tóxicos.

REFERÊNCIAS

- ALBERTASSE, P. D. et al. Plantas medicinais e seus usos na comunidade da Barra do Jucu, Vila Velha, ES. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p. 250-260, 2010.
- ARAÚJO, J. M. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 4. Ed. Viçosa: Editora UFV, p.477, 2008.
- BALADRIN, M. F. et al. Natural plant chemicals: Source of industrial and medicinal materials. **Science**, v.228, p.1054-1060, 1985.
- BEDOGNI, G. et al. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. **Hepatology**, v. 42, n. 1, p. 44-52, 2005.
- BRASIL, RENISUS. **Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS**. <portal. saúde. gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.> pdf., v. 24. Acesso em dez, 2013.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada no. 48 de 16 de março de 2004. Aprova o regulamento técnico de medicamentos fitoterápico junto ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária. DOU. Diário Oficial da União, Poder Executivo, DF, Brasília, 18 mar. 2004.
- BRUNING, M. C. R. et al. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu–Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Centro**, v. 84172, p. 440, 2012.
- CASTRO, H. G. et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais**. Metabólitos secundários. 2a.ed., Viçosa, Minas Gerais, 2004.
- CHECHI, K. et al. Flax oil-mediated activation of ppar- γ correlates with reduction of hepatic lipid accumulation in obese spontaneously hypertensive/NDmcr-cp rats, a model of the metabolic syndrome. **British journal of nutrition**, v. 104, n. 09, p. 1313-1321, 2010.
- CHITTURI, S. et al. Nonalcoholic fatty liver in Asia: firmly entrenched and rapidly gaining ground. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 26, n. s1, p. 163-172, 2011.
- CUI, W. X. et al. Triterpenoid-Rich Fraction from *Ilex hainanensis* Merr. Attenuates Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Induced by High Fat Diet in Rats. **The American journal of Chinese medicine**, v. 41, n. 03, p. 487-502, 2013.
- FAN, J. G; FARRELL, G. C. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. **Journal of hepatology**, v. 50, n. 1, p. 204-210, 2009.
- FARESE-Jr, R. V. et al. The problem of establishing relationships between hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. **Cell metabolism**, v. 15, n. 5, p. 570-573, 2012.

FERNANDES, T. O. Atividade hepatoprotetora *in vitro* da Gabiroba (*Campomanesia adamantium*) nativa do cerrado. **Dissertação de Mestrado do Programa de pós-graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás**. Goiânia, 2013.

FILIPPATOS, T. D; ELISAF, M. S. Combination drug treatment in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 4, n. 2, p. 139-142, 2010.

FILHO, D. W. et al. **Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas**. Chapecó: Agros, p.317-334, 2001.

FORMIGA BEZERRA, A. M. et al. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade de mimoso no município de Paulista, Paraíba, Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 5, p. 06-11, 2013.

GU, C. et al. Effect of TiaozhiYanggan Decoction (调脂养肝汤) in treating patients with non-alcoholic fatty liver. **Chinese journal of integrative medicine**, v. 13, p. 275-279, 2007.

HARRISON, S. A. et al. Orlistat for Overweight Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis: A Randomized, Prospective Trial. **Hepatology**, v. 49, n. 1, Jan. 2009.

HUSSEIN, G. M. E. et al. Mate tea (*Ilex paraguariensis*) promotes satiety and body weight lowering in mice: involvement of glucagon-like peptide-1. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n. 12, p. 1849, 2011.

JL, G. et al. Clinical study on treatment of alcoholic liver disease by qinggan huoxue recipe. **Chinese journal of integrated traditional and Western medicine**, v. 24, n. 1, p. 13-16, 2004.

KIM, Y. J. et al. GarciniaCambogia attenuates diet-induced adiposity but exacerbates hepatic collagen accumulation and inflammation. **World J Gastroenterol**. 7; 19(29): 4689-4701, Aug., 2013.

LIU, Z. L. et al. Herbal medicines for fatty liver diseases. **status and date: New, published in**, n. 8, 2013.

LOU, S. Y. et al. Effects of Yiqi Sanju Formula on non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. **Journal of Chinese integrative medicine**, v. 6, n. 8, p. 793-798, 2008.

MASTERJOHN, C; BRUNO, R. S. Therapeutic potential of green tea in nonalcoholic fatty liver disease. **Nutrition reviews**, v. 70, n. 1, p. 41-56, 2012.

NASCIMENTO, W. M. C. et al. PLANTAS MEDICINAIS E SUA UTILIZAÇÃO PELAS COMUNIDADES DO MUNICÍPIO DE SOBRAL, CEARÁ. **SANARE-Revista de Políticas Públicas**, v. 12, n. 1, 2013.

PEI, Q. et al. Clinical study of QingganHuatanHuoxue Recipe on the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. **Chinese journal of integrated traditional and Western medicine**, v. 32, n. 1, p. 29-31, 2012.

- PINTO, H. C. Tratamento da esteatohepatite não alcoólica (EHNA). **Gaz. Méd. Bahia**, v. 79, n. 2, 2009.
- ROCHA, R. et al. Fibras solúveis no tratamento da doença hepática gordurosa não-alcoólica: estudo piloto. **Arq Gastroenterol**. v. 44, n.4, 2007.
- SANTOS, R. L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.486-491, 2011.
- SCHENKEL, E. P. et al. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**.6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007
- SOUZA M. R. A. et al. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. **Arq Gastroenterol**. João Pessoa, PB, Brasil. v. 49, n. 1, Jan./Mar. 2012.
- STICKEL, F; SCHUPPAN, D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases.**Digestive and Liver Disease**, v. 39, n. 4, p. 293-304, 2007.
- TOMAZZONI, M. I. et al. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enferm**, v. 15, n. 1, 2006.
- VERMA, S; THULUVATH, P. J. Complementary and alternative medicine in hepatology: review of the evidence of efficacy. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 4, p. 408-416, 2007.
- VERDI, L. G. et al. GÊNERO *Baccharis* (ASTERACEAE): ASPECTOS QUÍMICOS, ECONÔMICOS E BIOLÓGICOS. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p,85-94, 2005.
- WANG, Z. Q. et al. Artemisia scoparia extract attenuates non-alcoholic fatty liver disease in diet-induced obesity mice by enhancing hepatic insulin and AMPK signaling independently of FGF21 pathway. **Metabolism**, v. 62, n. 9, p. 1239-1249, 2013.
- WILLIAMSON, R. M. et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis and nonalcoholic fatty liver disease in people With type 2 diabetes: the edinburgh type 2 diabetes study. **Diabetes care**, v. 34, MAY, 2011.
- WONG, V. W. S. et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and advanced fibrosis in Hong Kong Chinese: a population study using proton-magnetic resonance spectroscopy and transient elastography. **Gut**, v. 61, n. 3, p. 409-415, 2012.
- WORLD CANCER RESEARCH FUND. **Food, Nutrition, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective**. Washington, DC: American Institute for Cancer Research, p.987, 2007.
- YAMABE, N. et al. Matcha, a powdered green tea, ameliorates the progression of renal and hepatic damage in type 2 diabetic OLETF rats. **Journal of medicinal food**, v. 12, n. 4, p. 714-721, 2009.
- ZHANG, X. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. **World Health Organization**, 2000.

Artigo de resultados

Efeitos bioquímicos e histológicos da administração do extrato aquoso de *baccharis trimera* em ratos submetidos a protocolo de indução dietética de esteatose hepática

1 INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada por alterações histológicas e funcionais nos hepatócitos, abrangendo desde a esteatose hepática, que ocorre quando o acúmulo de lipídios no tecido hepático excede 5% a 10% do peso do fígado, até a esteato-hepatite, com inflamação hepatocitária e fibrose, podendo evoluir para cirrose hepática até hepatocarcinoma. A patogenia não está bem estabelecida, mas sabe-se que envolve um desequilíbrio entre a produção e a degradação e/ou exportação de triglicerídios do fígado (BRAUNERSREUTHER et al., 2012; WILLIAMSON et al., 2011).

Estudos sobre o tratamento da DHGNA têm sido realizados, apresentando resultados satisfatórios, porém não conclusivos. Neste contexto, a utilização de metformina demonstrou ser superior ao tratamento com vitamina E, induzindo melhora nas aminotransferases, no peso corporal e nos parâmetros da síndrome metabólica. O tratamento com probióticos também pode ser utilizado, pois se acredita que as bactérias podem desempenhar um papel endógeno na patogênese da resistência à insulina e da DHGNA e a descontaminação intestinal ou a inibição do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α , *tumor necrosis factor alpha*) demonstraram efeitos positivos na terapêutica da doença, diminuindo a expressão hepática do RNA mensageiro do TNF- α , reduzindo a resistência à insulina e a expressão de anticorpos anti-TNF. O tratamento com adiponectina, por sua vez, apresentou bons resultados por atenuar drasticamente a hepatomegalia, a esteatose e a inflamação, além de reduzir a hiperglicemia, reverter à resistência à insulina e causar a perda de peso. Sensibilizadores de insulina, como rosiglitazona, restrição dietética e terapia de exercícios também têm sido utilizados, além de terapias alternativas, como a fitoterapia, que tem assumido papel de destaque (ADAMS et al., 2006; BUGIANESE et al., 2005; LI et al., 2003; LIN et al., 2000; RATZIU et al., 2008; UENO et al., 1997; XU et al., 2013).

A fitoterapia é uma estratégia que tem demonstrado efeitos positivos na prevenção ou no tratamento de afecções, pelo uso de matéria-prima vegetal. Algumas espécies vegetais estão diretamente associadas a alterações do metabolismo lipídico; dentre elas destacam-se a *tabebuia avellanedae* (ipê roxo),

smilax sp (salsaparrilha), *pfaffia paniculata* (ginseng brasileiro), *ilex paraguariensis* (erva mate), *paullinia cupana* (guaraná), *camellia sinensis* (chá verde) e a *baccharis trimera* (carqueja) (MANENTI, 2010; PIZZILO et al., 2010).

O Ministério da Saúde (BRASIL, 2009) publicou em fevereiro de 2009 a Relação nacional de plantas medicinais de interesse do Sistema Único de Saúde-SUS (RENISUS), composta por 71 espécies vegetais, para as quais serão priorizadas as pesquisas e os investimentos públicos para os próximos anos, objetivando avaliar a segurança e a eficácia de sua utilização. A *Baccharis trimera*, popularmente conhecida como carqueja amarga ou vassoura, é uma espécie listada na relação RENISUS, utilizada pela população brasileira para perda de peso, atividade antidiabética e hipolipidêmica. Esta planta exerce, também, ação hepatoprotetora, digestiva, diurética, antianêmica, antirreumática e efeitos benéficos em quadros de gastroenterites. Estudos demonstram que o efeito redutor no percentual de gordura e no peso corporal pode ser explicado especialmente pela ação das flavonas e dos triterpenos presentes na planta, que provavelmente atuam como desacopladores da cadeia respiratória mitocondrial. Dessa forma, tais substâncias aumentam o gasto calórico total e maximizam o emagrecimento dos pacientes (CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 2011; DRESCH et al., 2006; FIGUEIREDO e PEREIRA, 2012; VERDI et al., 2005).

A utilização de modelos roedores é importante para o estudo da DHGNA, pois permite melhor entendimento de sua fisiopatologia e o teste de estratégias terapêuticas. A indução dietética da DHGNA em modelos animais tem sido realizada através da utilização de dietas ricas em lipídios ou com restrição de aminoácidos. No entanto, estudos recentes demonstram que a dieta padrão para roedores, publicada pelo *American Institute of Nutrition* (AIN), em sua última versão, AIN-93, quando submetida a processo térmico em seu preparo, induz um quadro importante de esteatose hepática, em ratos. Assim, esta pode ser uma opção para a indução da doença (CANALE et al., 2012; CASTRO et al., 2011; HAUBERT et al., 2010; SILVA et al., 2008; ZAMIN Jr. et al., 2009).

Considerando as repercussões da DHGNA sobre a saúde humana e os benefícios hepáticos e metabólicos atribuídos à carqueja pela medicina popular, o presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos bioquímicos e histológicos da

administração do extrato aquoso da *baccharis trimera*, em ratos submetidos a protocolo de indução dietética de esteatose hepática.

2 MÉTODOS

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFAL-CEUA/UFAL, vinculado ao Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (ANS/MS/Brasil), e aprovado, com base em normas internacionais (Declaração Universal dos Direitos do Animal – UNESCO - 15/10/1978) e nacionais (Lei 6.638 de 08/05/1979).

2.1 Coleta da planta, identificação botânica e preparação do extrato aquoso

Figura 1. Amostra da *baccharis trimera*, utilizada para o experimento



Fonte: Autora (2015).

A planta (*baccharis trimera*) foi adquirida de um agricultor alagoano e analisada por uma professora do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas-ICBS/UFAL. A exsicata será depositada no Museu de História Natural/UFAL.

A preparação do extrato aquoso ocorreu no Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade Nutrição, da Universidade Federal de Alagoas-FANUT/UFAL. As folhas da *baccharis trimera* passaram por um processo de secagem natural em ar ambiente, durante sete dias, foram trituradas e infundidas em água a 100°C,

resfriada até temperatura ambiente, durante 24 horas. Para a infusão, foram utilizados 100 gramas da planta para 1 litro de água mineral. O infuso obtido passou por processo de filtração e congelamento e, em seguida, por liofilização, realizada no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos-FANUT/UFAL.

A amostra da *baccharis trimera* pesava 100 gramas; após o processo de liofilização, o extrato aquoso rendeu 10 miligramas.

2.2 Prospecção fitoquímica

O extrato aquoso das hastes de *baccharis trimera* utilizado neste trabalho foi submetido à prospecção fitoquímica, seguindo-se a descrição de Matos (1997). Os métodos utilizados nesta abordagem são apenas qualitativos, e a presença de um constituinte químico pode mascarar a cor indicativa de outro.

2.2.1 Teste para fenóis e taninos

No tubo de ensaio de número 1, foram adicionadas 0,3ml de solução alcoólica de cloreto férrico (FeCl_3) a 1mol/L. Agitou-se bem e observou-se qualquer variação de cor e/ou formação de precipitado escuro abundante. O resultado foi comparado com um teste em branco, usando-se água e FeCl_3 .

A coloração variando entre azul e vermelho é indicativa de fenóis. A formação de um precipitado azul escuro indica a presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e de cor verde, a presença de taninos flobabênicos (taninos condensados ou catéquicos).

A solução de FeCl_3 foi preparada adicionando-se 9g deste reagente em 50 ml de água destilada, contendo 2ml de ácido clorídrico a 3mol/L. Em seguida, completou-se o volume para 100 ml com etanol em um balão volumétrico.

2.2.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides

Tomaram-se os tubos numerados de 2 a 4. O tubo de número 2 foi acidulado a pH 3,0 com HCl a 3mol/L e os tubos 3 e 4 foram alcalinizados respectivamente a pH 8,5 e 11,0, com NaOH a 1mol/L. A observação de qualquer mudança da coloração da solução foi interpretada como mostra o Quadro 1.

A solução de ácido clorídrico (HCl) a 3mol/L foi obtida através da adição de 33,3 ml do ácido concentrado em água destilada suficiente para 100 ml de solução, em um balão volumétrico.

Para se obter a solução de NaOH 1mol/L, dissolveram-se 4g deste reagente em água destilada para 100ml de solução, em balão volumétrico.

Quadro1. Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides

Constituintes	Cor		
	Ácido pH 3,0	Alcalino pH 8,5	Alcalino pH 11,0
Antocianinas e antocianidinas	Vermelho	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, flavonois e xantonas	-	-	Amarelo
Chalconas e auronas	Vermelho	-	Vermelho púrpuro
Flavanonóis	-	-	Vermelho-laranja

Fonte: Autora (2015).

2.2.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Acidulou-se o tubo 5 por adição de HCl a 3mol/L, até pH 1,0-3,0 e alcalinizou-se o tubo 6 com NaOH a 1mol/L, até pH 11,0. Os tubos foram aquecidos cuidadosamente. Foi observada a modificação na coloração, por comparação com os tubos correspondentes usados no teste anterior. A interpretação dos resultados foi feita como mostrado no Quadro 2.

Quadro2. Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Constituintes	Cor	
	Meio ácido	Meio alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Taninos catéquicos	Pardo amarelada	-
Flavononas	-	Vermelho alaranjado

Fonte: Autora (2015).

2.2.4 Teste para flavonois, flavanonas, flavanonóis e xantonas

No tubo número 7, foram adicionados 1mg de magnésio granulado e 0,5 ml de HCl concentrado. O término da reação foi identificado pelo fim da efervescência. Observou-se por comparação a mudança na cor da mistura da reação nos tubos 5 e 7. O aparecimento ou a intensificação da cor vermelha foi indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e /ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

2.2.5 Teste para esteróides e triterpenóides Liebermann-Buchard

Adicionaram-se 10ml de uma solução etanólica do extrato em um béquer, deixando-se secar em banho-maria. Extraíu-se o resíduo seco por três vezes, com porções de 1-2ml de triclorometano (CHCl_3). O extrato foi separado e colocou-se 0,5ml de CHCl_3 . Filtrou-se a solução clorofórmica em um pequeno funil fechado com uma bolinha de algodão, coberta com Na_2SO_4 anidro, para um tubo de ensaio bem seco. Adicionou-se 1ml de anidrido acético e agitou-se suavemente. Adicionou-se cuidadosamente 0,2ml de H_2SO_4 concentrado. Agitou-se suavemente e observou-se o rápido desenvolvimento de cores. A coloração azul seguida da verde permanente é um indicativo de presença de esteróides livres. Coloração parda até vermelha indica triterpenóides pentacíclicos livres.

2.2.6 Teste para saponinas

Os resíduos insolúveis em clorofórmio, separados no teste anterior, solubilizando-os em água destilada e filtrando-os para um tubo de ensaio. Agitou-se fortemente o tubo com a solução, por dois a três minutos, e observou-se a formação da espuma. Uma espuma persistente e abundante (colarinho) indica a presença de saponinas.

2.2.7 Teste para alcalóides

O extrato foram foi solubilizados com metanol e submetido à cromatografia de camada delgada. Após eluição, o cromatograma foi revelado com reagente de Dragendorff. O surgimento de manchas de cor alaranjada sugere a presença de alcalóides.

2.2.8 Teste para antraquinonas, antronas e cumarinas

Foram marcados pontos com o extrato-teste em placas cromatográficas, que foram eluídas sem clorofórmio. As placas foram borrifadas com uma solução de hidróxido de potássio a 10% e observou-se a presença das cores indicativas em luz UV a 365 nm. A cor vermelha indica antraquinona, a amarela indica antrona e a azul indica cumarina.

2.3 Determinação da dose do extrato aquoso de *baccharis trimera*

A dose estabelecida para o estudo baseou-se na utilização popular de chás vendidos comercialmente pelas indústrias alimentícias, que recomendam para seus consumidores a ingestão de 1g de chá, comercializado na forma de sachês, três vezes ao dia, totalizando 3g por dia, preparados sob a forma de infusão em água, para adultos com peso médio de 70kg. Simulando o uso popular, em animais com peso médio de 70 gramas, foram utilizados 3mg do extrato de *baccharis trimera* no grupo que recebeu a dose mínima e 6mg no grupo que recebeu a dose máxima.

A dose em questão levou em conta e não ultrapassou as orientações da farmacopéia brasileira, que estabelece como limite 7,5g por dia para humanos (DA FARMACOPÉIA, 2001).

2.4 Animais de experimentação

Foram utilizados 30 ratos machos da linhagem *Wistar*, com 40 dias de idade, provenientes do biotério central da UFAL (BIOCEN/UFAL). Os animais foram alocados em gaiolas individuais, em temperatura ambiente (20°C - 24°C) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas; luzes acesas às 7 horas) controladas, com livre acesso à água e à dieta.

A amostra foi composta por trinta animais, que foram divididos em quatro grupos: dois grupos caso, que representam os animais que fizeram uso da dieta AIN-93 e receberam o extrato de *baccharis trimera* em duas doses (**CARQMIN** e **CARQMAX**), um grupo controle positivo, aquele que fez uso da dieta AIN-93 e recebeu água destilada (**AIN**), e um grupo controle negativo, que recebeu dieta comercial e água destilada (**LAB**).

2.5 Procedimento experimental de indução de esteatose hepática

A indução da esteatose foi realizada pela ingestão da dieta padrão AIN-93 conforme experimentos anteriores do presente grupo de pesquisa, ofertada aos ratos após sofrer processo de peletização (ATAIDE et al., 2009; SANTOS et al., 2008).

2.6 Preparo da dieta indutora de esteatose hepática

O preparo da ração AIN-93 foi baseada em experiências realizadas anteriormente pelo grupo, onde 1kg de ração na forma de pó foi misturada a 300 ml de água mineral, até obtenção de uma massa homogênea. A massa foi cortada em pequenos cubos, que passaram por processo de secagem em estufa de circulação de ar, à temperatura de 60°C, durante 24 horas. Em seguida, a dieta foi reservada em ambiente refrigerado (ATAIDE et al., 2009; SILVA et al., 2008).

2.7 Administração do extrato aquoso de *baccharis trimera* nos animais

O extrato liofilizado foi diluído em 2ml de água destilada e administrado por via oral, pelo método de gavagem (Figura 3), diariamente, nos animais dos grupos caso, durante 30 dias consecutivos. Os animais dos grupos controle receberam apenas água destilada durante o mesmo período e na mesma quantidade (2ml).

Vinte e três animais foram alimentados com a dieta padrão AIN-93; oito do grupo caso denominado CARQMIN (3mg do extrato liofilizado - dose mínima), oito do grupo caso denominado CARQMAX (6mg do extrato liofilizado - dose máxima) e sete do grupo controle positivo, denominado AIN. Os sete animais do grupo controle negativo, que foram denominados LAB, receberam ração comercial. Os animais dos grupos CARQMIN e CARQMAX receberam a dieta indutora AIN-93 e o extrato da *baccharis trimera*, os animais do grupo AIN receberam a dieta AIN-93 e água destilada, sem adição do extrato, e os animais do grupo controle negativo, receberam dieta comercial Labina e água destilada, sem adição de extrato. Todos os grupos receberam as dietas e as gavagens durante 30 dias consecutivos. Foi realizado o registro semanal do ganho ponderal e do consumo das dietas pelos animais, para o cálculo do coeficiente de eficiência alimentar (CEA), que é medido pela razão entre o ganho de peso (g) e a dieta ingerida (g).

2.8 Diagnóstico da DHGNA

Passados 30 dias de experimento, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (150mg/kg) e submetidos à coleta sanguínea através de punção cardíaca, para realização das dosagens bioquímicas de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP), triglicerídios, colesterol total e frações (HDL, LDL e VLDL), glicemia,

proteínas totais e albumina sérica, através de *kits* laboratoriais, no Laboratório de Bioquímica e fisiologia de insetos da Escola de Enfermagem e Farmácia/UFAL.

Foram coletados e centrifugados durante 5 minutos, aproximadamente 6 ml de sangue de cada animal. O sobrenadante obtido após centrifugação foi retirado com uma micropipeta, alocado em tubos *ependorf* e congelado para análise posterior. As análises foram feitas às cegas, sem identificação dos animais.

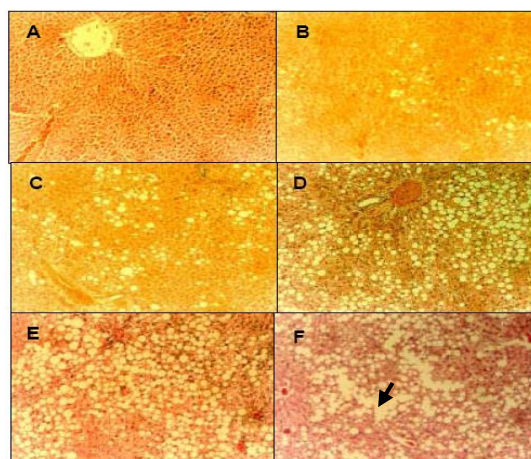
Para a coleta do tecido hepático, foi procedida à abertura da cavidade abdominal com o animal profundamente anestesiado, para a retirada do fígado, quando se deu o sacrifício.

O fígado foi pesado e um fragmento do lobo esquerdo foi obtido e fixado em solução de glicerina (50%) e formalina (50%); após 24 horas, os fragmentos foram imersos em álcool a 70% para processamento e análise histológica no Setor de Patologia do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes-HUPAA/UFAL

2.9 Análise estatística

A variável primária foi o grau de esteatose hepática, avaliada em nível histológico através de um escore já utilizado pelo grupo, que atribui valores de 0 a 5, de acordo com a quantidade de vesículas lipídicas hepáticas presentes (Figura 2).

Figura 2. Escore de classificação do grau de esteatose hepática.



Esteatose grau 0- ausência (A), grau 1- leve (B), grau 2- levemente moderado (C), grau 3- moderado (D), grau 4- grave (E) e grau 5- grave com presença de pseudocistos (seta) (F). Fonte: Ataíde et al. (2009).

Para a análise estatística, as variáveis estão apresentadas como média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil. Quando as variáveis atenderam ao pressuposto da homogeneidade das variâncias, por meio do teste de Levene

(alfa igual a 10%), a comparação entre grupos foi realizada pelo teste ANOVA com *post-hoc* de Tukey-HSD. Quando o pressuposto não foi atendido, o teste de Kruskal-Wallis com *post-hoc* de Dunnet foi utilizado. A análise da presença ou ausência de esteatose hepática foi realizada através do teste exato de Fisher. Todas as análises foram conduzidas com auxílio do pacote estatístico SPSS (IBM Inc, Chicago, IL). Para a comparação de médias, adotou-se um valor de alfa igual a 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação ponderal, do coeficiente de eficiência alimentar (CEA), da bioquímica sérica e do grau de esteatose hepática estão apresentados na Tabela 1.

A carqueja está associada à perda de peso, devido a sua composição química. Dentre os seus principais metabólitos secundários, situam-se os flavonóides, a exemplo das flavonas, que são agentes desacopladores da cadeia transportadora de elétrons, prejudicando a síntese de ATP, fazendo com haja aumento do catabolismo de glicose e lipídios, evitando a biossíntese de tecido adiposo (NELSON et al., 2002).

No estudo de Figueredo e Pereira (2001), foi evidenciado que as pacientes que tomaram 500mg em cápsulas de carqueja durante 30 dias reduziram o consumo e aumentaram a sensação de saciedade, além de apresentarem melhora no funcionamento intestinal.

No entanto, no presente estudo, os resultados mostram que, em relação ao ganho de peso, foram observadas diferenças apenas entre os grupos CARQMIN e LAB, demonstrando um discreto maior ganho de peso nos animais do grupo CARQMIN, porém, provavelmente sem significado fisiológico relevante. De maneira similar, no estudo de Nascimento (2013), não houve diferença estatisticamente significativa no ganho de peso de ratas *Fischer* diabéticas e não diabéticas que receberam o extrato da carqueja, quando comparadas com o grupo que não recebeu o extrato.

Tabela 1. Avaliação ponderal, coeficiente de eficiência alimentar (CEA), bioquímica sérica e grau de esteatose hepática dos animais

Variáveis	Grupos								P-valor
	LAB (n = 7)		AIN (n = 7)		CARQMIN (n = 8)		CARQMAX (n = 8)		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Peso Inicial (g) [#]	103,31	9,12	109,70	8,72	111,03	18,51	116,06	12,21	0,326
Ganho de peso (g) [#]	122,51 ^a	11,57	142,07 ^{a,b}	20,33	142,14 ^b	12,56	140,49 ^{a,b}	10,52	0,037
CEA [‡]	0,19 ^a	0,007	0,24 ^b	0,02	0,23 ^b	0,01	0,22 ^b	0,02	0,003
Glicemia (mg/dL) [‡]	161,44	31,23	170,47	18,44	218,11	75,16	215,39	79,75	0,121
TG (mg/dL) [‡]	57,71 ^a	19,87	65,86 ^{a,b}	21,28	104,63 ^b	32,92	118,25 ^b	52,46	0,004
Colesterol (mg/dL) [#]	57,71 ^a	21,42	61,14 ^a	18,32	76,13 ^{a,b}	15,42	88,00 ^b	18,91	0,014
HDL (mg/dL) [‡]	27,86 ^a	6,28	28,71 ^a	4,15	33,43 ^{a,b}	8,02	39,63 ^b	6,00	0,011
LDL (mg/dL) [#]	20,74 ^{a,b}	10,22	12,83 ^a	4,10	20,20 ^{a,b}	8,98	31,70 ^b	10,56	0,004
VLDL (mg/dL) [‡]	11,54 ^a	3,97	13,17 ^{a,b}	4,26	20,93 ^b	6,58	23,65 ^b	10,49	0,004
Proteína (mg/dL) [‡]	5,89 ^{a,b}	1,78	6,80 ^a	0,33	5,36 ^{a,b}	0,79	5,03 ^b	0,32	0,011
Albumina (mg/dL) [‡]	2,84 ^{a,b}	0,73	2,49 ^a	0,19	3,01 ^b	0,22	3,06 ^b	0,16	0,001
ALT (U/L) [‡]	38,14 ^a	10,56	18,86 ^b	5,18	25,38 ^{a,b}	5,15	25,88 ^{a,b}	3,76	0,001
AST (U/L) ^{#,†}	95,50 ^a	1,38	63,10 ^b	1,26	97,72 ^a	1,35	95,50 ^a	1,15	0,011
ALP (U/L) [#]	191,00	55,59	164,86	40,33	214,38	71,04	249,25	118,03	0,224
Grau de Esteatose ^{‡,§}	0	1	2	1	1,5	1	2	2	0,057

Fonte: Autora (2015).

Nota: [#]Variáveis submetidas a ANOVA com *post-hoc* de Tukey-HSD. [‡]Variáveis submetidas ao teste de Kruskal-Wallis com *post-hoc* de Dunn. [†]A Variável foi log-transformada e as médias e desvios-padrão foram retransformados. [§]Resultados expressos como mediana e intervalo interquartilício. ^{a-b}Letras diferentes nas linhas indicam presença de diferença significativa entre os grupos.

LAB - animais do grupo controle negativo, que receberam ração comercial e água destilada.

AIN – animais do grupo controle positivo, que receberam dieta AIN-93 e água destilada.

CARQMIN – animais do grupo caso, que receberam dieta AIN-93 e o extrato aquoso da *baccharis trimera* na dose mínima (3mg/kg).

CARQMAX – animais do grupo caso, que receberam dieta AIN-93 e o extrato aquoso da *baccharis trimera* na dose máxima (6mg/kg).

ALT – *alanine aminotransferase* (alanina aminotransferase).

ALP – *alkaline phosphatase* (fosfatase alcalina).

AST – *aspartate aminotransferase* (aspartato aminotransferase).

CEA - coeficiente de eficiência alimentar.

VLDL – *very low density lipoprotein* (lipoproteína de muito baixa densidade).

LDL – *low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade).

HDL – *high density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade).

O coeficiente de eficiência alimentar (CEA) é uma ferramenta diagnóstica que mede a relação entre o ganho de peso e a dieta ingerida. Ao analisa-la, foi observado que, como era de se esperar, o CEA foi maior em todos os grupos que receberam a dieta AIN, quando comparados ao grupo LAB, embora não tenha

havido diferença importante no ganho de peso dos animais dos diferentes grupos. Tais resultados permitem sugerir a existência de problemas na composição da dieta AIN-93, possivelmente relacionados à proporção de macronutrientes e à quantidade de aminoácidos sulfurados e colina, reconhecidos fatores lipotróficos (ATAIDE et al., 2009; SILVA et al., 2008).

Quanto à bioquímica sérica, existe um número considerável de evidências indicando uma nítida associação entre o aumento de triglicerídios, aumento de peso e risco de doenças cardiovasculares (BARD et al., 2001; LEMIEUX et al., 2000; VASQUES et al., 2007).

Observaram-se valores significativamente superiores de triglicerídios e da fração VLDL dos animais dos grupos tratados com a carqueja, CARQMIN e CARQMAX, quando comparados aos animais do grupo controle LAB. A razão para este evento carece esclarecimentos, pois o extrato não é fonte de lipídeos e/ou carboidratos.

Por outro lado, no estudo de Coelho et al. (2004), os autores encontraram redução tanto nos níveis séricos de triglicerídios como na glicemia em ratos, utilizando o extrato aquoso da carqueja, na dose de 4,2 mg/kg, durante 37 dias.

Para o colesterol total, assim como ocorreu com os triglicerídios e o VLDL, os dados também surpreenderam, pois foi observada uma tendência de elevação nos animais tratados com a carqueja, especialmente no grupo que utilizou a dose máxima, CARQMAX, que diferiu tanto do grupo AIN, quanto do grupo LAB. No entanto, o aumento do colesterol total observado recebeu notória contribuição do HDL, reconhecido fator de proteção cardiovascular, uma vez que os resultados se comportaram de maneira similar.

No presente estudo, houve uma correlação positiva entre o aumento de triglicerídios e de colesterol ($P < 0,01$). O colesterol é sintetizado especialmente no fígado e distribuído para o organismo. Quanto maior a disponibilidade de acetil-CoA, que é obtido a partir de triglicerídios e carboidratos em excesso, convertidos em triglicerídios, maior a síntese de colesterol (ARSLAN et al., 2005). Por esta razão, existe uma relação diretamente proporcional entre triglicerídios e colesterol, como aqui observada.

O uso do extrato aquoso da carqueja não alterou a glicemia dos animais. Porém, no estudo de Oliveira et al. (2005), o extrato aquoso de *baccharis trimera* em ratos diabéticos (2000 mg/kg, duas vezes por dia) reduziu a glicemia, após sete dias

de tratamento; contudo, este efeito não foi associado com uma redução no peso corporal. Resultado semelhante ocorreu no estudo de Barbosa-Filho et al. (2005), que, utilizando o extrato etanólico da carqueja em camundongos com diabetes induzida por estreptozotocina e tratados durante 7 dias com dose de 200mg/Kg, observaram efeito hipoglicêmico relevante.

Quanto à proteína total, ocorreu uma elevação de seus níveis no grupo AIN, em relação aos animais do grupo CARQMAX, contrariamente ao que ocorreu com a albumina, sendo observado aumento nos grupos que receberam o tratamento com o extrato, CARQMIN e CARQMAX, em relação ao grupo AIN. No entanto, as diferenças observadas não parecem ter qualquer significado fisiológico.

Surpreendentemente, o marcador de lesão hepática ALT foi maior no grupo LAB que no AIN. Já o AST foi menor no AIN que nos demais grupos. Para a ALP, não houve diferença significativa entre os grupos.

As diferenças nos níveis de enzimas hepáticas aqui observadas podem ser explicadas pelo fato de os valores de referência se encontrarem num amplo intervalo entre os valores mínimos e máximos. Além disso, os estudos mostram que alterações de enzimas hepáticas não são necessariamente encontradas em todos os casos de esteatose hepática; normalmente essas alterações são observadas quando há uma progressão da doença hepática gordurosa não alcoólica (RAVEL et al., 1997; SANTOS et al., 2008).

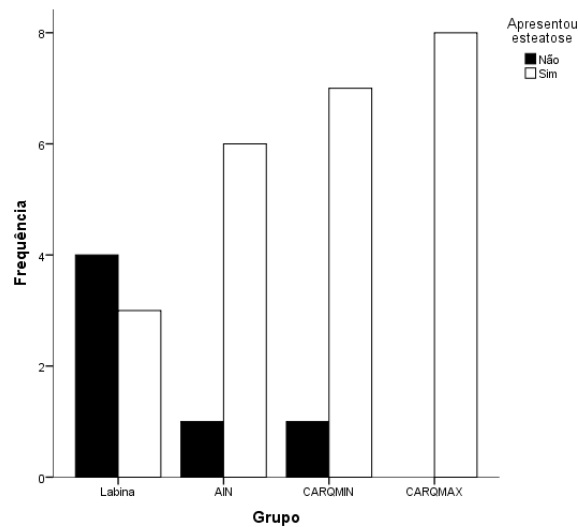
Estudos de toxicidade em ratos com diferentes doses de extrato aquoso da carqueja indicaram ausência de alterações significativas do perfil hematológico, assim como dos marcadores de funções hepática e renal, tais como transaminases e creatinina (COELHO et al., 2004; PEDRAZZI, 1997). No estudo de Pádua et al. (2014), que avaliou a presença de hepatotoxicidade induzida por acetaminofeno em ratos da linhagem *Fischer*, foi observada atenuação na atividade de ALT e AST nos animais que fizeram uso da carqueja. No entanto, no estudo de Fonseca et al. (2003), também com modelo roedor, foram observados aumentos crescentes dos níveis de ALT com o uso da carqueja.

Quanto à análise histológica do tecido hepático, não houve diferença significativa nem no número de casos de esteatose ($P=0,06$; Gráfico 1), nem em seu estadiamento, entre os grupos de animais. Entretanto, o resíduo ajustado da frequência de ausência de esteatose para o grupo LAB foi de 2,8, indicando que

este grupo apresentou uma frequência de ausência de esteatose maior que a do esperado pelo acaso.

No estudo de Santos et al. (2008), a dieta AIN-93 peletizada nos moldes aqui aplicados induziu esteatose hepática em ratos *Wistar*, com quadros mais graves nos animais mais jovens. Os autores sugerem que a composição da dieta e/ou a forma de preparo foram requisito determinante para o fenômeno observado.

Gráfico 1. Casos de esteatose hepática entre os animais



Fonte: Autora (2015).

No presente estudo, a exemplo do trabalho de Santos et al. (2008), mesmo recebendo dieta padrão comercial, os animais do grupo LAB apresentaram algum grau de esteatose hepática, o que provavelmente se deveu ao fato desses animais, assim como os dos demais grupos, terem sido submetidos a certo grau de confinamento, o que pode concorrer para o acúmulo de gordura, inclusive visceral. No entanto, problemas com a composição da dieta comercial também não devem ser, *a priori*, descartados. Em oposição aos animais selvagens, que se alimentam de dieta muito mais variada e possuem níveis mais elevados de atividade física, os animais de experimentação estão mais vulneráveis ao surgimento do quadro. Assim, investigações adicionais são necessárias.

Análise fitoquímica

Os resultados das análises fitoquímicas estão demonstrados no Quadro 3 e são semelhantes aos encontrados por Verdi et al. (2005) e Simão (2014), que relatam especialmente a ocorrência de flavonóides, saponinas e terpenos nas amostras de *baccharis trimera*.

Quadro 3. Resultados das análises fitoquímicas do extrato aquoso de *baccharis trimera*

Metabólito secundário	Presente	Ausente
Taninos	X	
Antocianidinas	X	
Antocianoanas	X	
Chalconas	X	
Auronas	X	
Flavononóis	X	
Flavononas	X	
Xantonas	X	
Triterpenóis	X	
Saponinas	X	
Antraquinonas		X
Antronas		X
Cumarinas		X
Alcalóides		X

Fonte: Autora (2015).

Os compostos polifenólicos, como os flavonóides, a exemplo das catequinas ou do resveratrol, e os taninos, já demonstraram efeito modulador do apetite, acelerador do gasto energético, além de efeito termogênico, e na melhora da esteatose hepática (BUJANDA et al., 2008; DULLOO, 2000; KAO et al., 2000).

Os flavonóides têm demonstrado efeito benéfico em doenças hepáticas, como no estudo de Marcolin (2012), que utilizou a suplementação do flavonóide antioxidante quecertina em camundongos, submetidos a modelo experimental de esteato-hepatite alcoólica. Neste estudo foram observados menores graus de esteatose macrovesicular, bem como redução do processo inflamatório hepático. Uma vez que o desenvolvimento e a progressão de doenças hepáticas, como a esteatose hepática, estão intimamente ligados ao dano oxidativo dos hepatócitos, tais compostos naturais podem exercer efeito protetor para o órgão (FERNANDES, 2013).

As saponinas são compostos que apresentam propriedades detergentes e surfactantes. Nas plantas, têm a função de regular o crescimento, defender contra insetos e patógenos. No organismo humano, exercem efeito antioxidante e citotóxico, atuando contra células tumorais, e reduzem a absorção de lipídios, pois se ligam aos sais biliares e ao colesterol no tubo digestivo, impedindo sua absorção (SCHENKEL et al., 2007). No estudo de Noh et al. (2009) foram observados efeitos antiobesidade, prevenção de esteatose hepática e redução da formação de lipídios séricos, com o uso de extrato de saponinas da planta medicinal *Platycodon grandiflorum* em ratos submetidos a dieta rica em lipídios.

Os fitosteróis e triterpenos parecem ser responsáveis pela excreção fecal do colesterol dietético e pela consequente redução do colesterol sérico. Os efeitos dos esteróides vegetais na redução do colesterol sanguíneo têm sido estudados e atualmente são reconhecidas as suas propriedades hipocolesterolêmicas (ARAÚJO, 2008).

4 CONCLUSÕES

No presente estudo, o uso do extrato aquoso da *Baccharis trimera* não preveniu, nem atenuou a esteatose hepática induzida por dieta, em ratos *Wistar*. Adicionalmente, promoveu alterações no perfil lipídico sérico, notadamente, aumento nos níveis séricos de colesterol total e HDL, além de alterações nos níveis de AST, em ratos, o que indica um possível efeito hepatotóxico, que deve ser considerado na determinação da segurança do consumo da carqueja, dentro ou fora do contexto da DHGNA. Os resultados obtidos nesse estudo suscitam novas pesquisas relacionadas ao uso de fitoterápicos na doença hepática gordurosa não alcoólica, com ênfase na *baccharis trimera* e sua associação com a esteatose hepática, referida pela população.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy**. New York: Academic Press, 1989.
- ADAMS, R.P. et al. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured publishing corporation, 2007.
- ADAMS, L. A.; ANGULO, P. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. **Post graduate medical journal**, v. 82, n. 967, p. 315-322, 2006.
- ARSLAN, N. et al. Fatty liver in obese children: prevalence and correlation with anthropometric measurements and hyperlipidemia. **Journal of Pediatrics**. 47: 23-27, 2005.
- ATAIDE, T. R. et al. Toxicological analyses of the chronic consumption of diheptanoin and triheptanoin in rats. **Int J Food Sci &Tech**. v.44, 2009.
- BARBOSA, W. L. R. et al. **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais**. Revista Científica da UFPA. Belém-PA. Vol.4 .2004.
- BARD, J. M. et al. Accumulation of Triglyceride-Rich Lipoprotein in Subjects With Abdominal Obesity The Biguanides and the Prevention of the Risk of Obesity (BIGPRO) 1 Study. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 21, n. 3, p. 407-414, 2001.
- BARBOSA-FILHO J. M. et al. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Ver Bras Farmacogn**. v. 15: 392-413, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Relação de plantas medicinais de interesse ao SUS. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>>. Acesso em set, 2014.
- BRAUNERSREUTHER, V. et al. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**. v. 28, n. 8, p.727-735, February 2012.
- BUJANDA, L. et al. Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. **BMC gastroenterology**, v. 8, n. 1, p. 40, 2008.
- BUGIANESI, E. et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. **The American journal of gastroenterology**, v. 100, n. 5, p. 1082-1090, 2005.
- CANALE, A. F. et al. **Novo modelo experimental para o estudo de esteatose hepática não-alcoólica através do jejum e realimentação com dieta hiperlipídica**. Disponível em: <<http://adaltech.com.br/sigeventos/conbran2012/.../R1924-2.PDF>>. Acesso em: out. 2014.
- CASTRO, G. S. F. et al. Fructose and NAFLD: metabolic implications and models of induction in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.26, Suppl. 2, p.45-50, 2011.

- COELHO M. P. G. et al. Antiarthritic effect and subacute toxicological evaluation of *Baccharis genistelloides* aqueous extract. **ToxicolLett.**v.154, p. 69-80, 2004.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa. Fundação Calante Guebenkian, 3ª edição, 2001.
- CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA,. **Composição química do óleo essencial de duas amostras de carqueja coletadas em Paty do Alferes**. ABH. Viçosa, p. 4874-4879. 2011.
- DRESCH, A. P. et al. Controle de qualidade de espécies do gênero baccharis l. (asteraceae) por ccd a partir de extratos rápidos. **Infarma**, v. 18, n. 11/12, p.37-40, 2006.
- FALKENBERG, M. B. et al. Introdução à Análise Fitoquímica. Livro: **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Capítulo 10. 6ª Edição. UFRGS Editora. 229 p. 1999.
- DA FARMACOPÉIA, COMISSÃO PERMANENTE DE REVISÃO. Brasileira. **Farmacopéia Brasileira**, v. 2, p. 449, 2001.
- DULLOO, A. G. et al. Green tea and thermogenesis: interactions between catechin polyphenols, caffeine and sympathetic activity. **Int J Obes Relat Metab Disord**; v.24, p.252– 258, 2000.
- FIGUEIREDO, A. P; PEREIRA, R. S. Estudo dos efeitos de cápsulas de carqueja (*Baccharis trimera* (LESS) DC) sobre o metabolismo lipídico de pacientes em processo de emagrecimento. **Conexão ciência** (Online), v. 4, n. 1, p. 29-43, 2011.
- FONSECA, L. S. et al. Verificação do teor de AST (aspartato transaminase) e ALT (lamina transaminase) de ratas tratadas com infusões de carqueja. **XI Encontro de Química da Região Sul: UFPEL. Pelotas, RS**, 2003.
- JENNINGS, W. Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography. **Elsevier**, 2012.
- HAUBERT, N. J. B. G. B. et al. Experimental induction of steatosis in different tissues after the ingestion of a carbohydrate-rich diet: effect on the liver, on the heart and on indicators of oxidation. **Arq Gastroenterol**, v. 47, n.4, p.388-392, out./dez. 2010.
- HNATYSZYN, O. et al. **Int. J. Phytother. Phytoparmacol.** v. 10, p. 669, 2003.
- KAO, Y. H. et al. Modulation of obesity by a green tea catechin. **Am J Clin Nutr**; v.72, p.1232 – 1234, 2000.
- LEMIEUX, I. et al. Hypertriglyceridemic Waist A Marker of the Atherogenic Metabolic Triad (Hyperinsulinemia; Hyperapolipoprotein B; Small, Dense LDL) in Men?.**Circulation**, v. 102, n. 2, p. 179-184, 2000.
- LI, Z. et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 37, n. 2, p. 343-350, 2003.
- LIN, H. et al. Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin-deficient mice. **Nature medicine**, v. 6, n. 9, p. 998-1003, 2000.

- MANENTI, A. V. **Plantas medicinais utilizadas no tratamento da obesidade: uma revisão**. Criciúma, 2010. Monografia (Graduação em Nutrição). Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC.
- MARCOLIN, E. **Ação hepatoprotetora do antioxidante quercetina no modelo experimental de esteato-hepatite não alcoólica**. 2012.
- NASCIMENTO, N. N. **Avaliação dos efeitos do extrato de *Baccharis trimera* (carqueja) sobre parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em modelo de diabetes melito tipo 1 induzido por aloxano em ratas**. 2013.
- NELSON, D. L. et al. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- NOH, J. et al. Preventative effects of Platycodon grandiflorum treatment on hepatic steatosis in high fat diet-fed C57BL/6 mice. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 33, n. 3, p. 450-454, 2009.
- NOVAIS, M. H. et al. Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida natural park (Portugal). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2, p. 183-195, 2004.
- PÁDUA, B. C. et al. Protective effect of Baccharis trimera extract on acute hepatic injury in a model of inflammation induced by acetaminophen. **Mediators of inflammation**, v. 2014, 2014.
- PIZZIOLO, V. R. et al. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.1, p.98-109, 2011.
- RATZIU, V. et al. Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 100-110, 2008.
- RAVEL R. Laboratório Clínico. **Aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- SANTOS, J. C. F. et al. **Esteatose hepática em ratos: efeitos de dietas padrão utilizadas em experimentação animal**. Dissertação (Mestrado em Nutrição) 2008.
- SANTOS, R. L.; GUIMARÃES, G. P.; NOBRE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Análise sobre Fitoterapia como Prática Integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu. Vol. 13, Nº 4, 2011.
- SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários**. Livro: Farmacognosia da Planta ao Medicamento. Capítulo 16. 6ª Edição. UFRGS Editora. p 404 – 405, 1999.
- SILVA, M. A. F. et al. Efeito Hepatoprotetor do Consumo Crônico de Dieptanoína e Trieptanoína contra a Esteatose em Ratos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.52, n.7, p.1145-1155, ago. 2008.
- SIMAO, A. A. et al. Chemical composition of medicinal plants used as auxiliary treatments for obesity. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 37, p. 3840-3846, 2014.
- SOUZA, S. P. Et al. Seleção de extratos brutos de plantas com atividade antiobesidade. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.4, p.643-648, 2012.

- STEFÂNIA P. S. et al. Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera*: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.** 21(3): May./Jun. 2011.
- UENO, T. et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. **Journal of hepatology**, v. 27, n. 1, p. 103-107, 1997.
- VASQUES, A. C. J. et al. Influência do excesso de peso corporal e da adiposidade central na glicemia e no perfil lipídico de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 51, n. 9, p. 1516-1521, 2007.
- VERDI, L. G. et al. Gênero *Baccharis* (asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 85-94, nov. 2005.
- WILLIAMSON, R. M. et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis and nonalcoholic fatty liver disease in people With type 2 diabetes: the edinburgh type 2 diabetes study. **Diabetes care**, v. 34, MAY 2011.
- XU, A. et al. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 1, p. 91-100, 2003.
- ZAMIN Jr. I. et al. Modelo experimental de Esteato-hepatite não-alcoólica com dieta deficiente em metionina e colina. **Arq Gastroenterol**, v. 46, n.1, p.69-74, jan./mar. 2009.

BARŠIĆ, N. et al. Overview and developments in noninvasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 30, p. 3945-3954, aug. 2013.

BRAUNERSREUTHER, V. et al. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**. v. 28, n. 8, p.727-735, feb. 2012.

BORGES, V. F. A. **Correlação entre ultrassonografia com doppler e biópsia na gradação da esteatose hepática não alcoólica**. Uberlândia, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências da saúde). Faculdade de Medicina, Universidade de Uberlândia.

CHAVES, G. V. et al. Associação entre doença hepática gordurosa não alcoólica e marcadores de lesão/função hepática com componentes da síndrome metabólica em indivíduos obesos classe III. **Rev. Assoc. Med. Bras.** Rio de Janeiro, RJ, Brasil. v. 58, n. 3, p. 288-293, fev. 2012.

FILIPPATOS, T. D; ELISAF, M. S. Combination drug treatment in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**.v. 4, n. 2, p. 139-142, April 2010.

FARRELL G. C. et al. NASH is an inflammatory disorder: pathogenic, prognostic and therapeutic implications.**Gut and Liver**. Australia. v. 6, n. 2, p. 149-171, April 2012.

HARRISON, S. A. et al. Orlistat for Overweight Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis: A Randomized, Prospective Trial. **Hepatology**.v .49, n. 1, Jan. 2009.

KARNIKOWSKI, M. et al. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle-aged and older adults. **Sao Paulo Med. J.** Brasilia, DF, Brasil. v. 125, n. 6, p.333-337, Nov. 2007.

LAM, B. P; YOUNOSSI, Z. M. Treatment regimens for non-alcoholic fatty liver disease. **Annals of Hepatology**. v.8, n.1, p. 51-58, Feb. 2009.

MANENTI, A. V. **Plantas medicinais utilizadas no tratamento da obesidade: uma revisão**. Criciúma, 2010. Monografia (Graduação em Nutrição). Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC.

MAZO, D. F. C. et al. Gluco-lipidic indices in treated hypothyroidism associated with nonalcoholic fatty liver disease. **Arq Gastroenterol**. São Paulo.SP, Brasil. v. 48, n.3, Jul./Set. 2011.

NOVAIS, M. et al. Estudos on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park. **Journal of ethnopharmacology**, Portugal, v.93, p.183- 195, 2004.

PINTO, H. C. Diagnóstico e Tratamento da Esteato-Hepatite Não Alcoólica. **Gaz. Méd. Bahia**.v. 76, n. 1, p. 16-18, 2006.

RAMOS, A. L. C. **Esteatose hepática em crianças e adolescentes com excesso de peso: relação com os componentes da síndrome metabólica**. Campina

Grande, 2011. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Pró-Reitoria de Graduação e Pesquisa, Universidade Estadual da Paraíba.

ROCHA, R. et al. Fibras solúveis no tratamento da doença hepática gordurosa não-alcoólica: estudo piloto. **Arq. Gastroenterol.** Salvador, BA, Brasil. v. 44, n.4, out./dez. 2007.

ROSA, H. Medicina natural: o que há sobre eficácia e segurança nas doenças hepáticas?. **Rev Suplemento Hepatotoxicidade**, v. 30, Supl.1, p. 06-47, fev. 2011.

SOLER, G. L. N. et al. Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica: associação com síndrome metabólica e fatores de risco cardiovascular. **Rev SOCERJ.** V. 21, n. 2, p. 94-100, Mar./Abr. 2008.

SOUZA M. R. A. et al. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. **Arq Gastroenterol.** João Pessoa, PB, Brasil. v. 49, n. 1, Jan./Mar. 2012.

YOUNOSSI, Z. M.; MCCULLOUGH, A. J. Metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C virus: impact on disease progression and treatment response. **Liver International**, v. 29, n. 2, p. 3-12, 2009.

WILLIAMSON, R. M. et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis and nonalcoholic fatty liver disease in people with type 2 diabetes: the Edinburgh type 2 diabetes study. **Diabetes care**, v. 34, may 2011.