



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

JÚLIA DE ANDRADE ARAÚJO PINTO

INFLUÊNCIA DA DIETA HIPERLIPÍDICA NOS PARAMÊTROS
MORFOMÉTRICOS E NO COMPORTAMENTO TIPO-ANSIOSO
DE PEIXES-ZEBRA

BRASÍLIA - DF

2025

JÚLIA DE ANDRADE ARAÚJO PINTO

**INFLUÊNCIA DA DIETA HIPERLIPÍDICA NOS PARAMÊTROS
MORFOMÉTRICOS E NO COMPORTAMENTO TIPO-ANSIOSO
DE PEIXES-ZEBRA**

Orientadora: Professora Dra. Paula Maria
Quaglio Bellozi.

Co-orientadora: Ma. Whitney Ribeiro Santos.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao departamento de Farmácia da
Faculdade de Ciências da Saúde como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel em
Farmácia da Universidade de Brasília.

BRASÍLIA - DF

2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e a Nossa Senhora por mais esta conquista. Reconheço o quanto sou abençoada e iluminada em minha caminhada, e tenho plena certeza de que nada disso seria possível sem a presença e o amparo divinos. Aos meus pais, Rosana e Gerson, e à minha irmã, Joana, minha eterna gratidão por serem minha base, minha força e meu porto seguro. Mamãe, obrigada por todo apoio incondicional e por me permitir trilhar meu próprio caminho, sempre me guiando com carinho e sabedoria. A senhora é, sem dúvida, minha maior inspiração!

Aos meus avós Inés e João, à minha madrinha Luzia e ao meu tio Hiago, deixo meu sincero agradecimento por estarem ao meu lado em mais esta etapa. Um obrigada especial à minha avó Inés, que no início da graduação me presenteou com um notebook, meu melhor amigo de estudos durante toda a faculdade. Também não poderia deixar de mencionar minha querida avó Gercina, que partiu recentemente para junto de Deus. Apesar de não estar fisicamente presente, levo comigo a esperança de tê-la deixado orgulhosa.

Ao meu namorado, Arthur, obrigada por ser meu apoio constante. Esteve ao meu lado em todos os momentos — das queixas de cansaço e insegurança às celebrações cheias de empolgação pelas pequenas vitórias durante esse período. Sua presença foi essencial para que eu seguisse em frente com confiança. Ao meu outro apoio eterno, minha melhor amiga Anne, muito obrigada por estar ao meu lado em absolutamente todos os momentos dessa trajetória!

Aos amigos da faculdade, agradeço por tornarem essa jornada mais leve. Foram anos de parceria, aprendizado e alegria, que guardarei com muito carinho. Aos integrantes do Lab de Bem, registro minha gratidão. Vocês foram fundamentais para o meu crescimento

acadêmico. Obrigada por cada ensinamento compartilhado e por cultivarem comigo o entusiasmo pela ciência.

Por fim, um agradecimento especial à minha orientadora, Profa. Dra. Paula Maria, e à minha coorientadora, Ma. Whitney Ribeiro. A fase do TCC sempre me causou apreensão, mas graças à dedicação, paciência e incentivo de vocês, esse processo se mostrou muito mais tranquilo do que eu imaginava. Foi um prazer trabalhar ao lado de duas cientistas brilhantes como vocês. Muito obrigada!

RESUMO

A obesidade é uma condição multifatorial, influenciada por fatores biológicos, sociais, culturais e comportamentais, agravada pelo consumo de ultraprocessados e pelo sedentarismo. Evidências mostram que as dietas ricas em gordura estão associadas a doenças crônicas não transmissíveis, alterações metabólicas e impactos cognitivos e comportamentais. Nesse contexto, o presente estudo buscou investigar a influência de uma dieta hiperlipídica (DH) sobre os parâmetros morfométricos e o comportamento tipo-ansioso em peixes-zebra (*Danio rerio*), que tem se consolidado como modelo experimental devido à sua homologia genética com humanos, viabilidade econômica e possibilidade de modelar os principais distúrbios cerebrais. Os animais foram divididos em grupos de machos e fêmeas e alimentados durante aproximadamente oito semanas com dieta padrão (DP) ou dieta hiperlipídica (DH). Ao final do protocolo experimental constatou-se que a DH promoveu aumento significativo do peso final dos animais, sem alterações relevantes no comprimento corporal ou no IMC. No comportamento, fêmeas submetidas à DH apresentaram menor distância percorrida e menor índice exploratório, indicando comportamento tipo-ansioso. Nos machos, embora a locomoção não tenha sido alterada, observou-se redução do índice exploratório, sugerindo também um comportamento tipo-ansioso. Dessa forma, a DH foi capaz de induzir ganho de peso e comportamentos compatíveis com ansiedade em peixes-zebra, corroborando achados prévios da literatura. O modelo mostrou-se adequado para investigar as consequências metabólicas e comportamentais da obesidade, reforçando a relevância do peixe-zebra como ferramenta experimental para compreensão das interações entre dieta, metabolismo e comportamento.

Palavras-chave: Peixe-zebra, dieta hiperlipídica, obesidade, ansiedade.

ABSTRACT

Obesity is a multifactorial condition influenced by biological, social, cultural, and behavioral factors, further aggravated by the consumption of ultra-processed foods and by sedentary lifestyles. Evidences indicate that high-fat diets are associated with non-communicable chronic diseases, metabolic alterations, and cognitive and behavioral impairments. In this context, the present study aimed to investigate the influence of a high-fat diet (HFD) on morphometric parameters and anxiety-like behavior in zebrafish (*Danio rerio*), a model organism increasingly consolidated due to its genetic homology with humans, cost-effectiveness, and ability to reproduce key brain disorders. Animals were divided into male and female groups and fed with either a standard diet (SD) or a high-fat diet (HFD) for approximately eight weeks. At the end of the experimental protocol, it was observed that the HFD induced a significant increase in final body weight in both sexes, without relevant changes in body length or body mass index (BMI). Regarding behavior, females exposed to the HFD exhibited reduced distance traveled and lower exploration index, indicating an anxiety-like phenotype. In males, although locomotion remained unchanged, a reduction in exploration index was also observed, likewise suggesting anxiety-like behavior. Thus, the HFD was able to induce weight gain and anxiety-like behavioral patterns in zebrafish, corroborating previous findings in the literature. This model proved suitable for investigating the metabolic and behavioral consequences of obesity, reinforcing the relevance of zebrafish as an experimental tool for understanding the complex interactions between diet, metabolism, and behavior.

Keywords: Zebrafish, high-fat diet, obesity, anxiety.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diferenciação física entre peixes-zebra macho e fêmea.....	14
Figura 2. Protocolo experimental.....	20
Figura 3. Variação dos parâmetros morfométricos das fêmeas.	23
Figura 4. Variação dos parâmetros morfométricos dos machos.	24
Figura 5. DH influencia o comportamento das fêmeas.....	25
Figura 6. DH influencia o comportamento dos machos.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS

ABESO- Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica

APN- Associação Portuguesa dos Nutricionistas

CSD- determinação cromossômica do sexo, do inglês *chromosomal sex determination*

DCNTs- Doenças crônicas não transmissíveis

DH- dieta hiperlipídica

DP- dieta padrão

Dpf - dias pós fertilização

DM2- Diabetes melito tipo 2

EPM - erro padrão da média

IMC- Índice de Massa Corpórea

OMS- Organização Mundial da Saúde

OPAS- Organização Pan-Americana da Saúde

PGSD- determinação sexual poligênica, do inglês *polygenic sex determination*

SNC- Sistema Nervoso Central

VIGITEL- Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

ZI- Zona inferior

ZS- Zona superior

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Fisiopatologia da Obesidade	9
1.2 Epidemiologia da obesidade	10
1.3 Modelos animais para estudo de desordens metabólicas	11
1.4 Peixe-zebra como modelo experimental.....	11
1.4.1 Vantagens do modelo	11
1.4.2 Limitações do modelo.....	12
1.4.3 Uso do peixe-zebra para estudo de obesidade e suas consequências	15
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral:.....	18
2.2 Objetivos específicos:	18
3. METODOLOGIA	19
3.1 Caracterização dos animais e protocolo experimental	19
3.2 Dados morfométricos	20
3.2.1 Peso	20
3.2.2 Comprimento	21
3.2.3 IMC	21
3.3 Teste do tanque novo.....	21
3.4 Análise estatística	22
4. RESULTADOS	23
4.1 O consumo de DH promoveu aumento do peso corporal, mas não modificou o comprimento corporal e o IMC.....	23
4.2 O consumo de DH promoveu comportamento tipo-ansioso.....	25
5. DISCUSSÃO	27
6. CONCLUSÃO	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
Anexo 1	41

1. INTRODUÇÃO

1.1 Fisiopatologia da Obesidade

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), sobrepeso e obesidade são definidos como acúmulo anormal ou excessivo de gordura que apresenta risco à saúde (OMS, 2025). Já é descrito na literatura que a adiposidade corporal excessiva tem papel central no desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), como diabetes melito tipo 2 (DM2) (Cai, 2013), hipertensão arterial, dislipidemia e doença cardiovascular aterosclerótica (Little; Horowitz; Feinle-Bisset, 2007).

De forma crônica, a obesidade produz uma ativação tônica de baixo grau do sistema imunológico inato que afeta as medidas de estado estacionário da homeostase metabólica e desencadeia vias inflamatórias em uma infinidade de tecidos periféricos, resultando em resistência à insulina e desregulando respostas fisiológicas (Thaler; Schwartz, 2010; Lumeng; Saltiel, 2011). Além disso, estudos mostram que a obesidade decorrente da ingestão excessiva de alimentos ricos em gordura provoca alterações no Sistema Nervoso Central (SNC), podendo gerar comportamentos ansiosos e depressivos, além de adaptações moleculares cerebrais associadas à depressão e ao controle do comportamento motivado por comida (Décarie-Spain et al., 2018).

Há evidências de que as relações entre dieta, inflamação, resistência à insulina e risco cardiometabólico são, em parte, mediadas pela composição de bactérias intestinais. A microbiota intestinal é um fator ambiental importante que afeta a absorção de energia da dieta e o armazenamento de energia no hospedeiro (Bäckhed et al., 2004). É comum que indivíduos apresentem microbiotas distintas, visto que a microbiota é definida em parte por fatores genéticos e em parte por características individuais e ambientais, como o tipo de parto ao nascer (normal ou cesariana), idade e hábitos alimentares, resultando numa grande variabilidade intra e interindividual. Dessa forma, foi visto que indivíduos magros e obesos

apresentam diferentes composições de microbiota, em que os últimos podem aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias, alterando a expressão gênica e facilitando o desenvolvimento de DCNTs (Moraes et al., 2014).

1.2 Epidemiologia da obesidade

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), mais de 1 bilhão de pessoas no mundo são portadores da obesidade, estabelecendo-se, assim, como uma das DCNT mais comuns do mundo. Estima-se que, até 2025, aproximadamente 167 milhões de pessoas – adultos e crianças – ficarão menos saudáveis por estarem acima do peso ou obesas (OPAS, 2022). Em um contexto nacional, a Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), realizou uma pesquisa publicada em 2024 que constata um acréscimo no percentual de adultos com obesidade, que passou de 11,8% em 2006 para 24,3% em 2023. Essa mesma pesquisa mostrou que o aumento das taxas de mortalidade por obesidade é mais pronunciado nas faixas etárias mais avançadas, ou seja, na população idosa, que costuma apresentar diversas outras DCNTs, agravando ainda mais a condição de saúde (VIGITEL, 2024).

A causa da obesidade é multifatorial, tornando-a uma condição crônica complexa. Engloba elementos biológicos, sociais, culturais, comportamentais, de saúde pública e política (Wanderley; Ferreira, 2010). Em acréscimo, o atual cenário do mundo globalizado incentiva cada vez mais o consumo de alimentos e bebidas ultraprocessados, concomitantemente a uma evolução tecnológica que promove gerações sedentárias (VIGITEL, 2023) refletindo no aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade entre crianças e adolescentes de 5 a 19 anos de 11 milhões em 1975, para 124 milhões em 2016 (ABESO, 2017).

A OMS reconheceu a necessidade de enfrentar a crise global da obesidade de forma urgente há muitos anos. Na 75ª Assembleia Mundial da Saúde em 2022, os Estados-

Membros exigiram e adotaram novas recomendações para a prevenção e gestão da obesidade e endossaram o plano de aceleração da OMS para acabar com a obesidade até 2030 (OMS, 2022). Portanto, aprofundar os estudos sobre obesidade é crucial para o auxílio ao combate dessa condição crônica, ao passo que o uso de modelos *in vivo* e *in vitro* são grandes aliados.

1.3 Modelos animais para estudo de desordens metabólicas

A riqueza de dados genéticos e epidemiológicos humanos sobre obesidade fornece ampla oportunidade para investigações mecanicistas em modelos animais. Estudos preliminares com camundongos, realizados por nosso grupo de pesquisa, mostraram que animais jovens submetidos a uma dieta hiperlipídica (DH) por 7 semanas apresentaram comprometimento cognitivo das memórias de reconhecimento espacial de curta duração e de longa duração (Vilela et al., 2023). Um grupo de pesquisadores demonstrou que alimentar peixes-zebra com uma dieta rica em colesterol, sem qualquer intervenção genética, resulta em hipercolesterolemia significativa e oxidação robusta de lipoproteínas, tornando peixes-zebra um modelo animal atraente para estudar mecanismos relevantes para o desenvolvimento inicial da aterosclerose humana (Fang; Liu; Miller, 2014).

1.4 Peixe-zebra como modelo experimental

1.4.1 Vantagens do modelo

O peixe-zebra (*Danio rerio*) tem sido um modelo amplamente utilizado em pesquisas científicas. A comparação com o genoma de referência humano mostra que aproximadamente 70% dos genes humanos têm pelo menos um ortólogo óbvio de peixe-zebra (Vaz; Outeiro; Ferreira, 2018; Howe et al., 2013). Além disso, o peixe-zebra possui várias vantagens em relação aos modelos murinos em estudos de desenvolvimento e doenças de vertebrados. Dentre essas vantagens, é possível citar as centenas de embriões em uma única ninhada, clareza óptica do embrião em desenvolvimento, devido à transparência desta espécie (Choi et al., 2021), capacidade de acelerar os estudos genéticos por supressão ou

superexpressão de genes (Howe et al., 2013), e assim, se torna possível realizar estratégias de mutagênese e triagem em grande escala, em menos tempo e a um custo reduzido (Santoro, 2014).

Ademais, os peixes-zebra são altamente sociais, exibem comportamentos de cardume e de aprendizagem, e podem ser submetidos a testes de comportamento social para avaliação de comportamentos típicos de transtornos mentais em humanos (Choi et al., 2021). Por mais que certas áreas do cérebro do peixe-zebra não sejam tão desenvolvidas como nos mamíferos, ou ainda não tenham seu mapeamento plenamente definido em relação às contrapartes mamíferas, os principais distúrbios cerebrais podem ser modelados nessa espécie, tornando-a uma excelente ferramenta de pesquisa em neurociência e a genética (Gerlai, 2011; Kalueff; Stewart; Gerlai, 2014).

Como benefício adicional, são animais relativamente pequenos e geralmente resistentes, logo, podem ser mantidos em densidades muito maiores e a custos muito menores do que os sistemas de modelos de mamíferos (Lawson; Wolfe, 2011). Por fim, esse modelo animal segue o princípio dos 3Rs (substituição, redução e refinamento, do inglês *replace, reduce and refine*), conforme preconizado por diversos órgãos reguladores nacionais e internacionais. Dessa forma, o crescente uso do peixe-zebra como modelo de pesquisa permite reduzir ou até mesmo substituir os experimentos científicos com mamíferos, não excluindo a importância de manter o bem-estar do novo modelo animal (Bailone et al., 2020).

1.4.2 Limitações do modelo

Em contrapartida, muitas questões ainda precisam ser abordadas em estudos futuros sobre peixes-zebra. Uma limitação reconhecida na genética desse modelo é a escassez de linhagens consanguíneas bem caracterizadas (Kalueff; Stewart; Gerlai, 2014). Em geral, ao contrário dos roedores, peixes não toleram a consanguinidade e perdem rapidamente a

fertilidade. Outros obstáculos no uso do peixe-zebra na pesquisa são a duplicação do genoma; o desconhecimento do cuidado parental, essencial para modelar alguns distúrbios do desenvolvimento e influenciar características comportamentais (Kalueff et al., 2013); e a possível dificuldade em traduzir diretamente as doses humanas ou de roedores em doses para peixes-zebra, devido às diferenças fisiológicas entre as espécies (Kalueff; Echevarria; Stewart, 2014).

Outra limitação encontrada no modelo é a determinação do sexo e o dimorfismo sexual. A determinação sexual em peixes é um processo muito flexível, incluindo a ação de fatores genéticos, ambientais (por exemplo, temperatura e pressão), comportamentais e fisiológicos (Devlin; Nagahama, 2002). Muitos estudos defendem que essa espécie tem um sistema de determinação sexual genética diferente do encontrado na maioria dos mamíferos. Nos humanos, ocorre a determinação cromossômica do sexo (CSD, do inglês *chromosomal sex determination*), na qual o sexo é definido por um interruptor primário localizado em um ou ambos os membros de um par cromossômico sexual bem diferenciado (Liew et al., 2012). Os peixes-zebra não possuem tais diferenças entre os conjuntos cromossômicos dos genomas masculino e feminino (Hosseini et al., 2019b), logo, defende-se que estes têm uma determinação sexual poligênica (multigênica ou multifatorial) (PGSD, do inglês *polygenic sex determination*), em que genes diferentes podem influenciar a determinação do sexo em diferentes linhagens, ou que genes diferentes se tornam mais importantes sob diferentes condições ambientais (Gerlai, 2011; Liew et al., 2012; Hosseini et al., 2019b).

Alguns dos genes sugestivos de exercerem influência no sexo nos peixes foram encontrados nos cromossomos 4, 5 e 16 (Howe et al., 2013), mas ainda são necessários estudos conclusivos sobre o assunto. Outro artigo mais recente, de 2022, defendeu que o peixe-zebra encontrado na natureza possui o método cromossômico de determinação sexual convencional do tipo WZ/ZZ, com um determinante sexual principal identificado no

cromossomo 4. Todavia, ele não foi encontrado no animal domesticado, retornando à hipótese de um mecanismo poligênico de determinação sexual (Aharon; Marlow, 2022) e dando origem a teoria de que o peixe-zebra perdeu genes determinantes do sexo por meio da domesticação de longo prazo. O motivo poderia estar relacionado à regulação da diferenciação sexual em laboratório por temperatura e por múltiplos fatores genéticos (Hosseini et al., 2019a).

Outrossim, a diferenciação das gônadas começa entre 10 e 12 dias após a eclosão, sendo que todos os animais apresentam uma fase juvenil em que possuem ovário contendo oócitos, independentemente do seu sexo definitivo (Schartl, 2004). Posteriormente, os ovários continuam a crescer produzindo óvulos maduros em fêmeas, ou começam a se transformar em testículos por volta de 23 e 25 dias de idade em machos (Takahashi H, 1977). A maturidade sexual é marcada pela produção de gametas viáveis e pelo desenvolvimento de características sexuais secundárias naqueles peixes que estão em condições de reprodução, incluindo uma coloração amarelada ventral em machos e um abdômen distendido em fêmeas grávidas, como ilustrado na Figura 1 (Parichy et al., 2009). Por serem distinções sutis, a diferenciação entre os sexos se torna um obstáculo.

Figura 1. Diferenciação física entre peixes-zebra macho e fêmea.



Fonte: autoria própria.

(A) Peixe-zebra fêmea. (B) Peixe-zebra macho.

Por fim, é importante ressaltar que nenhum modelo animal pode recapitular completamente todas as características fisiológicas humanas, bem como as patologias desenvolvidas por esses mamíferos.

1.4.3 Uso do peixe-zebra para estudo de obesidade e suas consequências

Como modelo para estudos sobre metabolismo lipídico, o peixe-zebra tem sido um grande aliado. Os órgãos digestivos, tecidos adiposos, maquinaria de síntese e transporte de gorduras e músculos esqueléticos do peixe-zebra são fisicamente organizados de maneira semelhante aos seus equivalentes humanos (Oka et al., 2010; Schlegel; Stainier, 2007; Anderson; Carten; Farber, 2011). A característica primária da obesidade é a hipertrofia e a hiperplasia adiposa. No peixe-zebra, assim como nos mamíferos, os lipídios são armazenados em depósitos de adipócitos viscerais, intramusculares e subcutâneos. As primeiras gotículas lipídicas neutras aparecem nos adipócitos viscerais e se acumulam conforme o peixe-zebra cresce. Esse acúmulo é produzido por superalimentação, que pode ser iniciada a partir do quinto dia pós-fertilização (dpf), sendo que no oitavo dpf, o depósito de gordura já é notável. Uma vantagem frente aos modelos de roedores, para os quais a dieta só pode ser iniciada após o desmame, que é pelo menos 3 semanas depois nascimento (Zang; Maddison; Chen, 2018; Flynn; Trent; Rawls, 2009).

Dentre os tipos de alimentação para peixe-zebra existem a dieta viva, como por exemplo com a espécie de zooplâncton *Artemia*, e a dieta processada, como a ração. O primeiro é conhecido pelo seu alto índice proteico (Silva; Mendes, 2006; Diemer et al., 2012), sendo que os cistos devem ser reidratados em água salgada por 18 a 24 horas e após esse período os náuplios, ou larvas, eclodem e são ofertados como alimento para os peixes (Dammski et al., 2011). Já as rações processadas são encontradas em diversas formulações e não precisam de nenhum preparo adicional; por isso, costumam ser mais utilizadas. Como outras fontes de alimento, estudos utilizam gema de ovo para aumento do percentual de

gordura da dieta (Tingaud-Sequeira; Ouadah; Babin, 2011; Zhou et al., 2015), visto que sua composição é principalmente de gordura e proteína (APN, 2012). A gema pode ser comprada seca com uma concentração de cerca de 60% de lipídeos (Sigma Aldrich) (Smolińska et al., 2024) ou preparada de forma convencional, cozinhando o ovo, separando a gema, e triturando antes de oferecer aos animais. Além dessa fonte de gordura, óleos e banhas também já foram explorados (Meguro; Hasumura, 2018; Meguro; Hasumura; Hase, 2015).

Um estudo feito na Alemanha em 2017 comparou três grupos alimentares de peixes-zebra por 8 semanas: (1) grupo controle alimentado com dieta padrão de 5/mg/peixe/dia de *Artemia* (22% de gordura, 44% de proteínas, 16% de carboidratos; Aqua Schwarz) para manter o peso corporal; (2) grupo superalimentado com 60mg/peixe/dia de *Artemia*, para induzir obesidade a partir de uma dieta normal em gorduras; e (3) grupo alimentado com uma DH composta por 5 mg/peixe/dia de *Artemia* em conjunto com 30 mg/peixe/dia de ovo em pó (59% de gordura, 32% de proteínas, 2% de carboidratos; Sigma). Foi notado que os dois últimos grupos tiveram a abdômen aumentado e um crescimento significativo no índice de massa corporal (IMC) em comparação aos peixes controle. Contudo, apenas o grupo superalimentado com dieta rica em gordura apresentou níveis significativamente elevados de glicose no sangue, triglicerídeos plasmáticos e colesterol, bem como um acúmulo ectópico proeminente de lipídios no fígado e músculo (Landgraf et al., 2017).

Observações clínicas e pré-clínicas têm relacionado a obesidade com diversos distúrbios centrais, entre eles: pior desempenho cognitivo, declínio cognitivo e demência (Nguyen; Killcross; Jenkins, 2014). Um estudo anterior do nosso grupo de pesquisa relatou que uma dieta rica em gordura é capaz de modular uma ampla gama de domínios comportamentais em peixes-zebra, aumentando a agressividade e comportamentos semelhantes à ansiedade; e prejudicando a formação de memória (Picolo et al., 2021)

Diante do exposto, tornam-se necessários mais estudos a fim de entender melhor os distúrbios metabólicos e cognitivos ocasionados pela obesidade. Nesse contexto, o peixe-zebra se apresenta como um bom modelo obesogênico para a análise dessas complicações, contribuindo para ampliar os conhecimentos acerca dessa epidemia global para buscar novas formas de combatê-la (VIGITEL, 2024).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Explorar os efeitos de uma DH sob parâmetros morfométricos e cognitivos em peixes-zebra adultos, analisando as diferenças entre machos e fêmeas.

2.2 Objetivos específicos:

Analisar as consequências resultantes da DH em peixes-zebra adultos nos parâmetros:

- Morfométricos: peso, comprimento e índice de massa corporal (IMC);
- Comportamentais: avaliar as condições locomotoras, exploratórias e características do comportamento tipo ansioso por meio do teste de Tanque novo;
- Dimórficos: Demonstrar as diferenças encontradas entre machos e fêmeas nos parâmetros citados anteriormente.

3. METODOLOGIA

3.1 Caracterização dos animais e protocolo experimental

Os peixes-zebra (*Danio rerio*) utilizados nessa pesquisa foram animais criados em cativeiro, adquiridos do fornecedor local Acquaplan (Acquaplan, DF, Brasil). Os animais foram mantidos em aquários de vidro com as seguintes dimensões: 18 cm de largura, 15 cm de comprimento e 20 cm de altura. Cada aquário continha 4 L de água coletada do sistema ZebTEC (Tecniplast Itália), que mantinha a temperatura ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$) e pH ($7,0\pm 0,5\%$) controlados. Durante todo o experimento, os aquários foram alojados em uma sala particular, organizada em estantes que continham papel azul em suas paredes, a fim de enriquecer o ambiente. Nas estantes, os machos e as fêmeas eram separados em aquários distintos, organizados de maneira intercalada de acordo com o sexo. A sala era equipada com um sistema de fotoperíodo, o qual acendia suas luzes às 8 horas e apagava às 20 horas, totalizando 12 horas de ciclo claro e 12 horas de ciclo escuro. Em cada aquário havia um aerador, cujo objetivo era manter a oxigenação da água adequada para os peixes. Os outros parâmetros controlados eram os níveis de amônia e nitrito da água, medidos por kits colorimétricos da Labcon Test (Alcon Ltda., Santa Catarina, Brasil), estes por sua vez, dependentes do valor de pH da água, que foi analisado por um pHmetro. Tais critérios foram avaliados sempre antes da troca dos aquários, que acontecia em dias intercalados.

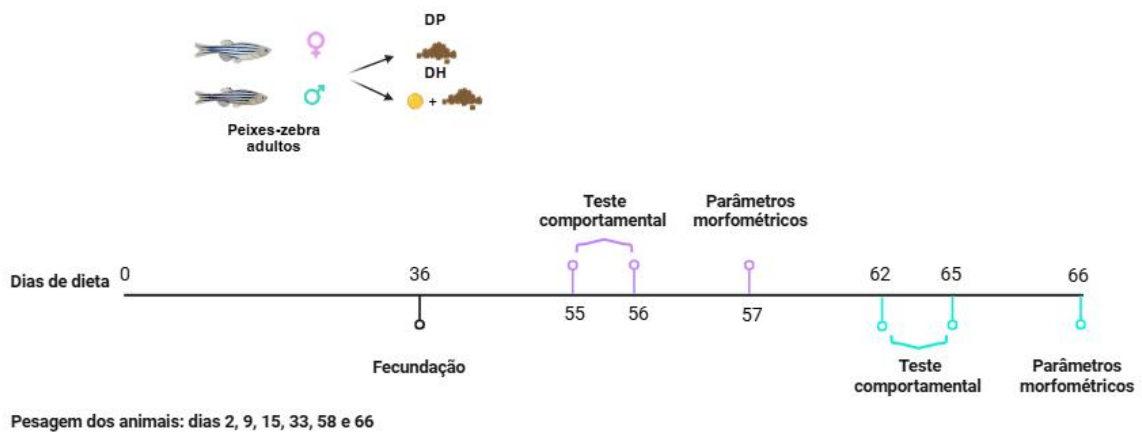
O protocolo experimental utilizado foi desenvolvido conforme as recomendações e aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da UnB, (SEI nº 23106.075530/2024-12). Inicialmente, os 78 animais, sendo 50 machos e 28 fêmeas, foram divididos em 16 aquários, separados por sexo, sendo as fêmeas alimentadas por 58 dias e os machos por 66 dias, uma vez ao dia, com uma das dietas a seguir:

- Dieta padrão (DP): 7,5 mg/peixe da ração seca Tetra-ColorBits (47,5% proteínas, 6,5% de gorduras e 18% de carboidratos; 4,9 cal/mg) Tetra, Alemanha.

- Dieta hiperlipídica (DH): 5 mg/peixe da ração comercial usada para DP acrescida de 15 mg/peixe de gema de ovo cozida (26% de gordura, 16% de proteínas, 2% de carboidratos; 3,23 cal/mg).

No 36º dia de experimento os animais foram submetidos a uma reprodução para um estudo paralelo. Durante o período noturno, os peixes foram alocados em aquários menores, com a proporção de uma fêmea para dois machos em cada aquário, sendo que 3 fêmeas não participaram desse processo. Em virtude da reprodução, foi possível notar uma redução no peso nas fêmeas, em consequência da liberação dos ovos.

Figura 2. Protocolo experimental.



Fonte: autoria própria

Os animais foram divididos em dois grupos, um que foi alimentado com dieta padrão (DP) e o outro que foi alimentado com dieta hiperlipídica (DH) a partir do dia 0. No 36º dia de dieta, os peixes foram submetidos a fecundação para um estudo paralelo. O teste comportamental de Tanque aberto foi realizado nos dias 55 e 56 para as fêmeas e nos dias 62, 63, 64 e 65 para os machos. O peso dos animais foi mensurado seis vezes durante o experimento, ao passo que o comprimento corporal foi aferido ao fim do experimento, no dia 57 e 58 para as fêmeas e no dia 66 para os machos.

3.2 Dados morfométricos

3.2.1 Peso

Os animais foram pesados seis dias diferentes no decorrer do experimento. Cada peixe foi retirado do aquário com uma rede e levemente seco com papel absorvente disposto na bancada. Em seguida, foi colocado em um béquer, com água do sistema ZebTEC, sob

uma balança analítica de precisão. Os resultados foram dispostos em uma tabela no Excel e posteriormente analisados.

3.2.2 Comprimento

O comprimento dos peixes foi mensurado ao final do experimento. Os animais foram, individualmente, anestesiados com triclaína a 0,2% e colocados sob a bancada, coberta com papel, lateralmente a uma régua, que serviu de referência para aplicação posterior de uma escala. Logo após, os peixes foram fotografados e o comprimento foi medido com a utilização do software Image J, levando em consideração a distância da boca do peixe até o pedúnculo caudal (Singleman; Holtzman, 2014; Oka et al., 2010).

3.2.3 IMC

A partir dos dados de peso e comprimento, calculou-se para cada um dos indivíduos o IMC, um parâmetro amplamente utilizado para medir adiposidade corporal (Zang et al., 2018), através da fórmula $\text{peso(mg)}/\text{comprimento(cm)}^2$ (Leibold; Hammerschmidt, 2015).

3.3 Teste do tanque novo

A análise comportamental dos peixes foi realizada ao final do experimento, com 55 e 56 dias de dieta das fêmeas e entre 62 e 65 dias de dieta dos machos. Uma forma de analisar os comportamentos locomotor e tipo ansioso dos animais é através do teste de tanque novo, semelhante ao teste de campo aberto em roedores, que explora o comportamento instintivo do peixe-zebra de buscar proteção quando exposto a um ambiente desconhecido, permanecendo no fundo do mesmo até que se sinta seguro o suficiente para explorar (Levin; Bencan; Cerutti, 2007; Ribeiro et al., 2015). O aumento do tempo de permanência na parte inferior, o aumento de movimentos erráticos e o congelamento são característicos de comportamento tipo-ansioso (Egan et al., 2009). Baseado no exposto, os peixes foram inicialmente submetidos a 1 hora de ambientação na sala de teste, que estava preparada com luz reduzida, quantificada com luxímetro, e envolta com papel celofane azul. O teste foi feito

concomitantemente com três aquários de vidro de 18 cm de largura, 15 cm de comprimento e 20 cm de altura, e preenchidos com 4L de água do sistema ZebTEC ($27 \pm 1^\circ\text{C}$). Os aquários foram alocados em cima de uma mesa branca e separados por divisórias, a fim de evitar interferências visuais.

Para a realização do teste, cada peixe foi retirado do seu aquário habitual com uma rede e colocado no aquário do teste, onde foi gravado durante 6 minutos por uma câmera localizada à frente do aquário. De forma virtual, os aquários foram divididos em dois quadrantes, um inferior e um superior. Foram analisados os parâmetros velocidade máxima e distância total percorrida, relacionados a locomoção, bem como o tempo gasto nas áreas superior e inferior, e o índice de exploração, representativos do comportamento tipo ansioso. Para análise desses resultados, foi utilizado o software ANY-maze.

3.4 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o Software GraphPad Prism, versão 9.2.0. A fim de garantir a precisão da análise e interpretação dos dados, os *outliers* foram retirados após sua identificação pelo método de ROUT ($Q= 1\%$). Para avaliar a normalidade utilizou-se como critérios os testes de D'Agostino-Pearson, Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov, sendo necessário atender a pelo menos um dos testes para ser considerada uma distribuição normal. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) e, quando considerados normais, analisados pelo Teste t de Student não pareado. A significância estatística foi baseada em $P < 0,05$. De maneira particular, o gráfico que expõe a relação entre animal, peso e tempo foi analisado por regressão linear.

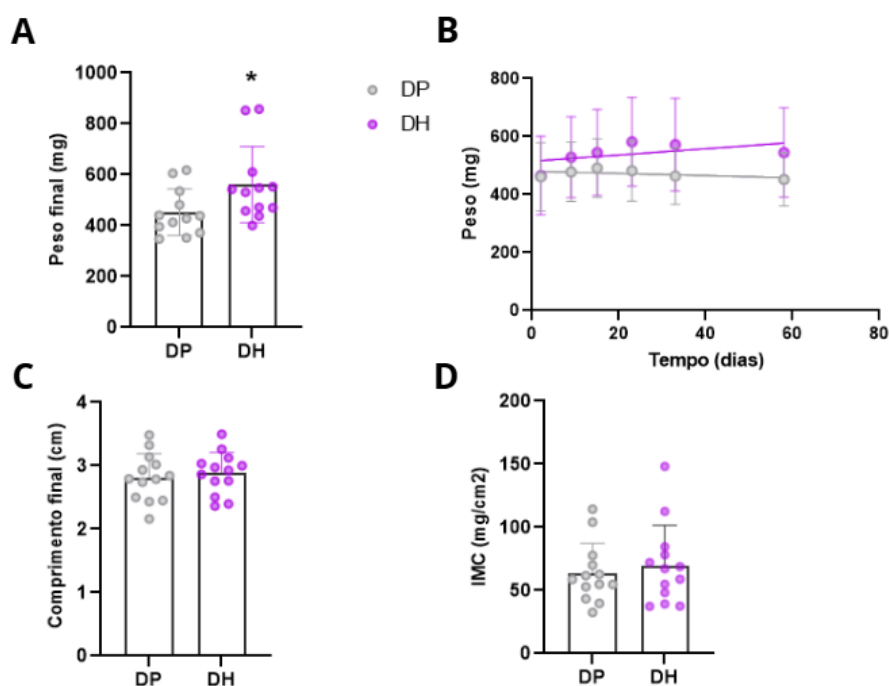
4. RESULTADOS

4.1 O consumo de DH promoveu aumento do peso corporal, mas não modificou o comprimento corporal e o IMC

Os animais foram pesados em dias específicos durante todo o experimento. A evolução do peso corporal em relação ao tempo de dieta foi apresentada por meio da análise estatística de regressão linear. Foi observado um aumento significativo no peso das fêmeas submetidas a DH em relação ao grupo submetido a DC [F (2, 157) = 4,945; p= 0,0083] (Figura 3A). O coeficiente de Pearson (r) para as fêmeas DC foi de 0,3263, enquanto para as fêmeas DH foi de 0,5243.

Com o encerramento do protocolo experimental, foi possível notar um aumento significativo do peso final das fêmeas alimentadas com DH (p= 0,0422; Figura 3B). Não houve diferenças em relação ao comprimento corporal (p= 0,6388; Figura 3C) e ao IMC (p= 0,5791; Figura 3D).

Figura 3. Variação dos parâmetros morfométricos das fêmeas.

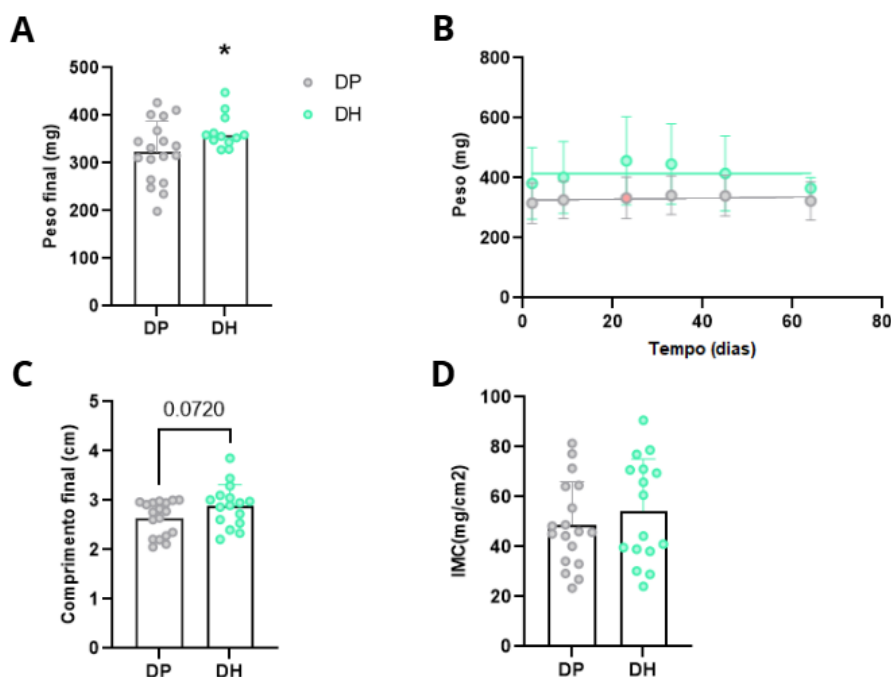


Fonte: autoria própria

(A) Peso final. (B) Peso corporal das fêmeas ao longo do tempo do protocolo experimental. (C) Comprimento final. (D) IMC. As fêmeas foram alimentadas por 56 dias, parte com DC e parte com DH. Elas foram pesadas nos dias de dieta 2, 9, 33, 55 e 58. O peso corporal ao longo do protocolo experimental foi representado por regressão linear. Para a comparação entre os grupos DC e DH dos demais testes, foi utilizado o teste t de Student não pareado e os dados paramétricos foram expressos como média \pm EPM. N= 13 a 15 por grupo. A significância estatística está representada pelo asterisco * ($p < 0,05$).

Assim como para as fêmeas, o peso final dos machos alimentados com DH em relação aos machos alimentados por DC, apresentou aumento significativo ($p = 0,0449$; figura 4A). Entretanto, no resultado do peso ao longo do tempo do protocolo experimental não foi observada tal diferença [$F(2, 225) = 20,85$; $p < 0,0001$] (Figura 4B). O coeficiente de Pearson (r) para DC foi de 0,1128 e para DH foi de 0,02634. Também não houve diferença estatística no comprimento ($p = 0,0720$; Figura 4C) e no IMC ($p = 0,4071$; Figura 4D). Entretanto, foi possível notar uma tendência de aumento no comprimento do grupo de machos DH.

Figura 4. Variação dos parâmetros morfométricos dos machos.



Fonte: autoria própria

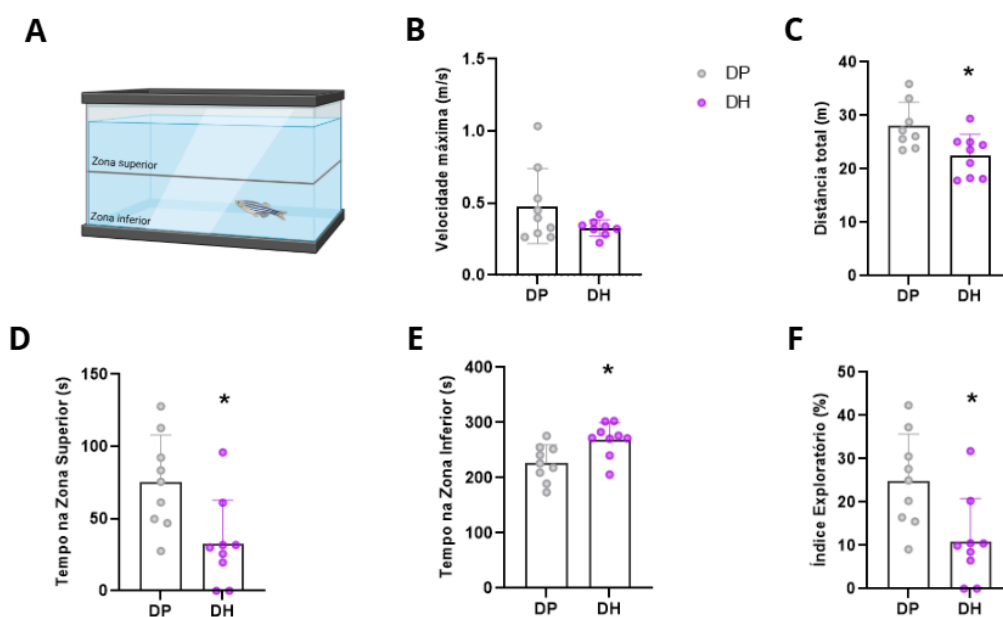
(A) Peso final. (B) Peso corporal dos machos ao longo do tempo do protocolo experimental. (C) Comprimento final. (D) IMC. Os machos foram alimentados por 65 dias, parte com DC e parte com DH. Eles foram pesados nos dias de dieta 2, 9, 33, 55 e 65. O peso corporal ao longo do protocolo experimental foi representado por regressão linear. Para a comparação entre os grupos DC e DH dos demais testes, foi utilizado o teste t de Student não pareado e os dados paramétricos estão expressos como média \pm EPM. N= 16 a 20 por grupo. A significância estatística está representada pelo asterisco * ($p < 0,05$).

4.2 O consumo de DH promoveu comportamento tipo-ansioso

O teste de Tanque novo foi conduzido conforme protocolo apresentado, no qual espera que o animal permaneça no quadrante inferior do aquário até se sentir seguro para explorar a porção superior. Durante a análise, foram avaliados parâmetros como velocidade máxima e distância total percorrida, que caracterizam a locomoção do peixe, e outros parâmetros como tempo gasto nas áreas superior e inferior e índice de exploração, calculado pelo tempo na área superior/ (tempo na área inferior + tempo na área superior) x 100. Esses, por sua vez, são representativos do comportamento tipo ansioso.

Para a velocidade máxima das fêmeas não houve significância estatística ($p=0,1299$; Figura 5B). Entretanto, a distância total percorrida ($p=0,0167$; Figura 5C), o tempo na zona superior ($p=0,0109$; Figura 5D) e o índice exploratório ($p=0,0110$; Figura 5F) foram menores para o grupo DH, enquanto o tempo na zona inferior ($p=0,0114$; Figura 5E) foi maior, se comparado ao grupo DC. Os resultados encontrados inferem uma menor locomoção e a presença de comportamento tipo-ansioso desencadeados pela alimentação rica em gordura.

Figura 5. DH influencia o comportamento das fêmeas.

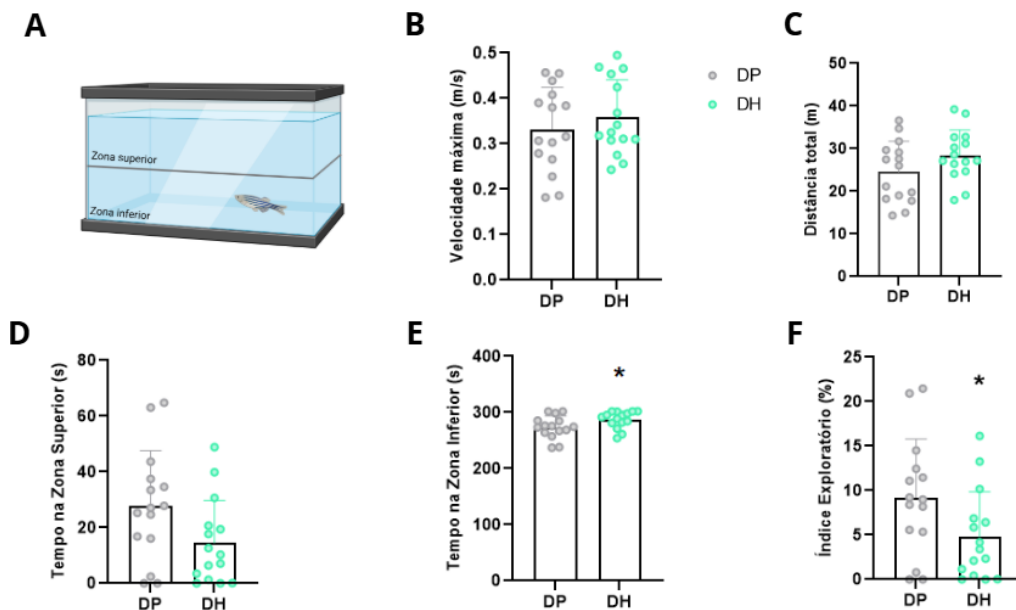


Fonte: autoria própria

(A) Protocolo experimental do teste de Tanque novo. Foram analisados velocidade máxima (B), velocidade máxima (B), distância total percorrida (C), tempo na zona superior (D), tempo na zona inferior (E) e índice exploratório (F) que é calculado $ZS/[(ZS+ZI) \times 100]$. A comparação entre os grupos DC e DH foi realizada através do teste t de Student não pareado e os dados paramétricos estão expressos como média \pm EPM. N= 9 por grupo. A significância estatística está representada pelo asterisco *($p < 0,05$).

Por outro lado, a DH não alterou a locomoção dos machos, pois os dados de velocidade máxima ($p = 0,4312$; Figura 6B) e distância total percorrida ($p = 0,1184$; Figura 6C) não demonstraram diferenças estatisticamente significativas. Contudo, o tempo na zona inferior ($p = 0,0434$; Figura 6E) dos animais DH foi maior em relação aos animais DC, e o índice exploratório ($p = 0,0488$; Figura 6F) foi menor no grupo DH. O tempo na zona superior ($p = 0,1107$; Figura 6D) não foi diferente entre os grupos. Por meio desses resultados, é possível inferir que os animais alimentados com DH apresentaram comportamento tipicamente ansioso.

Figura 6. DH influencia o comportamento dos machos.



Fonte: autoria própria

(A) Protocolo experimental do teste de Tanque novo. Foi analisado velocidade máxima (B), distância total percorrida (C), tempo na zona superior (D), tempo na zona inferior (E) e índice exploratório (F) que é calculado pela fórmula $ZS/[(ZS+ZI) \times 100]$. A comparação entre os grupos DC e DH foi realizada através do teste t de Student não pareado e os dados paramétricos estão expressos como média \pm EPM. N= 15 por grupo. A significância estatística está representada pelo asterisco *($p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

De acordo com o Atlas Mundial da Obesidade 2025, o mundo não atingirá as metas de 2025 da Assembleia Mundial da Saúde para a prevenção e o controle de DCNTs, que incluem “interromper o aumento do diabetes e da obesidade”, de acordo com as linhas de base de 2010 (OMS, 2013). Ao contrário do que é esperado, observou-se aumento na prevalência de sobrepeso e obesidade em muitos países de renda média e platôs em um nível elevado em países de alta renda (Federação mundial da obesidade, 2025).

Nesse contexto, a obesidade tem sido associada à neuroinflamação, à diminuição das funções cognitivas e ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (Bittencourt et al., 2022). Portanto, diante do atual cenário, estudos para melhor entender a influência do sobrepeso e obesidade no metabolismo e na cognição tornam-se essenciais. Como aliado a essa estratégia, o peixe-zebra se mostra eficiente modelo de pesquisa devido à alta homologia fisiológica e genética com os humanos, bem como à semelhança da morfologia do SNC (Kalueff, Stewart, et al., 2014). O presente estudo utilizou peixes-zebra adultos alimentados com DH como modelo obesogênico. Parâmetros morfométricos como peso, comprimento e IMC foram utilizados para acompanhar a resposta dos peixes à indução da obesidade pela alimentação rica em gordura.

O peso final dos peixes nutridos com DH, tanto fêmeas (Figura 3A) quanto machos (Figura 4A), apresentou aumento significativo. Um resultado semelhante foi encontrado por Landgraf e seu grupo de pesquisa em 2017, em que eles utilizaram peixes-zebra machos divididos em três grupos: o primeiro foi alimentado com *Artemia* suficiente para manutenção do peso corporal, o segundo foi superalimentado com *Artemia* para induzir obesidade por meio de uma dieta com quantidades normais de gordura, e por fim, o último foi alimentado com a combinação de *Artemia* e gema de ovo em pó imitando uma dieta rica em gordura. Após oito semanas de experimento, os animais foram pesados e foi observado aumento de

peso tanto nos animais superalimentados com *Artemia* quanto nos animais alimentados com *Artemia* e gema de ovo em pó. Ainda, no último grupo os adipócitos viscerais eram maiores e apresentavam um fenótipo de tecido adiposo metabolicamente comprometido (Landgraf et al., 2017).

Outro parâmetro analisado foi o comprimento dos animais, que apresentou uma tendência de aumento no grupo de machos DH (Figuras 4C). Em contrapartida, não houve diferença entre os grupos de fêmeas (Figura 3C). Uma pesquisa com perfil semelhante a esta relacionou o prejuízo da neurogênese e homeostase cerebral pelo sobrepeso induzido por dieta em peixe-zebra, e encontrou um resultado estatisticamente significativo. Nela, foi desenvolvido um modelo obesogênico rápido de quatro semanas, em que os animais foram superalimentados com *Artemia*. Ao final, foi encontrado um aumento no comprimento de 125% nos machos e 162% nas fêmeas em relação ao grupo controle (Ghaddar et al., 2020).

O último parâmetro morfométrico analisado foi o IMC, calculado a partir da fórmula $\text{peso(mg)/comprimento(cm)}^2$. O IMC das fêmeas (Figura 3D) e dos machos (Figura 4D) não foi alterado pela dieta, o que diverge de resultados consolidados na literatura (Hiramitsu et al., 2014; Landgraf et al., 2017; Oka et al., 2010; Picolo et al., 2021). A saber, um estudo realizado em 2014 no Japão desenvolveu um modelo obesogênico em peixes-zebra adultos por meio do consumo de *Artemia*. O grupo controle foi alimentado apenas uma vez ao dia enquanto o grupo de superalimentação recebeu a dieta três vezes ao dia durante quatro semanas. No último dia de protocolo, os animais foram pesados e medidos, e sendo o IMC calculado 1,4 vezes maior nos animais superalimentados em comparação aos animais controles (Hiramitsu et al., 2014).

A assimetria encontrada em relação aos dados obtidos pelo presente projeto e os descritos na literatura podem ser consequência de alguns fatores determinantes. Em primeira análise, é importante ressaltar que os animais utilizados no protocolo experimental são de

cativeiro, conferindo a eles uma certa heterogeneidade. Portanto, devido ao número de peixes necessário para o desenvolvimento da pesquisa, mesmo após randomização máxima possível, pode ter ocorrido variação no estágio de vida entre as fases jovem e jovem-adulto. Sendo que, o aporte nutricional na fase jovem deve ser altamente proteico para estimular o desenvolvimento e crescimento dos animais, em contraste com a dieta direcionada a peixes adultos, que precisa de uma quantidade maior de lipídeos, a fim de priorizar a reprodução da espécie (Coutinho, 2018; Dammski et al., 2011; Rodrigues; Bergamin; Santos, 2013). Ademais, um estudo realizado por Singleman e Holtzman sugere que o crescimento do peixe-zebra é maior em determinados estágios da vida, principalmente entre as idades 30-45 dpf e 90-180 dpf (Singleman; Holtzman, 2014).

De forma suplementar, convém considerar o tipo de dieta utilizado no protocolo experimental. A literatura citada para comparação dos resultados obtidos utilizou como alimento dos peixes a *Artemia*, principal dieta viva utilizada em pesquisas. Acredita-se que esse tipo de dieta é mais balanceado nutricionalmente, mais atrativo química e visualmente e mais digestível, além de ser uma oportunidade de bioencapsulação de nutrientes e aprimoramento do comportamento predatório (Dammski et al., 2011; Licitra et al., 2024). Porém, é importante ressaltar que presas vivas apresentam riscos potenciais de transmissão de patógenos e possuem custo substancialmente superior em relação à ração seca (Chang; Benedict; Whipps, 2019; Licitra et al., 2024). Independentemente das vantagens e desvantagens de cada tipo de dieta, o uso da ração seca em detrimento da alimentação viva pode ter tido influência nos resultados encontrados.

Há evidências que a ingestão alimentar adequada tem efeitos importantes nas funções e na saúde cerebral humana. (Chianese et al., 2018). Da mesma forma, muitos estudos em humanos demonstram déficits no desempenho cognitivo, na memória e no comportamento desencadeados por dietas ricas em gordura (Eskelinen et al., 2008; Greenwood; Winocur,

2005; Molteni et al., 2002; Sharma, 2021). O peixe-zebra, devido a sua semelhança genética com os humanos (Vaz; Outeiro; Ferreira, 2018^a; Howet et al., 2013) e ao seu comportamento altamente social (Choi et al., 2021), permite que os principais distúrbios cerebrais sejam representados, tornando-o uma excelente ferramenta de pesquisa em neurociência e a genética (Gerlai, 2011; Kalueff; Stewart; Gerlai, 2014).

No teste do tanque novo, ao analisar a locomoção dos animais, resultados diferentes foram encontrados para as fêmeas e para os machos. A velocidade máxima não mostrou alteração significativa entre os grupos DC e DH de ambos os gêneros (Figura 5B e 6B), porém, observou-se menor distância total percorrida pelo grupo de fêmeas DH (Figura 5C), fato intimamente relacionado ao peso dos animais, visto que por estarem mais pesadas, se faz necessário um esforço maior para se movimentarem, confirmando a dificuldade locomotora. Uma pesquisa recente de 2024 encontrou resultados semelhantes. Nesse estudo, os animais foram divididos em quatro grupos, sendo dois grupos controle, em que um deles foi alimentado com *Artemia* e o outro com ração comercial, e os dois grupos modelos de obesidade, em que um recebeu gema de ovo em pó misturada com óleo de soja e outro foi superalimentado com *Artemia*. No referido estudo, o primeiro grupo do modelo obesogênico apresentou redução da distância percorrida, aumento da latência para adentrar a área superior e menor velocidade média, (Silva et al., 2024) os dados aqui apresentados e indicando comportamento tipo-ansioso.

De maneira semelhante, outros indicadores de comportamento tipo-ansioso foram analisados, como o tempo gasto nas áreas superior e inferior e o índice de exploração (Egan et al., 2009). Geralmente, o maior tempo de permanência na zona inferior e o menor índice de exploração demonstram insegurança do peixe em explorar o novo ambiente, sendo um perfil típico de ansiedade elevada (Egan et al., 2009; Levin; Bencan; Cerutti, 2007). Os resultados encontrados a partir do teste de tanque novo do experimento estão em

concordância com publicações já consolidadas (Picolo et al., 2021; Silva et al., 2024). O tempo na zona inferior foi maior para as fêmeas (Figura 5E) e para os machos (Figura 6E) alimentados com DH, enquanto o índice exploratório foi menor, também para as fêmeas (Figura 5F) e para os machos (Figura 6F). Assim, infere-se que o aumento de gordura na dieta de peixes-zebra induz comportamento tipo-ansioso. O mesmo desfecho foi atestado em um trabalho recente do nosso grupo de pesquisa, que demonstrou declínio cognitivo, comportamento agressivo e comportamento tipo-ansioso em peixes-zebra, induzido por DH a curto prazo (Picolo et al., 2021).

6. CONCLUSÃO

O modelo experimental utilizado mostrou-se adequado e confiável para o estudo da obesidade e de suas consequências metabólicas e cognitivas, uma vez que foram observados ganho de peso e comportamento tipo-ansioso nos animais. Os achados reafirmam a relevância do peixe-zebra como ferramenta para o aprofundamento do conhecimento nessa área.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Obesidade infantil aumentou 10 vezes nas últimas quatro décadas**. 2017. Disponível em: <https://abeso.org.br/obesidade-infantil-aumentou-10-vezes-nas-ultimas-quatro-decadas/>. Acesso em: 15 jul. 2025.

AHARON, Devora; MARLOW, Florence L. Sexual determination in zebrafish. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 79, n. 1, p. 8, 22 jan. 2022.

ANDERSON, Jennifer L.; CARTEN, Juliana D.; FARBER, Steven A. Zebrafish Lipid Metabolism: From Mediating Early Patterning to the Metabolism of Dietary Fat and Cholesterol. **Methods in Cell Biology**, v. 101, n. 1, p. 111–141, 2011.

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DOS NUTRICIONISTAS (APN). **O ovo: para saber mais**. 2012. E-book. Disponível em: <https://www.apn.org.pt/documentos/ebooks/Oovo.pdf>. Acesso em: 17 mai 2025

BÄCKHED, Fredrik *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 44, p. 15718–15723, 2 nov. 2004.

BAILONE, Ricardo Lacava *et al.* Zebrafish as an alternative animal model in human and animal vaccination research. **Laboratory Animal Research**, v. 36, n. 1, p. 13, 7 dez. 2020.

BITTENCOURT, Aline *et al.* High fat diet-induced obesity causes a reduction in brain tyrosine hydroxylase levels and non-motor features in rats through metabolic dysfunction, neuroinflammation and oxidative stress. **Nutritional Neuroscience**, v. 25, n. 5, p. 1026–1040, 4 maio 2022.

CAI, Dongsheng. Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 24, n. 1, p. 40–47, jan. 2013.

CHANG, Carolyn T.; BENEDICT, Samuel; WHIPPS, Christopher M. Transmission of *Mycobacterium chelonae* and *Mycobacterium marinum* in laboratory zebrafish through live feeds. **Journal of Fish Diseases**, v. 42, n. 10, p. 1425–1431, 16 out. 2019.

CHIANESE, Rosanna *et al.* Impact of Dietary Fats on Brain Functions. **Current Neuropharmacology**, v. 16, n. 7, p. 1059–1085, 12 jul. 2018.

CHOI, Tae-Young *et al.* Zebrafish as an animal model for biomedical research. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 53, n. 3, p. 310–317, 1 mar. 2021.

COUTINHO, Claudia. **Manutenção e reprodução em peixe-zebra (Danio rerio) – Relatório final de estágio no Biotério de Organismos Aquáticos do CIIMAR**. Porto: INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR, 2018.

DAMMSKI, Ana Paula *et al.* **Zebrafish Manual de Criação em Biotério**. 1. ed. Curitiba: UFPR. 2011.

DÉCARIE-SPAIN, Léa *et al.* Nucleus accumbens inflammation mediates anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat. **Molecular Metabolism**, v. 10, p. 1–13, abr. 2018.

DEVLIN, Robert H.; NAGAHAMA, Yoshitaka. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**, v. 208, n. 3–4, p. 191–364, jun. 2002.

DIEMER, Odair *et al.* Artemia sp. NA ALIMENTAÇÃO DE LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 2, 29 jun. 2012.

EGAN, Rupert J. *et al.* Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. **Behavioural Brain Research**, v. 205, n. 1, p. 38–44, dez. 2009.

ESKELINEN, Marjo H. *et al.* Fat intake at midlife and cognitive impairment later in life: a population-based CAIDE study. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 23, n. 7, p. 741–747, 10 jul. 2008.

FANG, Longhou; LIU, Chao; MILLER, Yury I. Zebrafish models of dyslipidemia: relevance to atherosclerosis and angiogenesis. **Translational Research**, v. 163, n. 2, p. 99–108, fev. 2014.

FEDERAÇÃO MUNDIAL DA OBESIDADE. **Atlas mundial da Obesidade**. 2025. Disponível em: <https://data.worldobesity.org/publications/PBO---Atlas-Mundial-da-Obesidade---WOF-2025-PT-BR.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2025.

FLYNN, Edward J.; TRENT, Chad M.; RAWLS, John F. Ontogeny and nutritional control of adipogenesis in zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Lipid Research**, v. 50, n. 8, p. 1641–1652, ago. 2009.

GERLAI, Robert. Zebrafish, a Potential Novel Research Tool for the Analysis and Modeling of Anxiety. **Different Views of Anxiety Disorders**, sep. 2011.

GHADDAR, Batoul *et al.* Impaired brain homeostasis and neurogenesis in diet-induced overweight zebrafish: a preventive role from *A. borbonica* extract. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 14496, 2 set. 2020.

GREENWOOD, Carol E.; WINOCUR, Gordon. High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function. **Neurobiology of Aging**, v. 26, n. 1, p. 42–45, dez. 2005.

HIRAMITSU, Masanori *et al.* Eriocitrin ameliorates diet-induced hepatic steatosis with activation of mitochondrial biogenesis. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1, p. 3708, 15 jan. 2014.

HOSSEINI, Shahrbanou *et al.* Genetic mechanism underlying sexual plasticity and its association with colour patterning in zebrafish (*Danio rerio*). **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, p. 341, 6 dez. 2019a.

HOSSEINI, Shahrbanou *et al.* Efficient phenotypic sex classification of zebrafish using machine learning methods. **Ecology and Evolution**, v. 9, n. 23, p. 13332–13343, 11 dez. 2019b.

HOWE, Kerstin *et al.* The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 498–503, 25 abr. 2013.

KALUEFF, Allan V. *et al.* Towards a Comprehensive Catalog of Zebrafish Behavior 1.0 and Beyond. **Zebrafish**, v. 10, n. 1, p. 70–86, mar. 2013.

KALUEFF, Allan V.; ECHEVARRIA, David J.; STEWART, Adam Michael. Gaining translational momentum: More zebrafish models for neuroscience research. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 55, p. 1–6, dez. 2014.

KALUEFF, Allan V.; STEWART, Adam Michael; GERLAI, Robert. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 35, n. 2, p. 63–75, fev. 2014.

LANDGRAF, Kathrin *et al.* Short-term overfeeding of zebrafish with normal or high-fat diet as a model for the development of metabolically healthy versus unhealthy obesity. **BMC Physiology**, v. 17, n. 1, p. 4, 21 dez. 2017.

LAWSON, Nathan D.; WOLFE, Scot A. Forward and Reverse Genetic Approaches for the Analysis of Vertebrate Development in the Zebrafish. **Developmental Cell**, v. 21, n. 1, p. 48–64, jul. 2011.

LEVIN, Edward D.; BENCAN, Zachary; CERUTTI, Daniel T. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. **Physiology & Behavior**, v. 90, n. 1, p. 54–58, jan. 2007.

LICITRA, Rosario *et al.* Zebrafish Feed Intake: A Systematic Review for Standardizing Feeding Management in Laboratory Conditions. **Biology**, v. 13, n. 4, p. 209, 23 mar. 2024.

LIEW, Woei Chang *et al.* Polygenic Sex Determination System in Zebrafish. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. e34397, 10 abr. 2012.

LITTLE, Tanya J.; HOROWITZ, Michael; FEINLE-BISSET, Christine. Modulation by high-fat diets of gastrointestinal function and hormones associated with the regulation of

energy intake: implications for the pathophysiology of obesity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, n. 3, p. 531–541, set. 2007.

LUMENG, Carey N.; SALTIEL, Alan R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 6, p. 2111–2117, 1 jun. 2011.

MEGURO, Shinichi; HASUMURA, Takahiro. Fish Oil Suppresses Body Fat Accumulation in Zebrafish. **Zebrafish**, v. 15, n. 1, p. 27–32, fev. 2018.

MEGURO, Shinichi; HASUMURA, Takahiro; HASE, Tadashi. Body Fat Accumulation in Zebrafish Is Induced by a Diet Rich in Fat and Reduced by Supplementation with Green Tea Extract. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0120142, 18 mar. 2015.

MOLTENI, R. *et al.* A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. **Neuroscience**, v. 112, n. 4, p. 803–814, jul. 2002.

MORAES, Ana Carolina Franco de *et al.* Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 4, p. 317–327, jun. 2014.

NGUYEN, Jason C. D.; KILLCROSS, A. Simon; JENKINS, Trisha A. Obesity and cognitive decline: role of inflammation and vascular changes. **Frontiers in Neuroscience**, v. 8, 19 nov. 2014.

OKA, Takehiko *et al.* Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity. **BMC Physiology**, v. 10, n. 1, p. 21, 21 dez. 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Plano de ação global para prevenção e controle de doenças não transmissíveis**. 2013. Disponível em: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/94384/9789241506236_eng.pdf?sequence=1. Acesso em: 24 ago. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Acceleration plan to support Member States in implementing the recommendations for the prevention and management of obesity over the life course.** 2023. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240075634>. Acesso em: 11 jul. 2025.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Dia Mundial da Obesidade 2022: acelerar ação para acabar com a obesidade.** 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/4-3-2022-dia-mundial-da-obesidade-2022-acelerar-acao-para-acabar-com-obesidade#:~:text=A%20Organiza%C3%A7%C3%A3o%20Mundial%20da%20Sa%C3%BAde%20%28OMS%29%20estima%20que%2C,saud%C3%A1veis%20por%20estarem%20acima%20do%20peso%20ou%20obesas>. Acesso em: 13 jul. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). 2025. **Obesity.** Disponível em: https://www.who.int/health-topics/obesity/#tab=tab_1. Acesso em: 13 jul. 2025.

PARICHY, David M. *et al.* Normal table of postembryonic zebrafish development: Staging by externally visible anatomy of the living fish. **Developmental Dynamics**, v. 238, n. 12, p. 2975–3015, 4 dez. 2009.

PICOLO, Victor L. *et al.* Short-term high-fat diet induces cognitive decline, aggression, and anxiety-like behavior in adult zebrafish. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 110, p. 110288, ago. 2021.

RIBEIRO, Rodrigo *et al.* **BIOTECNOLOGIA APLICADA À SAUDE: fundamentos e aplicações.** 5. ed. São Paulo: Blucher, 2015.

RODRIGUES, Ana Paula; BERGAMIN, Giovani; SANTOS, Viviane. **Piscicultura de água doce - Multiplicando conhecimentos.** Brasília: Embrapa, 2013.

SANTORO, Massimo M. Zebrafish as a model to explore cell metabolism. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 25, n. 10, p. 546–554, out. 2014.

SCHARTL, Manfred. Sex chromosome evolution in non-mammalian vertebrates. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 14, n. 6, p. 634–641, dez. 2004.

SCHLEGEL, Amnon; STAINIER, Didier Y. R. Lessons from “Lower” Organisms: What Worms, Flies, and Zebrafish Can Teach Us about Human Energy Metabolism. **PLoS Genetics**, v. 3, n. 11, p. e199, 30 nov. 2007.

SHARMA, Sorabh. High fat diet and its effects on cognitive health: alterations of neuronal and vascular components of brain. **Physiology & Behavior**, v. 240, p. 113528, out. 2021.

SILVA, Adriano Prysthon da; MENDES, Paulo De Paula. Utilização da artêmia nacional como dieta para pós-larvas do *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) na fase berçário. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 3, 10 jan. 2006.

SILVA, Maria Gabriela F. R. *et al.* Evaluation of the Effects of Diet-Induced Obesity in Zebrafish (*Danio rerio*): A Comparative Study. **Nutrients**, v. 16, n. 19, p. 3398, 7 out. 2024.

SINGLEMAN, Corinna; HOLTZMAN, Nathalia G. Growth and Maturation in the Zebrafish, *Danio Rerio*: A Staging Tool for Teaching and Research. **Zebrafish**, v. 11, n. 4, p. 396–406, ago. 2014a.

SMOLIŃSKA, Katarzyna *et al.* Innovative high fat diet establishes a novel zebrafish model for the study of visceral obesity. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 3012, 6 fev. 2024.

TAKAHASHI H. Juvenile Hermaphroditism in the in the Zebrafish, *Brachydanio rerio*. **Fac. Fish. Hokkaido Univ.** v. 18(2), p. 57-65. 1977

THALER, Joshua P.; SCHWARTZ, Michael W. Minireview: Inflammation and Obesity Pathogenesis: The Hypothalamus Heats Up. **Endocrinology**, v. 151, n. 9, p. 4109–4115, 1 set. 2010.

TINGAUD-SEQUEIRA, Angèle; OUADAH, Nafia; BABIN, Patrick J. Zebrafish obesogenic test: a tool for screening molecules that target adiposity. **Journal of Lipid Research**, v. 52, n. 9, p. 1765–1772, set. 2011.

VAZ, Rita L.; OUTEIRO, Tiago F.; FERREIRA, Joaquim J. Zebrafish as an Animal Model for Drug Discovery in Parkinson's Disease and Other Movement Disorders: A Systematic Review. **Frontiers in Neurology**, v. 9, 1 jun. 2018.

SISTEMA DE VIGILÂNCIA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS POR INQUÉRITO TELEFÔNICO (VIGITEL). **Vigitel 2006-2023: prática de atividade física. 2023**. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigitel/vigitel-2006-2023-pratica-de-atividade-fisica/view>. Acesso em: 02 ago. 2025.

SISTEMA DE VIGILÂNCIA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS POR INQUÉRITO TELEFÔNICO (VIGITEL). **Vigitel Brasil 2006-2023: estado nutricional e consumo alimentar. 2024**. Disponível em: www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigitel/vigitel-2006-2023-estado-nutricional-e-consumo-alimentar. Acesso em: 02 ago. 2025.

VILELA, Wembley Rodrigues *et al.* Early-life metabolic dysfunction impairs cognition and mitochondrial function in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 117, p. 109352, jul. 2023.

WANDERLEY, Emanuela Nogueira; FERREIRA, Vanessa Alves. Obesidade: uma perspectiva plural. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, n. 1, p. 185–194, jan. 2010.

ZANG, Liqing; MADDISON, Lisette A.; CHEN, Wenbiao. Zebrafish as a Model for Obesity and Diabetes. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 6, 20 ago. 2018.

ZHOU, Juan *et al.* Rapid analysis of hypolipidemic drugs in a live zebrafish assay. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 72, p. 47–52, mar. 2015.

Brasília, 18 de setembro de 2024.

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado **“Efeito da dieta rica em gordura sobre desfechos metabólicos e do neurodesenvolvimento da prole do peixe-zebra”**, SEI nº 23106.075530/2024-12, sob responsabilidade do(a) pesquisador(a) **Jair Trapé Goulart, (jair.goulart@unb.br)**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

Esse projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília na 222ª reunião ordinária, em **17/09/2024** para fins de **PESQUISA** e para utilização de **Danio rerio (Peixe-zebra, 6120 larvas – de 0 a 30 dias, 1536 juvenis – de 1 a 12 meses e 1024 adultos – de 3 a 12 meses, sendo estes últimos 512 machos e 512 fêmeas)** provenientes do(a) Biotério Aquático de peixe-zebra do Departamento de Genética e Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas.

O presente certificado é válido pelo período de **18/09/2024 a 31/12/2030**.



Dr. Bruno Stéfano Lima Dallago
Coordenador da CEUA – UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.