

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica  
ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

## EFEITOS DA INFUSÃO DAS FOLHAS DE MORUS ALBA LINN NO PESO CORPORAL E PERFIL LIPÍDICO DE RATAS OVARIETOMIZADAS<sup>1</sup>

### EFFECTS OF MORUS ALBA LINN LEAF INFUSION ON BODY WEIGHT AND LIPID PROFILE OF OVARIETOMIZED RATS

João Vinícius Müller Kaufmann<sup>2</sup>, Brenda da Silva<sup>3</sup>, Gabriela Elisa Hirsch<sup>4</sup>, Evelise Moraes Berlezi<sup>5</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida) - UNIJUI

<sup>2</sup> Aluno do curso de graduação em Farmácia da UNIJUI, bolsista PIBIC/CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF. joaovmkaufmann@gmail.com

<sup>3</sup> Aluna do curso de mestrado em Atenção Integral à Saúde - UNIJUI/UNICRUZ, bolsista CAPES, Grupo de Pesquisa em Envelhecimento Humano - GERON, brenda.s@sou.unijui.edu.br

<sup>4</sup> Pós-doutoranda em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF. ehgabis@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Professora do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida) - UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Envelhecimento Humano - GERON, evelise@unijui.edu.br

<sup>6</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida) - UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Orientador. thiago.heck@unijui.edu.br

## INTRODUÇÃO

O climatério é um evento natural e fisiológico do organismo feminino, ocorre entre os 35 e 65 anos de idade e se caracteriza perda de atividade folicular ovariana, levando ao declínio dos níveis de estrogênio, em particular do 17 $\beta$ -estradiol (E2) (NOBLE, 2018). No endotélio vascular, o estrogênio promove uma significativa redução dos lipídios plasmáticos, incluindo colesterol total (CT), triglicerídeos (TG) e lipoproteína de baixa densidade (LDL) (MARUOKA *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2015). Neste sentido, a redução da produção de estrogênio, como ocorre durante o climatério, resulta em alterações metabólicas e biométricas, como o ganho de peso e adiposidade central, que podem aumentar o risco de doença cardiovascular (YUNG *et al.*, 2013). Há muito tempo tem se buscado alternativas terapêuticas para o tratamento dos sintomas do climatério, onde, por exemplo, as plantas medicinais desempenham um importante papel na manutenção da saúde, devido ao seu fácil acesso, baixo custo e origem natural (MESSIAS *et al.*, 2015). Neste contexto, a *Morus alba* Linn., popularmente conhecida como "amora branca", vem sendo estudada devido ao seu potencial terapêutico de proteção cardiovascular e tratamento dos distúrbios associados à menopausa (ENKHMAA *et al.*, 2005; NAOWABOOT *et al.*, 2009a; NAOWABOOT *et al.*, 2009b; PADILHA, *et al.*, 2010; JÚNIOR *et al.*, 2017). Até o momento há poucos estudos que avaliem os efeitos do uso prolongado da infusão de *M. alba* no peso corporal e perfil lipídico em um modelo animal de menopausa, que possa justificar ou não o seu uso crônico. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento crônico com a infusão de *M. alba* sobre o perfil lipídico e peso corporal em modelo animal de menopausa.

## METODOLOGIA

Foram utilizadas 33 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), de 8 meses de idade, obtidas do Biotério da Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul (UNIJUI). Os animais foram mantidos sob temperatura controlada (22  $\pm$  2° C) com um ciclo claro-escuro de 12 horas, consumo alimentar e hídrico *ad libitum*. Inicialmente, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: OVX (n=16), que passou por ovariectomia, e SHAM (n=17), que passou pela

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

falsa cirurgia, com exposição e reposicionamento dos ovários. Transcorridas 12 semanas após o procedimento cirúrgico, os mesmos animais foram randomizados em quatro grupos, onde SHAM foi dividido em Controle (n=7) e *M. alba* (n=10), e o OVX foi dividido em OVX (n=9) e em OVX + *M. alba* (n=7). Os grupos *M. alba* e OVX + *M. alba* receberam, por 12 semanas, o tratamento com a infusão das folhas da planta (0,75%) *ad libidum*, enquanto que os grupos Controle e OVX receberam água durante todo o período de tratamento (24 semanas). Este protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da UNIJUÍ (CEUA 003/2019). As folhas de *M. alba* foram obtidas comercialmente através da empresa Gama Comércio, Importação e Exportação LTDA. (Chácara Monte Alegre, São Paulo, SP, Brasil). A infusão foi preparada diariamente na concentração de 0,0075 mg/mL de água potável à  $80 \pm 2$  °C. A cada preparo, a infusão foi coberta com um vidro de relógio à temperatura ambiente por 10 minutos, posteriormente filtrada com papel filtro e administrada para os animais *ad libidum* (WILSON; ISLAM, 2015). Os animais foram avaliados quanto ao peso corporal anteriormente à realização dos procedimentos cirúrgicos (ovariectomia), antes do início do tratamento e semanalmente após o início dos tratamentos. Para a análise do perfil lipídico o sangue total foi coletado no momento da eutanásia por decapitação dos animais (12<sup>o</sup> semana de tratamento), utilizando ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA) como anticoagulante na concentração de 2 mg/mL de sangue. Em seguida, o material foi centrifugado a 3000 r.p.m. por 15 minutos, e então separado o plasma para realização das dosagens bioquímicas. As concentrações de Colesterol Total (CT), HDL e Triglicerídeos (TG) foram mensuradas pelos métodos enzimáticos utilizando kits comerciais Labtest Diagnóstica S.A em equipamento semiautomático, de acordo com as instruções do fabricante. O valor de LDL foi calculado utilizando a fórmula de Friedewald ( $LDL = CT - HDL - VLDL$ ) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Para a análise dos resultados foi realizado ANOVA de uma via, seguido de pós teste de Tukey considerando um  $P < 0,05$  como significativo, o software utilizado foi o GraphPad 7.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar o peso médio, nota-se que a ovariectomia induziu um aumento do peso corporal nos animais ao longo das semanas de experimentação. No entanto, não foi observado efeito da infusão de *M. alba* (Figura 1).

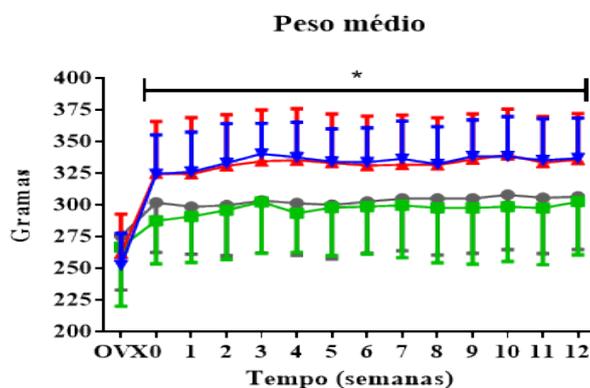
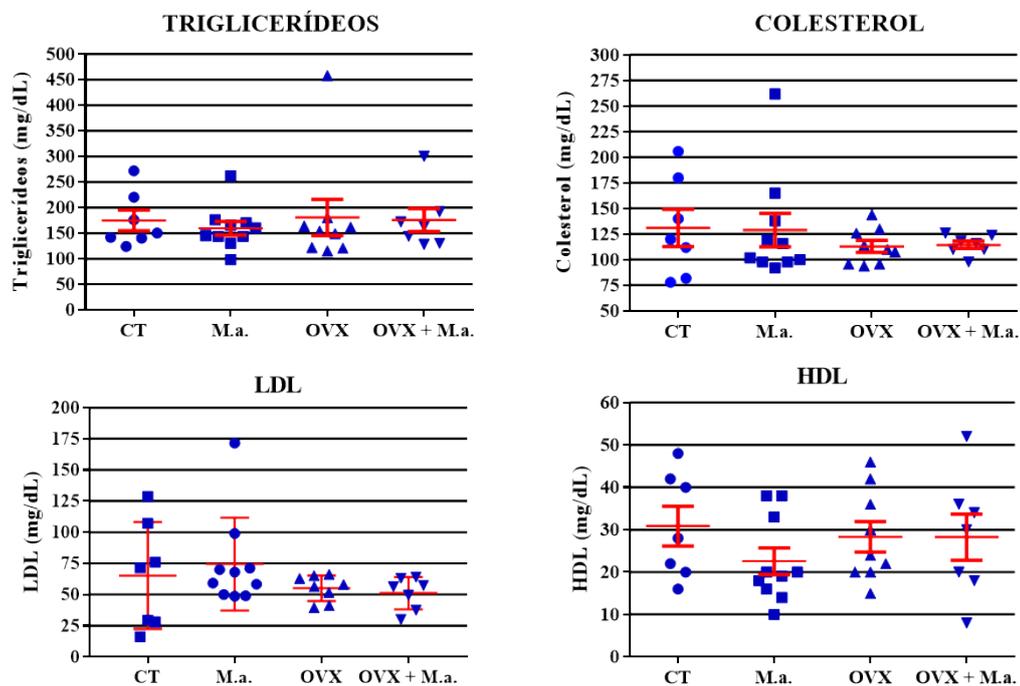


Figura 1 - Avaliação semanal do peso médio dos animais pré e 12 semanas pós-ovariectomia. Para avaliação estatística foi realizado ANOVA de uma via seguida de pós teste de Tukey, considerando um  $P < 0,05$  como significativo. Resultados expressos em média e desvio padrão. Legenda: ● Controle; ■ *M. alba*; ▲ OVX; ▼ OVX + *M. alba*. \* Há diferença estatística significativa ao comparar o grupo Controle vs OVX, Controle vs OVX+*M. alba*, *M. alba* vs OVX, *M. alba* vs OVX + *M. alba*.

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

Embora a *M. alba* seja utilizada popularmente na prevenção dos efeitos do climatério, no nosso estudo, ela não alterou o ganho de peso induzido pela ovariectomia. Nesse sentido, outros estudos também demonstraram que o chá ou extrato de *M. alba* não alterou o peso corporal de ratos alimentados com ração hiperlipídica (EL-BESHBISHY *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2011; WILSON; ISLAM, 2015; YUAN; ZHAO, 2017). Buscou-se comparar os resultados do perfil lipídico com demais trabalhos que abordassem estes parâmetros, e nota-se que os resultados do presente estudo estão acima da média dos demais, para todos os grupos (DINIZ *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2014; DELAWATTA *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2018). Conforme na Figura 2, o perfil lipídico não foi alterado pela ovariectomia, tampouco pela infusão de *M. alba*. Talvez, para que essa ação fosse possível, os animais teriam que partir de uma condição metabólica mais comprometida, ou seja, de um tempo maior de privação de estrogênio.



**Figura 2 - Perfil lipídico dos diferentes grupos na 12ª semana de tratamento com infusão de *M. alba*.** Para avaliação estatística foi realizado ANOVA de uma via seguido de pós teste de Tukey, considerando um  $P < 0,05$  como significativo. Resultados expressos em média e desvio padrão. Legenda: CT - Controle; M.a. - *M. alba*; OVX - Ovariectomizadas; OVX+M.a. - Ovariectomizadas + *M. alba*. Triglicerídeos ( $P = 0,0535$ ), Colesterol ( $P = 0,6765$ ), LDL ( $P = 0,3892$ ), HDL ( $P = 0,5134$ ).

Em um modelo animal de diabetes conduzido por WILSON & ISLAM (2015), verificou-se que o chá das folhas da *M. alba*, na concentração de 0,5%, apresentou efeitos hipolipemiantes, e que, segundo ENKHMAA *et al.* (2005), esse efeito parece estar envolvido com as grandes quantidades de compostos fenólicos que a planta apresenta. No estudo de JÚNIOR *et al.* (2017) com animais diabéticos, o extrato etanólico das folhas na concentração de 200 e 400 mg/kg demonstrou a capacidade de diminuir significativamente os níveis de TG, CT e VLDL comparado com o grupo controle.

No entanto, o que se torna evidente é que apesar das evidências do potencial hipolipimiente da

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

*M. alba*, essa ação não foi observada no nosso estudo. As possíveis limitações dos achados deste estudo podem estar relacionadas ao fato de que a infusão (chá) faz o uso da água como solvente, a qual apresenta uma polaridade intermediária, e por isto não consegue extrair com maior eficiência todos os compostos bioativos da planta para um efeito observável no organismo. Aliado a isso, a administração da infusão foi realizada ad libidum e não por gavagem, dificultando a precisão da dose ingerida pelos animais e os seus efeitos no perfil lipídico.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A administração *ad libidum* da infusão das folhas da *M. alba* não demonstrou efeito sobre o ganho de peso corporal e o perfil lipídico dos animais no modelo de menopausa (ovariectomia).

**Palavras-chave:** Planta medicinal; menopausa; peso corporal; hiperlipidemia.

**Keywords:** Medicinal plant; menopause; body weight; hyperlipidemia.

### REFERÊNCIAS

- DELWATTA, S. L. et al. Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Animal models and experimental medicine*, v. 1, n. 4, p. 250-254, 2018.
- DINIZ, M. F. F. de et al. Padronização dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de camundongos Swiss e ratos Wistar. *Rev. bras. ciênc. saúde*, p. 171-176, 2006.
- EL-BESHBISHY, H. A. et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. *Life sciences*, v. 78, n. 23, p. 2724-2733, 2006.
- ENKHAMAA, B. et al. Mulberry (*Morus alba* L.) leaves and their major flavonol quercetin 3-(6-malonylglucoside) attenuate atherosclerotic lesion development in LDL receptor-deficient mice. *The Journal of nutrition*, v. 135, n. 4, p. 729-734, 2005.
- FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.
- JÚNIOR, I. I. da S. et al. Brazilian *Morus nigra* attenuated hyperglycemia, dyslipidemia, and prooxidant status in alloxan-induced diabetic rats. *The Scientific World Journal*, v. 2017, 2017.
- LEE, Y. J. et al. Hypotensive, hypolipidemic, and vascular protective effects of *Morus alba* L. in rats fed an atherogenic diet. *The American journal of Chinese medicine*, v. 39, n. 01, p. 39-52, 2011.
- LI, H. et al. Estradiol mediates vasculoprotection via  $ERR\alpha$ -dependent regulation of lipid and ROS metabolism in the endothelium. *Journal of molecular and cellular cardiology*, v. 87, p. 92-101, 2015.
- LIMA, C. M. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. *Scientia Plena*, v. 10, n. 3, 2014.
- LIMA, F. E. G. et al. Perfil bioquímico de ratos Wistar do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. *Ci. Anim*, p. 1-11, 2018.
- MARUOKA, R. et al. Ovarian estradiol production and lipid metabolism in postmenopausal women. *Menopause*, v. 21, n. 10, p. 1129-1135, 2014.
- MESSIAS, M. C. T. B. et al. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. *Revista brasileira de plantas medicinais*, v. 17, n. 1, p. 76-104, 2015.
- NAOWABOOT, J. et al. Antihyperglycemic, antioxidant and antiglycation activities of mulberry

**Evento:** XXVIII Seminário de Iniciação Científica

**ODS:** 3 - Saúde e Bem-estar

leaf extract in streptozotocin-induced chronic diabetic rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 64, n. 2, p. 116-121, 2009 (a).

NAOWABOOT, J. et al. Mulberry leaf extract restores arterial pressure in streptozotocin-induced chronic diabetic rats. *Nutrition Research*, v. 29, n. 8, p. 602-608, 2009 (b).

NOBLE, N. Symptom management in women undergoing the menopause. *Nursing Standard* (2014+), v. 32, n. 22, p. 53, 2018.

PADILHA, M. M. et al. Antiinflammatory properties of *Morus nigra* leaves. *Phytotherapy Research*, v. 24, n. 10, p. 1496-1500, 2010.

WILSON, R. D.; ISLAM, M. S. Effects of white mulberry (*Morus alba*) leaf tea investigated in a type 2 diabetes model of rats. *Acta Pol Pharm*, v. 72, n. 1, p. 153-60, 2015.

YUAN, Q.; ZHAO, L. The Mulberry (*Morus alba* L.) Fruit: A Review of Characteristic Components and Health Benefits. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 65, n. 48, p. 10383-10394, 2017.

YUNG, Lai-Ming et al. Chronic cranberry juice consumption restores cholesterol profiles and improves endothelial function in ovariectomized rats. *European journal of nutrition*, v. 52, n. 3, p. 1145-1155, 2013.

**Parecer CEUA:** 003/2019