

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS

Brenda da Silva¹, Gabriele Maria Callegaro Serafini², Paola Andressa das Chagas Barella³

Ana Paula Fell⁴, Ana Gabriela Tamiozzo⁵, João Vinícius Müller Kaufmann⁶

Felipe Rafael Passos⁷, Matias Nunes Frizzo⁸, Evelise Moraes Berlezi⁹

Thiago Gomes Heck¹⁰

Destaques: (1) *Morus alba* tem potencial ansiolítico e antioxidante *in vitro*, sem sinais de toxicidade. (2) A infusão não altera o ganho de peso corporal induzido pela privação de estrogênio. (3) A infusão não reverteu as alterações bioquímicas e oxidativas induzidas pelo modelo.

PRE-PROOF

(as accepted)

Esta é uma versão preliminar e não editada de um manuscrito que foi aceito para publicação na Revista Contexto & Saúde. Como um serviço aos nossos leitores, estamos disponibilizando esta versão inicial do manuscrito, conforme aceita. O artigo ainda passará por revisão, formatação e aprovação pelos autores antes de ser publicado em sua forma final.

<http://dx.doi.org/10.21527/2176-7114.2026.51.16436>

¹ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS-UNIJUÍ/UNICRUZ/URI-Erechim). Ijuí/RS, Brasil. Universidade Federal de Santa Maria. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Santa Maria/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-8879-3353>

² Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-6202-5612>

³ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-3917-9282>

⁴ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-4999-7919>

⁵ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0009-0002-6272-4314>

⁶ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-8101-6140>

⁷ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0009-0006-2176-4191>

⁸ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Programa de Pós-graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS-UNIJUÍ/UNICRUZ/URI-Erechim). Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-5578-4656>

⁹ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Programa de Pós-graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS-UNIJUÍ/UNICRUZ/URI-Erechim). Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-1441-9294>

¹⁰ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Programa de Pós-graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS-UNIJUÍ/UNICRUZ/URI-Erechim). Ijuí/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-1242-5423>

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS

Como citar:

da Silva B, Serafini GMC, Barella PA das C, Fell AP, Tamiozzo AG, Kaufmann JVM. et al. Efeitos da infusão de *Morus alba* em parâmetros bioquímicos, toxicológicos e comportamentais em ratas ovariectomizadas. Rev. Contexto & Saúde. 2026;26(51):e16436

RESUMO

A *Morus alba* popularmente conhecida como Amora branca é utilizada tradicionalmente para o tratamento de condições frequentemente associados à menopausa. Na perspectiva de conhecer os potenciais efeitos que atuem sobre estes sintomas o objetivo deste estudo foi primeiramente estabelecer a atividade antioxidante *in vitro* da infusão de *M. alba*. Posteriormente objetivou-se avaliar se o consumo da infusão de *M. alba* induz alterações bioquímicas, hematológicas, antioxidantes e comportamentais em um modelo animal de menopausa. Para isso, foi conduzido um estudo experimental realizado com 33 ratas *Wistar*, com 32 semanas de idade. Os animais foram randomizados em dois grupos; ovariectomizadas (OVX) e falsa cirurgia (SHAM) e após 12 semanas passaram a receber a infusão das folhas de *M. alba* (*M. alba*, OVX+*M. alba*) ou água *ad libitum* (Controle, OVX) por 12 semanas. A infusão das folhas de *M. alba* apresentou potencial antioxidante *in vitro*. A privação de estrogênio promoveu incremento de peso corporal, independentemente da administração da infusão de *M. alba*. Neste estudo, evidenciou-se que mesmo em pequena concentração a planta desempenha potencial antioxidante sem apresentar efeitos tóxicos, além de atuar como ansiolítico no modelo experimental. Desse modo, embora muitos estudos demonstrem que a planta possui potencial terapêutico para tratamento de distúrbios associados à menopausa, neste modelo não foram observadas alterações em parâmetros bioquímicos e oxidativos.

Palavras-chave: Menopausa; Plantas Medicinais; Estrogênios; Morus; Ovariectomia.

1 INTRODUÇÃO

A menopausa é um evento fisiológico decorrente da insuficiência folicular ovariana em produzir estrogênio, este hormônio está envolvido na homeostase dos mais diversos processos fisiológicos em diferentes órgãos ¹. Destacando-se a manutenção de processos fisiológicos, desenvolvimento e função do sistema reprodutivo, proteção e

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

manutenção do sistema cardiovascular, imune, antioxidante, regulação da deposição de gordura corporal e modulação e proteção do sistema nervoso central. Deste modo, após a menopausa, mulheres estão mais propensas a desenvolver distúrbios cardiometabólicos e alterações cognitivo-comportamentais em virtude do decréscimo nos níveis de estrogênio circulantes ².

Neste contexto, a fitoterapia vem ganhando espaço e despertando interesse devido ao seu potencial terapêutico. No Brasil, o Ministério da Saúde construiu a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), que consiste em uma relação de espécies vegetais com potencial terapêutico pra geração de produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde ³. A partir disso, o gênero *Morus* spp. foi incluído na RENISUS devido ao seu potencial terapêutico associado aos distúrbios provocados pela menopausa. A *Morus alba* (*M. alba*), popularmente conhecida como Amoreira Branca é uma planta originária da China e amplamente distribuída em regiões de clima temperado quente, tropical, subtropical e mediterrâneo ^{4;5}. Na medicina popular chinesa, as folhas, frutos e caules são utilizados no tratamento de hipercolesterolemia, como sedativo, expectorante, analgésico, diurético, protetor hepático e renal, hipotensor e antiepilético ^{5;6}. No Brasil, a planta é utilizada tradicionalmente para o tratamento de sintomas associados à menopausa, devido ao seu potencial terapêutico para controle dos calorões e reposição hormonal na menopausa. Além disto, na medicina popular a planta é utilizada para melhora do colesterol, controle do diabetes e emagrecimento por mulheres menopausadas ⁴. Na literatura científica, até o momento, não há estudos que descrevem os efeitos do consumo de infusão de *M. alba* sobre modelos experimentais de menopausa.

Estudos prévios identificaram que diferentes extratos das folhas de *M. alba* são ricos em flavonóides e glicosídeos incluindo a quercetina, astragalina, canferol, isoquercetina e rutina, entre outros fitoquímicos ⁴. Wei e colaboradores ^{4et} demonstraram que o tratamento com canferol, oriundo das folhas de *M. alba*, reduz a apoptose de células granulosas *in vitro* e *in vivo* e reverte a insuficiência ovariana, promovendo um aumento na secreção de estrogênio e progesterona em modelo de menopausa em animais envelhecidos. Além disso, o consumo de diferentes tipos de extratos da planta demonstraram redução de níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol total (CT) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), aumentaram a concentração plasmática

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS

de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e reduziram a pressão arterial diastólica em mulheres menopausadas ⁴. Considerando os possíveis efeitos benéficos da *M. alba* para mulheres na menopausa, e o registro do consumo chás desta planta no Brasil, este estudo teve como objetivo inicial estabelecer a atividade antioxidante *in vitro* da infusão de *M. alba* e posteriormente avaliar se o consumo da infusão de *M. alba* induz alterações bioquímicas, hematológicas, antioxidantes e comportamentais em um modelo animal de menopausa.

2 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo experimental envolvendo modelo animal realizado com 33 *Ratas Wistar*, fêmeas, com 32 semanas de idade; obtidas do Biotério da Universidade do Noroeste do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ). Este protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNIJUÍ (CEUA 003/2019).

2.1 Desenho Experimental

Os animais foram mantidos no Biotério da UNIJUÍ sob temperatura controlada (22 ± 2 ° C), ciclo claro-escuro (claro das 7:00 às 19:00) e umidade relativa do ar mantida entre 50-60%. Os animais receberam água e alimentos *ad libitum*.

As *Ratas Wistar* foram inicialmente avaliadas quanto ao perfil biométrico, glicêmico e randomizadas em dois grupos; ovariectomizadas (OVX, n = 16) e falsa cirurgia (SHAM, n = 17). Transcorridos 12 semanas de pós-operatório os animais foram randomizados em outros quatro grupos: Controle (n=7), *M. alba* (n=10), OVX (n=9) e OVX + *M. alba* (n=7), sendo que os animais dos grupos *M. alba* e OVX+ *M. alba* passaram a receber a infusão das folhas de *M. alba* como fonte hídrica exclusiva durante 12 semanas. Durante todo o período de estudo foram obtidos semanalmente dados biométricos de todos os animais; e mensalmente dados glicêmicos. Na 12ª semana de tratamento experimental os animais foram avaliados quanto ao seu perfil comportamental de ansiedade, depressão e memória de curto prazo.

Os animais foram eutanasiados 48 horas após a última oferta de infusão de *M. alba* para coleta de material biológico para as dosagens bioquímicas e toxicológicas. Para

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS

avaliação da morfometria tecidual foram coletados fígado, baço, rins, tecido adiposo, músculo gastrocnêmio, sóleo e útero.

2.2 Análise fitoquímica e preparo da Infusão das folhas de *M. alba*

2.2.1 Obtenção do Material Vegetal e Preparo da Infusão

As folhas secas da planta foram adquiridas comercialmente através da empresa Kitt Med Laboratórios LTDA – Campo Largo, PR. As folhas de *M. alba* foram colhidas no mês de março de 2019 com validade de 03/2020, no município de Mandirituba -PR e passaram por processo de secagem em estufa. Foram realizadas análises físico-químicas (material estranho: 6,72%, umidade: 7,08% e cinzas: 5,12%) e microbiológicas (*Salmonella* spp: ausência em 25g, Coliformes Totais a 45°C < 3 NMP/g).

A infusão foi preparada diariamente considerando-se a concentração de 7,5 mg de folhas secas de *M. alba* por ml de água potável à 80 ± 2 °C, o conteúdo era deixado em infusão coberto com um vidro de relógio à temperatura ambiente por um período de 10 minutos, posteriormente filtrado com papel filtro e ofertado aos animais por via oral, como fonte hídrica exclusiva.

2.2.2 Determinação da concentração efetiva 50% da infusão e Teor de Fenóis totais

A determinação da capacidade antioxidante *in vitro* e a concentração efetiva (CE50), foram realizadas baseando-se na atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), de acordo com o descrito por Sousa et al., 2007⁷, utilizando-se a infusão das folhas da planta. Para determinação da CE50 foram utilizadas concentrações crescentes de 0.10 g, 0.25 g, 0.50 g, 0.75 g, 1.0 g, 1.25 g e 1.5 g de folhas.

A determinação do teor de fenóis totais foi realizada através do método de Folin Ciocalteu conforme o descrito por Rangel et al., 2013, utilizando-se a concentração de 0.75g⁸. O padrão utilizado foi o ácido gálico (AG) e o resultado foi expresso em equivalentes de AG (mgE/AG).

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

2.3 Procedimento Experimental *in vivo*

2.3.1 Procedimento cirúrgico, anestésico e analgésico

O procedimento cirúrgico foi realizado em ambiente hospitalar e envolveu para o grupo OVX a remoção bilateral dos ovários acessados por incisão longitudinal da pele e da musculatura na região caudal à última costela e próxima ao nível do rim. Os animais SHAM tiveram seus ovários identificados e expostos cirurgicamente que a seguir reposicionados para posterior sutura subcutânea da musculatura e pele previamente incisadas. Para a realização do procedimento cirúrgico os animais foram submetidos à anestesia utilizando-se como pré-anestésica petidina 15 mg/kg IP; isoflurano a 4% e 2% por via inalatória para indução e manutenção respectivamente; por fim, no pós operatório imediato e 24 horas após os animais receberam uma dose de Meloxicam 2mg/kg por via subcutânea.

2.3.2 Determinação do perfil biométrico

Para a determinação do perfil biométrico, os animais foram monitorados semanalmente quanto ao seu peso e quinzenalmente foi realizada a aferição da massa corporal total, as medidas das circunferências abdominal, torácica e do comprimento nasoanal utilizando-se fita métrica inextensível. O Índice de *Lee* foi determinado a partir da raiz cúbica do peso corporal (g)/ comprimento nasoanal (cm), considerando como ponto de corte para determinar obesidade 0,30 g/cm. A Relação Abdôme-Tórax (RAT) foi determinada utilizando-se a seguinte fórmula $RAT = \frac{\text{Circunferência abdominal}}{\text{circunferência torácica}}$ ⁹. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado através da seguinte fórmula: $IMC = \frac{\text{Peso (g)}}{\text{comprimento naso-anal (cm}^2\text{)}}$. O ponto de corte estabelecido para este indicador para a normalidade de peso varia entre 0,45 e 0,68/cm²

¹⁰.

2.3.4 Determinações Sanguíneas

2.3.4.1 Coleta de Material Biológico

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIECTOMIZADAS

O sangue foi coletado, a partir de eutanásia por decapitação, em tubo com anticoagulante EDTA. Imediatamente após a coleta, o sangue foi centrifugado em microcentrífuga Minispin® Plus Eppendorff a 3500 rpm durante 15 minutos para obtenção do plasma. As amostras de plasma foram aliquotadas e congeladas em nitrogênio líquido para posterior dosagem.

2.3.4.2 Hemograma

O sangue total foi colhido em tubo com anticoagulante (EDTA) para determinação dos parâmetros hematológicos e índices hematimétricos (5µl de EDTA, para cada 500 µl de sangue). Para a determinação automatizada foi utilizado o analisador hematológico Micros 60 (Horiba), seguindo as recomendações do fabricante. Após, foram realizadas distensões hematológicas em lâmina, corados com coloração panótica (Newprov), a partir disto realizou-se a microscopia, considerando-se para cada lâmina uma contagem de 100 células em campos distintos.

2.3.4.3 Avaliação bioquímica

A determinação do perfil lipídico dos animais (CT, LDL, VLDL, HDL e Triglicerídeos), fosfatase alcalina, alanina transaminase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatinina, ureia e gamaglutamiltranspeptidase (GGT) foram realizadas por metodologia colorimétrica, utilizando-se kits comerciais Bioclin – Quibasa e realizadas através da automação BS200-Mindray. Os resultados foram expressos em mg/dl. Os testes de tolerância à glicose (GTT) foram realizados em todos os grupos experimentais no tempo zero, na 4^a, 8^a e 12^a semana de tratamento com os animais em jejum de 12 horas. Para a realização do teste foi preparada uma solução de glicose 80% (m/v) e administrada na concentração 1g/kg, por via intraperitoneal. Para a obtenção da curva glicêmica, o valor da glicemia em jejum foi mensurado nos tempos 0, 15, 30 e 120 minutos após a injeção de glicose. As medidas da glicemia foram feitas com sangue total em punção na veia lateral da cauda dos animais, usando aparelho de leitura glicêmica capilar, glicosímetro *On Call Plus*. Os resultados foram expressos em mg/dl ⁹.

2.3.4.4 Dosagem de 17β estradiol

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS

A dosagem de 17β estradiol (E2) foi realizada utilizando-se amostra de plasma para dosagem quantitativa por metodologia de quimioluminescência, com sensibilidade e limites do ensaio *in vitro* entre 11,8 e 3.000 pg/ml.

2.3.4.5 Parâmetros Oxidativos

A análise da atividade da superóxido dismutase (SOD) foi realizada pela técnica de inibição da auto-oxidação do pirogalol a 420 nm, por 120 segundos¹¹. Os resultados foram expressos em U de SOD/ml. A atividade da catalase (CAT) foi realizada de acordo com o descrito por Aebi (1984) e os resultados foram expressos em U de CAT/ml.¹² A razão SOD/CAT foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula: $[\text{USOD/ml}] / [\text{USOD/ml}]$ ¹³. A determinação da peroxidação lipídica foi realizada pela técnica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) utilizando-se plasma¹⁴. Para mensurar o TBARS, foi realizada precipitação de proteínas plasmáticas utilizando-se ácido tricloroacético à 10%, centrifugados e incubados com ácido tiobarbitúrico (1:1) (Sigma, Chem. Co.) por 15 minutos à 100 °C. O TBARS foi extraído utilizando butanol (1:1). Após centrifugação, a absorbância da camada de butanol foi mensurada por espectrofotometria à 535 nm e a concentração de TBARS foi expressa em mmol de MDA/mg de proteínas¹⁵.

2.3.5 Avaliações Comportamentais

Para a realização de todos os testes comportamentais, os animais foram aclimatizados ao laboratório de experimentação por um período prévio de 1 hora antes da realização dos testes e mantidos sem a presença do pesquisador. Durante a realização dos experimentos manteve-se uma temperatura constante de 22 ± 2 °C, controle de luminosidade, ruído e sons, além de que, o pesquisador manteve-se longe do campo de visão dos animais durante todo o período de teste. Foi realizada a limpeza dos aparatos utilizando-se álcool 70% entre um animal e outro, todos os testes foram gravados utilizando-se câmera digital e analisados posteriormente utilizando-se o *software Any Maze* ©.

2.3.5.1 Avaliação de Ansiedade Campo Aberto

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

O teste foi realizado em aparato desenvolvido em MDF medindo 60x40cm (largura/altura) e recapado com adesivo branco, o chão do aparato foi dividido em 25 quadrantes medindo 12x12 cm cada um. Neste teste, os comportamentos avaliados foram: distância percorrida, tempo gasto em movimento, frequência de *grooming* e tempo gasto no centro do aparato durante 5 minutos de teste. Os animais passaram por um período de adaptação 24 horas antes da realização dos testes, durante 5 minutos para livre exploração do aparato ¹⁶.

2.3.5.2 Labirinto em Cruz Elevado

Os animais foram colocados em um aparato de madeira em formato de cruz, contendo dois braços abertos (10x50cm), dois braços fechados (10x50cm) e elevado à 50cm do chão. Onde durante um período de 5 minutos foram observadas frequência de entrada e tempo gasto nos braços abertos, braços fechados e área neutra (central), levantar/esticar (*Rearings*), *head dip*, *grooming*. A entrada do animal nos braços foi considerada quando o mesmo colocou os quatro membros dentro deste ¹⁶.

2.3.5.3 Claro e Escuro

O teste foi realizado colocando-se os animais em um aparato de madeira MDF recapado por adesivo contendo um lado claro (45 x 41 cm) e um lado escuro (35 x 41 cm) com uma abertura central (12x14 cm) entre os compartimentos que permitia livre acesso a ambos os lados do aparato. Durante um período de 5 minutos foram avaliados o número de transições, tempo de latência para entrar no lado escuro e tempo de permanência nos compartimentos de teste ¹⁶.

2.3.5.4 Teste de Reconhecimento de Objetos

O teste foi realizado em duas fases, na primeira o animal foi colocado no aparato na presença de dois objetos iguais para familiarizar-se com eles, após retornou-se este animal à sua gaiola por 30 minutos. Na segunda etapa, o animal foi recolocado no ambiente junto a dois objetos: um já familiarizado (antigo) e um novo, registrando-se o tempo que o animal explorou cada objeto. Os animais passaram por um período de adaptação 24 horas antes da realização dos testes, onde permaneceram no aparato durante

5 minutos para livre exploração sem a presença dos objetos. O aparato de teste foi construído em madeira MDF medindo 60x40 cm (largura/altura) e recapado com adesivo branco, os objetos escolhidos foram fixados ao fundo do aparato e construídos em plástico

¹⁶.

2.3.5.5 Avaliação de Estado Depressivo Natação Forçada

O teste da natação ou do nado forçado (*Forced Swimming Test*) foi realizado colocando-se o animal em um tubo plástico cilíndrico (25x51cm) preenchido com água (25±1°C) a uma profundidade de 30 cm durante 5 minutos. Para realização deste teste os animais passaram por um período de adaptação prévia de 15 minutos, 24 horas antes da realização dos testes ¹⁶.

2.4 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão ou desvio padrão. Os dados foram testados quanto à normalidade através do teste de *Shapiro-Wilk* e a comparação entre os grupos foi realizada através do Teste T de *Student* e análise de variância de uma via seguido de pós teste de *Tukey* e seus correspondentes não paramétricos. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando *GraphPad Prism*, versão 5.0. O nível de significância foi fixado em $P < 0,05$.

3 RESULTADOS

Concentrações crescentes da infusão das folhas de *M. Alba* foram avaliadas pelo método de redução do radical DPPH, pelo qual foi observado que a concentração de 0,75g/100mL desempenha uma CE50% de 52,87% e contém um teor de fenóis totais de 159,39 mgE/AG. Evidenciando assim que mesmo em pequena concentração a planta desempenha potencial antioxidante *in vitro*.

Quanto aos animais, os grupos não apresentam diferença no peso corporal antes dos procedimentos experimentais ($P = 0,742$); após 12 semanas de pós cirúrgico observou-se diferença no peso corporal entre as ratas OVX e SHAM ($P = 0,026$) (Fig. 1A). Após o tratamento experimental observou-se diferença na RAT ($P = 0,014$) *M. alba*

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

vs OVX (Fig. 1B); IMC ($P < 0,0007$) *M. alba* vs OVX + *M. alba*. (Fig. 1C) e no Índice de Lee ($P = 0,049$) *M. alba* vs OVX + *M. alba* (Fig. 1D).

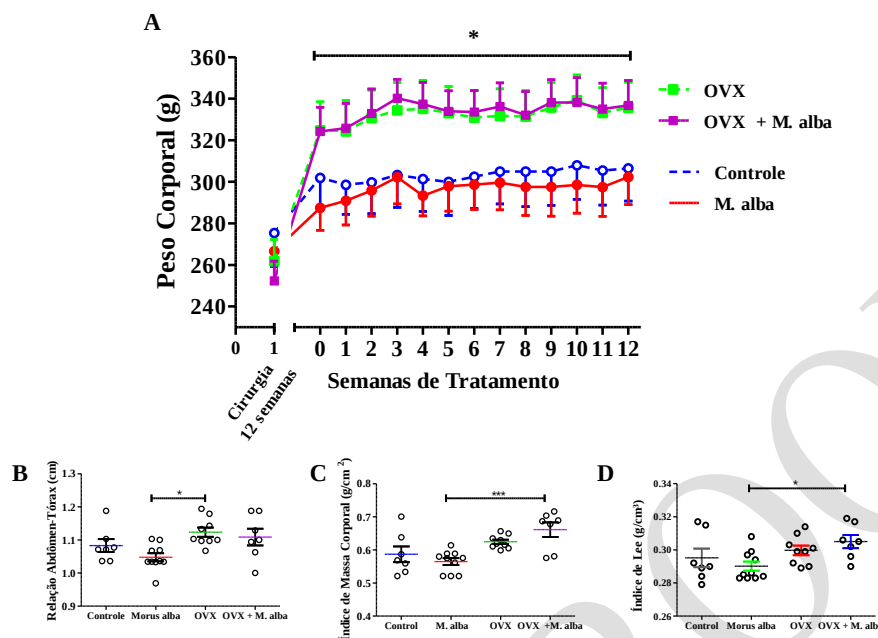


Figura 1. Perfil biométrico de animais submetidos à OVX e tratados com a infusão de *M. alba*. A= Peso corporal dos animais, B= Relação Abdomem Tórax, C= Índice de Massa Corporal e D= Índice de Lee. Os dados estão apresentados como média $\pm$ erro padrão, $n = 6-9$ por grupo, ANOVA de 1 via, seguida dos pós teste de Tukey, * = $P < 0,05$, *** = $P < 0,001$. Fonte: Os autores.

Não foi observada alteração no GTT durante o período de tratamento. A Figura 2 ilustra a tolerância à glicose antes do início do tratamento ($P = 0,323$) (Fig. 2A), 4^a semana de tratamento ($P = 0,458$) (Fig. 2B), 8^a semana de tratamento ($P = 0,227$) (Fig. 2C) e ao final do estudo na 12^a semana de tratamento ($P = 0,7783$) (Fig. 2D). Quando avaliados os gráficos A e D não se observa diferença entre os grupos antes e após o tratamento.

Quanto ao perfil bioquímico, não foram observadas alterações na glicemia de jejum, triglicerídeos, CT e frações (HDL, VLDL, LDL). Quanto a função hepática e renal (Tabela 1) dos parâmetros analisados somente foi observado discreto aumento de Alanina Transaminase no grupo OVX + *M. alba* vs Controle. Dos níveis de 17- β Estradiol ao final do estudo as ratas OVX apresentaram menores níveis hormonais quando comparado aos grupos SHAM, sem efeito do tratamento com *M. alba* (Tabela 1). Ademais, não se

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS

observaram diferenças no perfil oxidativo plasmático dos animais tratados e não tratados com a infusão de *M. alba*.

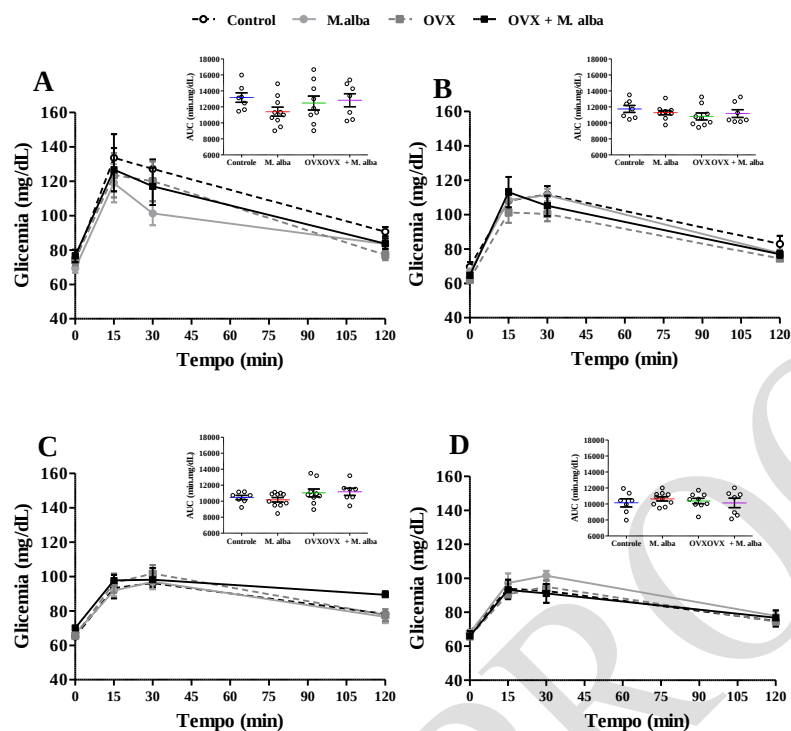


Figura 2. Resposta ao teste de tolerância à glicose em animais ovariectomizados tratados com a infusão das folhas de *M. alba*. A= Glicemia antes do início dos tratamentos, B= Glicemia na 4ª semana de tratamento, C= Glicemia na 8ª semana de tratamento e D= Glicemia na 12ª semana de tratamento. Os dados estão apresentados como média $\pm$ erro padrão, n= 6-9 por grupo, ANOVA de 1 via, seguida do pós teste de Tukey. Fonte: Os autores.

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

Tabela 1: Efeitos do tratamento com a infusão de *M. alba* em parâmetros bioquímicos, oxidativos e de morfometria tecidual em ratas Wistar ovariectomizadas.

	Controle	<i>M. alba</i>	OVX	OVX + <i>M. alba</i>	P
Colesterol (mg/dl)	131,1 ± 47,96	129,0 ± 51,85	113,1 ± 17,29	114,6 ± 9,57	0,905
HDL- Colesterol (mg/dl)	30,86 ± 12,43	22,60 ± 10,04	28,33 ± 10,82	28,29 ± 14,40	0,362
VLDL- Colesterol (mg/dl)	34,97 ± 10,64	31,88 ± 8,50	29,18 ± 4,76	35,11 ± 11,91	0,729
LDL- Colesterol (mg/dl)	65,31 ± 42,89	74,52 ± 37,28	55,20 ± 10,30	51,17 ± 12,98	0,415
Triglicerídeos (mg/dl)	174,9 ± 53,19	159,4 ± 42,51	180,60 ± 106,4	175,60 ± 59,52	0,934
Alanina Transaminase (U/L)	16,86 ± 8,39	20,90 ± 3,75	15,11 ± 3,18	19,57 ± 9,71*	0,043
Albumina	5,314 ± 1,83	4,620 ± 1,78	3,956 ± 1,61	3,956 ± 1,61	0,107
Aspartato Aminotransferase (U/L)	19,43 ± 7,98	25,00 ± 5,08	17,78 ± 3,53	21,57 ± 4,89	0,058
Creatinina (mg/dl)	0,40 ± 0,23	0,28 ± 0,10	0,23 ± 0,50	0,17 ± 0,57	0,638
17-β estradiol (pg/ml)	30,86 ± 12,43	22,60 ± 10,04	Indetectável***	Indetectável**	< 0,001
Fosfatase Alcalina (U/L)	3,29 ± 3,68	1,30 ± 0,48	2,89 ± 2,26	1,29 ± 0,49	0,367
Gamaglutamiltranspeptidase (U/L)	1,57 ± 0,53	1,50 ± 1,08	1,56 ± 1,01	1,43 ± 1,13	0,568
Glicemia (mg/dl)	67,14 ± 6,15	67,8 ± 4,96	66,44 ± 4,28	66 ± 7,70	0,920
Ureia (mg/dl)	32,57 ± 13,40	22,8 ± 6,55	25,33 ± 6,0	24,29 ± 3,90	0,104
Superóxido Dismutase (SOD)	15,03 ± 3,85	16,95 ± 7,98	16,67 ± 8,12	17,89 ± 7,9	0,799
Catalase (CAT)	24,37 ± 9,28	33,23 ± 24,78	28,46 ± 18,44	18,62 ± 9,45	0,808
Relação SOD/CAT	0,76 ± 0,54	0,73 ± 0,51	0,79 ± 0,6	1,31 ± 1,31	0,694
TBARS	12,93 ± 4,55	10,93 ± 7,49	15,5 ± 3,17	15,55 ± 3,69	0,514
<i>Morfometria tecidual</i>					
Baço (g)	0,273 ± 0,05	0,264 ± 0,02	0,242 ± 0,02	0,236 ± 0,04	0,126
Fígado (g)	3,069 ± 0,47	3,005 ± 0,22	2,502 ± 0,29**	2,508 ± 0,32*	< 0,001
Pâncreas (g)	0,437 ± 0,14	0,359 ± 0,16	0,288 ± 0,04*	0,292 ± 0,03*	0,016
Rins (g)	0,695 ± 0,09	0,672 ± 0,06	0,579 ± 0,02*	0,644 ± 0,10	0,017
Gastrocnêmio (g)	1,464 ± 0,08	1,460 ± 0,22	1,282 ± 0,10	1,376 ± 0,35	0,252
Sóleo (g)	0,105 ± 0,02	0,096 ± 0,01	0,082 ± 0,01**	0,088 ± 0,01	< 0,001
Tecido Adiposo (g)	2,719 ± 2,22	2,388 ± 0,89	2,881 ± 1,32	2,760 ± 1,02	0,887
Útero (g)	0,319 ± 0,20	0,347 ± 0,09	0,115 ± 0,06**	0,142 ± 0,07*	< 0,001

Dados expressos em média ± desvio padrão. *P<0,05 em relação ao grupo *M. alba*, ** P<0,01 em relação ao controle, *** P<0,001 em relação ao controle. ANOVA de uma via seguida do pós-teste de Tukey, (Alanina Transaminase, Glicemia, Ureia, SOD, CAT, Relação SOD/CAT, TBARS, Pâncreas, Músculo Sóleo). Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's (Colesterol, HDL, VLDL, LDL, Albumina, Aspartato Aminotransferase, Creatinina, 17-β estradiol, Fosfatase Alcalina, Gamaglutamiltranspeptidase, Baço, Fígado, Rins, Músculo Gastrocnêmio, Tecido Adiposo, Útero). 17-β estradiol Indetectável = 11,8 pg/ml. Fonte: Os autores.

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

Quanto à morfometria tecidual, na comparação dos grupos OVX + *M. alba* e controle observou-se um menor peso hepático, pancreático e uterino. E entre os grupos OVX e controle houve redução do peso renal e do músculo sóleo (Tabela 1).

Quanto ao perfil hematológico (Tabela 2) não se observaram alterações quando comparados os grupos *M. alba* e OVX + *M. alba* em relação ao Controle e OVX.

Tabela 2: Efeitos do tratamento com a infusão de *M. alba* no perfil hematológico de ratas Wistar ovariectomizadas.

	Controle	<i>M. alba</i>	OVX	OVX + <i>M. alba</i>	P
Eritrócitos 10 ⁶ /mm ³	10,4 ± 4,05	11,51 ± 3,00	11,43 ± 3,13	12,42 ± 4,26	0,771
Leucócitos 10 ³ /mm ³	3,43 ± 2,09	5,16 ± 2,20	5,67 ± 2,88	3,81 ± 1,42	0,173
Linfócitos (%)	82,43 ± 6,99	74,80 ± 6,01	77,0 ± 8,99	80,57 ± 4,43	0,129
Neutrófilos (%)	14,43 ± 6,85	22,40 ± 5,78	21,11 ± 10,79	16,43 ± 4,20	0,125
Monócitos (%)	3,14 ± 0,38	2,80 ± 0,63	3,00 ± 0,50	3,00 ± 0,82	0,676
Plaquetas 10 ³ /mm ³	1022 ± 701,2	772,80 ± 152,9	734,70 ± 89,03	748,3 ± 224,3	0,940
Hemoglobina g/dl (Hb)	19,29 ± 6,73	21,0 ± 4,99	21,03 ± 5,36	22,76 ± 7,46	0,777
Hematócrito % (Hc)	57,13 ± 21,56	60,42 ± 15,56	61,17 ± 17,64	65,91 ± 21,83	0,854
Volume Corpuscular Médio fL (VCM)	53,29 ± 1,11	52,60 ± 1,27	53,22 ± 1,09	52,86 ± 1,22	0,534
Hemoglobina Corpuscular Média pg (HCM)	18,74 ± 0,72	18,12 ± 1,19	18,52 ± 0,71	18,39 ± 0,55	0,519
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média % (HCM)	35,19 ± 1,69	35,03 ± 1,59	34,76 ± 1,57	34,61 ± 1,14	0,859
Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos % (RDW)	12,99 ± 0,51	12,74 ± 0,53	13,17 ± 0,33	13,01 ± 0,36	0,237
Volume Plaquetário Médio (fL)	6,14 ± 0,33	6,11 ± 0,28	6,26 ± 0,33	6,49 ± 0,60	0,507
Amplitude de variação do tamanho das plaquetas fL (PDW)	10,93 ± 0,66	10,6 ± 1,03	11,17 ± 1,37	9,76 ± 3,97	0,853
Razão Neutrófilo/Linfócito (RNL)	0,14 ± 0,07	0,22 ± 0,06	0,21 ± 0,11	0,16 ± 0,04	0,125
Razão Plaqueta/Linfócito (RPL)	304,7 ± 166,1	180,2 ± 84,32	164,3 ± 87,14	226,6 ± 115,7	0,087

Dados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de uma via seguida do pós-teste de *Tukey* (Eritrócitos, Leucócitos, Linfócitos, Monócitos, Hc, HCM, RDW, RNL, RPL), Teste de *Kruskal-Wallis* seguido do pós-teste de *Dunn's* (Monócitos, Plaquetas, Hb, Hc, VCM, HCM, VPM, PDW). Fonte: Os autores.

Sobre o perfil comportamental de resposta a ansiedade, dos testes realizados, foi observado aumento no tempo de permanência na periferia do teste de Campo Aberto entre o grupo OVX vs Controle (Tabela 3) (P= 0,022).

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

Tabela 3: Efeitos do tratamento com a infusão de *M. alba* no perfil comportamental de resposta à ansiedade, depressão e memória de ratas Wistar ovariectomizadas.

	Controle MD ± DP (n=7)	<i>M. alba</i> MD ± DP (n=10)	OVX MD ± DP (n=7)	OVX + <i>M. alba</i> MD ± DP (n=7)	P
Ansiedade					
<i>Campo Aberto</i>					
Tempo no Centro (s)	31,54 ± 30,53	15,83 ± 16,18	8,57 ± 8,24	15,09 ± 6,02	0,085
Tempo na Periferia (s)	262,2 ± 29,33	282,4 ± 17,21	289,9 ± 7,33 *	282,6 ± 2,53	0,022
Distância Percorrida (mm)	15671 ± 10184	15548 ± 9050	12870 ± 4938	10348 ± 8861	0,251
Tempo de imobilidade (s)	220,1 ± 53,54	191,3 ± 75,25	188,9 ± 47,37	212,9 ± 42,06	0,634
<i>Claro e Escuro</i>					
Latência para o CE (s)	15,29 ± 9,39	18,80 ± 17,52	26,44 ± 18,64	22,57 ± 18,61	0,562
Tempo no CE (s)	257,3 ± 34,54	272,2 ± 26,74	257,8 ± 40,34	274,9 ± 20,38	0,658
Tempo no CC (s)	42,71 ± 34,54	27,80 ± 26,74	42,22 ± 40,34	25,14 ± 20,38	0,658
Transições para o CE	2,29 ± 1,60	1,50 ± 1,08	1,56 ± 0,73	1,14 ± 0,39	0,256
Espreitar	3,29 ± 2,29	3,60 ± 3,56	3,12 ± 1,76	2,00 ± 1,15	0,475
<i>Labirinto em Cruz Elevado</i>					
Distância Percorrida (mm)	6996 ± 2949	6420 ± 2906	4190 ± 2730	6542 ± 4294	0,285
Tempo de imobilidade total (s)	236,1 ± 21,79	237,0 ± 21,87	257,4 ± 22,41	235,5 ± 26,11	0,163
Tempo no Centro (s)	30,93 ± 40,18	24,33 ± 25,00	16,19 ± 24,22	17,62 ± 17,39	0,552
Entradas no BA	1,286 ± 2,215	0,900 ± 1,101	1,667 ± 1,936	2,500 ± 1,871	0,303
Tempo no BA (s)	19,31 ± 40,15	11,74 ± 17,51	5,067 ± 6,27	10,53 ± 14,70	0,898
Entradas no BF	8,429 ± 4,28	8,200 ± 5,84	5,889 ± 4,75	7,833 ± 5,34	0,726
Tempo no BF (s)	249,8 ± 64,96	264,0 ± 33,89	278,7 ± 28,85	271,9 ± 24,03	0,552
<i>Grooming</i>	2,0 ± 1,91	2,6 ± 1,71	4,0 ± 1,66	2,167 ± 1,72	0,108
<i>Hearing</i>	8,286 ± 2,81	9,60 ± 2,99	10,11 ± 3,01	9,833 ± 5,23	0,754
Depressão					
<i>Nado Forçado</i>					
Imobilidade (s)	93,57 ± 73,87	106,9 ± 35,95	146,4 ± 79,77	103,4 ± 86,37	0,432
Escalar (s)	145,1 ± 77,36	62,5 ± 43,47	141,4 ± 75,03	135,7 ± 103,2	0,073
Memória					
<i>Reconhecimento de Objetos</i>					
Interação ON (s)	20,86 ± 7,31	19,1 ± 11,04	15,38 ± 7,48	18,17 ± 10,36	0,711
Interação OV (s)	4,286 ± 4,39	3,5 ± 3,69	6,625 ± 4,50	4,667 ± 4,97	0,424

Dados expressos em média ± desvio padrão. * P<0,05 em relação ao controle, ANOVA de uma via seguida do pós-teste de *Tukey* [Campo Aberto (Tempo na Periferia), Claro e Escuro (Bolo fecal), Labirinto em Cruz Elevado (Distância percorrida, Tempo de imobilidade total, *grooming*, *hearing*), Nado Forçado (Imobilidade, Mobilidade), Reconhecimento de Objetos (Interação com o ON)], # Teste de *Kruskal-Wallis* seguido do pós-teste de *Dunn's* [Campo Aberto (Tempo no Centro, Distância Percorrida, Tempo de imobilidade), Claro e Escuro (Latência para o CE, Tempo

EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS

no CE, Tempo no CC, Transições para o CE, espreitar), Labirinto em Cruz Elevado (Tempo no Centro, Tempo no BA, Tempo no BF, Entradas no BF), Reconhecimento de Objetos (Interação com o OV)]. Fonte: Os autores.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo, demonstramos que a infusão das folhas de *M. alba* apresenta potencial antioxidante *in vitro* e, demonstra segurança para uso uma vez que não apresentou sinais importantes de toxicidade durante a administração crônica. Além disso, a administração da infusão de *M. alba*, nesta concentração durante 12 semanas de tratamento não é capaz de reverter o ganho de peso induzido pela privação de estrogênio do modelo. Quanto à morfometria tecidual foi evidenciada redução de peso hepático, renal, pancreático e muscular nos animais OVX em relação ao grupo controle; o que sugere que baixos níveis circulantes de estrogênio interferem na manutenção do peso dos órgãos. Outro aspecto a ser destacado dos resultados é que os animais OVX parecem apresentar maior nível de ansiedade em relação ao Controle, o que não se observa nos animais OVX + *M. alba*.

A diferença no peso e adiposidade na comparação dos grupos OVX e controle corroboram com os achados de Burch et al.¹⁷ que descreve um incremento no peso corporal decorrente da privação de estrogênio pela remoção cirúrgica dos ovários em ratas *Wistar*. A associação entre a ausência de estrogênio circulante e o incremento de adiposidade corporal decorre principalmente na capacidade de modulação do metabolismo energético e interação com receptores alvo em tecidos envolvidos na lipogênese. Estudos tem evidenciado que ratas OVX apresentaram ganho de peso ponderal maior do que aquelas não ovariectomizadas a partir da segunda semana pós OVX, com aumento proporcional até a nona semana, quando então ocorre estabilização do peso corporal. Deste modo, sugere-se que os animais deste estudo atingiram o platô de ganho de peso, o qual não foi revertido pelo tratamento com a planta^{9; 15; 18}. A importância destes resultados sobre a gordura corporal na ausência ovariana ratifica que a privação de estrogênio aumenta o risco de doenças cardiometabólicas². A resistência insulínica na menopausa é observada em estudos com humanos e se reflete nos modelos animais. Isto ocorre porque no tecido adiposo a insulina estimula o armazenamento de triglicerídeos, através do aumento da captação de glicose e ácidos graxos, derivados de

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

lipoproteínas circulantes, o que promove lipogênese em adipócitos maduros e inibição da lipólise^{17; 19}.

Neste cenário, estudos envolvendo diferentes tipos de extrato das folhas de *M. alba* vem sendo desenvolvidos, utilizando-se diversos modelos experimentais que em sua maioria fazem uso de dietas enriquecidas com colesterol²⁰. Estes têm evidenciando potencial efeito biológico da planta na perda de peso, melhora do perfil lipídico, glicêmico e oxidativo em animais tratados com dieta hipercolesterolêmica. Metwally *et al.*²¹ evidenciam que o tratamento durante oito semanas com o extrato etanólico das folhas de *M. alba* (100 mg/kg), diminuiu o ganho de peso corporal, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, índices aterogênicos, nível de glicose e índice de resistência à insulina em ratas fêmeas tratados com dieta rica em colesterol. Corroborando com o descrito na literatura e neste estudo, Zeni e Dall'Molin⁶ avaliaram os efeitos do extrato aquoso de folhas de *M. alba* (150 mg/kg) durante quatorze dias em ratos *Wistar* tratados e não tratados com dieta hiperlipidêmica e evidenciaram que o tratamento com a planta foi capaz de reduzir os níveis plasmáticos de triglicerídeos apenas no grupo tratado com dieta rica em colesterol e com extrato.

A respeito de alterações na morfometria dos tecidos hepático, renal e muscular Sucupira²² esclarece que baixos níveis circulantes de estrogênio podem promover lesões celulares e teciduais em tecidos metabolicamente estimulados por este hormônio. Associado a isso observou-se alteração de ALT, evidenciando possível disfunção no órgão. Goettems-Fiorin *et al.*¹⁸, utilizando este mesmo modelo experimental de menopausa encontraram resultados semelhantes, evidenciando que a ausência de estrogênio durante a menopausa pode promover redução de peso tecidual. Destaca-se ainda, o papel do estrogênio na manutenção da massa muscular esquelética, através da indução da síntese proteica para manutenção tecidual²³, após a menopausa mulheres apresentam risco aumentado de desenvolvimento de sarcopenia e osteopenia, decorrentes das alterações metabólico-funcionais promovidas pela redução dos níveis circulantes de estrogênio nos tecidos²⁴.

Neste contexto, as plantas medicinais vêm sendo amplamente utilizadas como alimentos funcionais e tratamentos alternativos para a prevenção de diversas doenças, principalmente em função de seus compostos bioativos com potencial biológico⁴. As

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

folhas de *M. alba* apresentam importantes compostos responsáveis pelas propriedades terapêuticas da planta, entre eles: alcaloides, flavonóides (quercetina, rutina e isoquercetina), taninos e terpenos ⁴. Embora estudos envolvendo a *M. alba* têm apontado potencial de melhora do metabolismo lipídico, oxidativo, glicêmico e neuroprotetor ⁵, não observamos alterações neste estudo quanto a esses parâmetros. Isto pode ser explicado, pelo menos em parte, pelo método extrativo utilizado, tempo de tratamento ou pela condição de privação de estrogênio estudada.

Dentre os métodos extrativos utilizados na medicina tradicional para a obtenção de extratos vegetais pode-se destacar a maceração, infusão, decocção, entre outros. Neste estudo utilizou-se a infusão, na qual houve indícios de potencial antioxidante *in vitro*; além disto, a infusão é a forma como popularmente a planta é consumida. Sabe-se que a escolha do método extrativo, bem como do solvente utilizado, concentração e temperatura influenciam diretamente na concentração de substâncias extraídas de uma planta e consequentemente na sua atividade biológica e farmacológica. Embora muito utilizada na medicina tradicional, sabe-se que a infusão é um método com pequeno potencial extrativo, o que pode explicar a ausência de efeitos sobre os marcadores bioquímicos avaliados ²⁵.

Neste estudo, avaliou-se a atividade enzimática do sistema antioxidante SOD/CAT e a peroxidação lipídica por meio da dosagem de TBARS, contudo não foi observada diferença entre os grupos em nenhum parâmetro oxidativo. Cabe salientar o papel do estrogênio na homeostase *redox* dos sistemas biológicos atuando por diferentes vias de sinalização mantendo o equilíbrio oxidativo. Este é capaz de neutralizar espécies reativas (ERs), atuando como um antioxidante direto, devido às suas características químicas. Além de atuar de maneira indireta através da modulação de enzimas antioxidantes ²⁶. Desta forma, a privação de estrogênio pode promover alterações no equilíbrio *redox* de diversos sistemas biológicos, uma vez que o desbalanço entre a geração e neutralização de ERs produz um estado pró-oxidante, quadro que pode estar relacionado à gênese de distúrbios cardiometabólicos ^{9; 27}. A compreensão do papel do estrogênio sobre a homeostasia *redox* permite entender que, no contexto deste estudo, há um forte fator intrínseco que por si só provoca o aumento de estresse oxidativo. Embora, o potencial antioxidante de diferentes tipos de extratos de *M. alba* tenha sido descrito em

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

outros estudos ^{5; 28} em diferentes dosagens, este é o primeiro estudo a avaliar os efeitos da infusão da planta. Sendo que pelo menos nesta dose e tempo de tratamento, a infusão não apresentou efeito antioxidante *in vivo*.

Quanto às análises de toxicidade, destaca-se que no nosso estudo não foram evidenciadas alterações hematológicas ou no perfil renal, observamos apenas discreta alteração em uma enzima hepática. Estes achados constatarem que nesta concentração e tempo de tratamento, a infusão da planta não produziu efeitos tóxicos. Embora o uso popular de plantas medicinais esteja principalmente baseado no princípio da naturalidade e baixa toxicidade, sabe-se que tanto quanto os tratamentos convencionais, as plantas medicinais podem apresentar potencial tóxico. Neste sentido, a avaliação de parâmetros hematológicos, função hepática e renal são capazes de fornecer indícios sobre manifestações tóxicas locais, sistêmicas e segurança do uso. Alterações, por exemplo, do número de células sanguíneas circulantes ou de enzimas hepáticas e renais, podem indicar um comprometimento da hematopoese e lesões em órgãos alvo responsáveis pela detoxificação do organismo ²⁹. Destaca-se que até o momento não existiam relatos na literatura da avaliação da toxicidade associada ao uso crônico da infusão de *M. alba*; sendo que a toxicidade de diferentes formas de extração do extrato da planta também não foi observada ⁴.

Com relação ao comportamento dos animais na análise do teste de campo aberto observou-se que o grupo OVX apresentou maior tempo de permanência na periferia do que os grupos controle, esta diferença não foi observada no grupo OVX + *M. alba*, indicando um potencial efeito ansiolítico da planta. No sistema nervoso central existem inúmeras áreas responsivas ao estrogênio que interferem na síntese e modulação do funcionamento de neurotransmissores, como a acetilcolina, catecolaminas e serotonina que são estão envolvidos na modulação comportamental e de memória ³⁰. Estudos têm demonstrado que em animais OVX ocorrem alterações na regulação da transmissão, ligação e metabolismo da serotonina, em áreas do cérebro que são implicadas na regulação do afeto e cognição. Raj et al. ³¹ destaca que flavonoides como a quercetina, presente em grande quantidade nas folhas de *M. alba*, apresentam potencial de melhora do sistema antioxidante enzimático cerebral, através da inibição de enzimas como a Catecol-O-Metil transferase e Monoaminaoxidase que culminam com uma melhora no

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIECTOMIZADAS**

balanço redox cerebral e redução dos efeitos nocivos do desbalanço oxidativo neste tecido. Ainda, Raj *et al.*³¹ evidenciam o efeito ansiolítico de diferentes preparações das folhas de *M. alba* em modelos animais de ansiedade, corroborando assim, com o achado deste estudo, onde os animais tratados com a infusão apresentaram tempo de permanência na periferia do aparato de teste de campo aberto, reduzido em relação aos animais não tratados.

A partir do exposto, este trabalho sugere que o estrogênio seja um fator determinante na modulação do peso corporal, aumento de ansiedade e perda de massa tecidual, que nesta dose, forma de preparo e tempo de tratamento não foi revertido pela administração da infusão das folhas de *M. alba*. Dada a tradicionalidade no uso desta planta, mais estudos são necessários de modo a elucidar se doses mais elevadas, períodos de tratamento maiores e outras formas de preparo podem promover diferentes influências metabólicas em quadros de distúrbios cardiometabólicos associados à menopausa. A utilização de dieta normolipidêmica pode ser citada como uma limitação deste estudo, visto que apenas a OVX não foi capaz de produzir alterações significativas especialmente em nível de marcadores oxidativos e bioquímicos, que pudessem ser revertidos pelo tratamento. Além disto, a idade dos animais também pode ser um fator limitante, uma vez que ao final do tratamento todos os animais encontravam-se em um estado de aciclicidade.

5 CONCLUSÃO

Neste estudo, evidenciou-se que a infusão das folhas de *M. alba*, mesmo em baixa concentração, apresenta potencial antioxidante *in vitro* e sua administração crônica não desempenha toxicidade hepática, renal ou hematológica. Ainda, sugere-se que a infusão de *M. alba* desempenhe um potencial efeito ansiolítico no modelo de estudo. Enquanto que a privação de estrogênio promove incremento de peso corporal, que não é revertido pela ingestão da infusão de *M. alba*.

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

REFERÊNCIAS

- 1 Gatenby C, Simpson P. Menopause: Physiology, definitions, and symptoms. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, v. 38, n. 1, p. 101855, Jan 2024. ISSN 1521-690x.
- 2 Mosconi L. et al. Menopause impacts human brain structure, connectivity, energy metabolism, and amyloid-beta deposition. *Sci Rep*, v. 11, n. 1, p. 10867, Jun 9 2021. ISSN 2045-2322.
- 3 Brasil. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Renisus). SAÚDE, M. D. 2021.
- 4 Batiha GE. et al. *Morus alba*: a comprehensive phytochemical and pharmacological review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, v. 396, n. 7, p. 1399-1413, Jul 2023. ISSN 0028-1298 (Print) 0028-1298.
- 5 Wang Y. et al. Comprehensive overview of different medicinal parts from *Morus alba* L.: chemical compositions and pharmacological activities. *Front Pharmacol*, v. 15, p. 1364948, 2024. ISSN 1663-9812 (Print)1663-9812.
- 6 Zeni ALB, Dall'molin M. Hypotriglyceridemic effect of *Morus alba* L., Moraceae, leaves in hyperlipidemic rats %J *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 20, p. 130-133, 2010. ISSN 0102-695X.
- 7 Sousa CMDM. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais %J *Química Nova*. v. 30, p. 351-355, 2007. ISSN 0100-4042.
- 8 Rangel JC. et al. The Folin-Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, v. 5, p. 5990, 11/07 2013.
- 9 Costa-Beber LC. et al. Ovariectomy enhances female rats' susceptibility to metabolic, oxidative, and heat shock response effects induced by a high-fat diet and fine particulate matter. *Exp Gerontol*, v. 145, p. 111215, Mar 2021. ISSN 0531-5565.
- 10 Novelli ELB. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007.
- 11 Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*, v. 47, n. 3, p. 469-74, Sep 16 1974. ISSN 0014-2956 (Print)0014-2956.
- 12 Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, v. 105, p. 121-6, 1984. ISSN 0076-6879 (Print)0076-6879.
- 13 Pinho RA. et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Int*, v. 30, n. 10, p. 848-53, Oct 2006. ISSN 1065-6995 (Print)1065-6995.
- 14 Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, v. 52, p. 302-10, 1978. ISSN 0076-6879 (Print)0076-6879.
- 15 Lissarassa YPS. et al. Chronic heat treatment positively impacts metabolic profile of ovariectomized rats: association with heat shock response pathways. *Cell Stress Chaperones*, v. 25, n. 3, p. 467-479, May 2020. ISSN 1355-8145 (Print)1355-8145.
- 16 Funchal C, Dani C. *Neurociências: Modelos Experimentais Em Animais*. EDIPUCRS, 2014. ISBN 9788539705535.
- 17 Burch KE. et al. Relationship Between Circulating Metabolic Hormones and Their Central Receptors During Ovariectomy-Induced Weight Gain in Rats. *Front Physiol*, v. 12, p. 800266, 2021. ISSN 1664-042X (Print) 1664-042x.

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIETOMIZADAS**

- 18 Goettems-Fiorin PB. et al. Ovariectomy predisposes female rats to fine particulate matter exposure's effects by altering metabolic, oxidative, pro-inflammatory, and heat-shock protein levels. *Environ Sci Pollut Res Int*, v. 26, n. 20, p. 20581-20594, Jul 2019. ISSN 0944-1344.
- 19 Yi, Y. et al. Predictors of the age at which natural menopause occurs in women with type 1 diabetes: the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications (EDC) study. *Menopause*, v. 28, n. 7, p. 735-740, Apr 5 2021. ISSN 1072-3714 (Print)1072-3714.
- 20 Noh DJ, Yoon GA. Mulberry (*Morus alba* L.) ethanol extract attenuates lipid metabolic disturbance and adipokine imbalance in high-fat fed rats. *Nutr Res Pract*, v. 16, n. 6, p. 716-728, Dec 2022. ISSN 1976-1457 (Print)1976-1457.
- 21 Metwally FM, Rashad H, Mahmoud AA. *Morus alba* L. Diminishes visceral adiposity, insulin resistance, behavioral alterations via regulation of gene expression of leptin, resistin and adiponectin in rats fed a high-cholesterol diet. *Physiol Behav*, v. 201, p. 1-11, Mar 15 2019. ISSN 0031-9384.
- 22 Sucupira FG. Impacto do receptor de estrogênio alfa na doença hepática gordurosa não alcoólica e metabolismo energético do fígado. 2023. (Dissertação (Mestrado). Departamento de Fisiologia Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- 23 Counts BR. et al. The Effect of Estradiol Administration on Muscle Mass Loss and Cachexia Progression in Female Apc (Min/+) Mice. *Frontiers in endocrinology*, v. 10, p. 720-720, 2019. ISSN 1664-2392.
- 24 Zhong W. et al. Effects of Exercise Training on the Autophagy-Related Muscular Proteins Expression in Ovariectomized Rats. *Front Physiol*, v. 10, p. 735, 2019. ISSN 1664-042X (Print)1664-042x.
- 25 El Maaiden E. et al. A Comparative Study between Conventional and Advanced Extraction Techniques: Pharmaceutical and Cosmetic Properties of Plant Extracts. *Molecules*, v. 27, n. 7, p. 2074, 2022. ISSN 1420-3049.
- 26 Vernier M. et al. Estrogen-related receptors are targetable ROS sensors. *Genes Dev*, v. 34, n. 7-8, p. 544-559, Apr 1 2020. ISSN 0890-9369 (Print)0890-9369.
- 27 Cagnacci A. et al. Oxidative Stress: The Role of Estrogen and Progesterone. *J Clin Med*, v. 12, n. 23, Nov 25 2023. ISSN 2077-0383 (Print) 2077-0383.
- 28 Hsu JH, Yang CS, Chen JJ. Antioxidant, Anti- α -Glucosidase, Antityrosinase, and Anti-Inflammatory Activities of Bioactive Components from *Morus alba*. *Antioxidants (Basel)*, v. 11, n. 11, Nov 11 2022. ISSN 2076-3921 (Print) 2076-3921.
- 29 Jahani Yazdi A. et al. Acute and sub-acute toxicity evaluation of the root extract of *Rheum turkestanicum* Janisch. *Drug Chem Toxicol*, p. 1-7, Jul 2 2019. ISSN 0148-0545.
- 30 Sochocka M. et al. Cognitive Decline in Early and Premature Menopause. *Int J Mol Sci*, v. 24, n. 7, Mar 31 2023. ISSN 1422-0067.
- 31 Raj A. et al. Neuroprotective and cognitive enhancing effect of methanolic *morus alba* leaf fraction in u87mg cell lines and experimental rat model. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, p. 238-243, 03/14 2019.

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIECTOMIZADAS**

Submetido em: 13/9/2024

Aceito em: 7/5/2026

Publicado em: 28/8/2026

Contribuições dos autores	
	Brenda da Silva: Conceptualização; Metodologia; Investigação; Curadoria de Dados; Escrita - Rascunho Original; Visualização.
	Gabriele Maria Callegaro Serafini: Metodologia; Curadoria de Dados; Escrita - Rascunho Original.
	Paola Andressa das Chagas Barella: Metodologia; Investigação.
	Ana Paula Fell: Metodologia; Investigação.
	Ana Gabriela Tamiozzo: Metodologia; Investigação.
	João Vinícius Müller Kaufmann: Metodologia; Investigação.
	Felipe Rafael Passos: Metodologia; Investigação.
	Matias Nunes Frizzo: Metodologia; Curadoria de Dados; Escrita - Rascunho Original.
	Evelise Moraes Berlezi: Conceptualização; Metodologia; Investigação; Curadoria de Dados; Administração do projeto; Escrita - Rascunho Original; Visualização.
	Thiago Gomes Heck: Conceptualização; Metodologia; Investigação; Curadoria de Dados; Supervisão; Administração do projeto; Escrita - Rascunho Original; Visualização.
Todos os autores aprovaram a versão final do texto.	
Conflito de interesse: Não há conflito de interesse.	
Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento nº 88887.192149/2018-00.	

**EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
TOXICOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATAS OVARIECTOMIZADAS**

Autor correspondente: Brenda da Silva

Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí

Rua do Comércio, Nº 3000 – Bairro Universitário.

Ijuí/RS, Brasil – CEP 98700-000

brendadssilva@yahoo.com

Editor: Dr. Giuseppe Potrick Stefani

Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença Creative Commons.

