

## **EFEITOS DA PROFILAXIA E DO TRATAMENTO COM GOJI BERRY (*Lycium barbarum*) SOBRE PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS DO INTESTINO DELGADO DE RATOS WISTAR OBESOS**

Ana Luiza Russo Duarte (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Maria Montserrat Diaz Pedrosa, Rosângela Fernandes Garcia, Isabela Ramos Mariano (Coorientadora) Maria Raquel Marçal Natali (Orientadora), e-mail: mrmnatali@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

**Área: Ciências Biológicas. Subárea: Morfologia.**

**Palavras-chave:** Dieta rica em carboidratos simples, jejuno, células caliciformes.

### **Resumo:**

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do *Lycium barbarum* (Goji berry) sobre a morfologia do intestino delgado, como alternativa terapêutica para a obesidade após ingestão de dieta rica em carboidratos simples (RCS). Foram utilizados 28 ratos Wistar. O tratamento por gavagem foi feito com solução de *L. barbarum* (250mg/Kg de peso corporal) ou água filtrada. Controle água (CA): ração padrão dos 21 aos 130 dias, dos 70 aos 130 dias receberam água filtrada; obeso água (OA): dieta RCS dos 21 aos 130 dias, dos 70 aos 130 dias receberam água filtrada; obeso Goji berry (OGB): dieta RCS dos 21 aos 130 dias, dos 70 aos 130 dias receberam extrato de GB; obeso profilático (OPR): dieta RCS dos 21 aos 130 dias, dos 21 aos 130 dias receberam extrato de GB. Aos 130 dias, após eutanásia, amostras do jejuno foram fixadas para processamento histológico e coloração com HE para análise morfológica e morfométrica e reações histoquímicas de PAS, Alcian Blue pH 1 e pH 2,5 para quantificação de células caliciformes. Houve aumento do peso corporal dos ratos obesos indicando efeito da dieta. A administração oral de Goji berry foi eficaz em reduzir o IMC nos grupos OGB e OPR em relação ao grupo OA. Na porção jejunal, o grupo OGB promoveu o aumento do índice de mucinas neutras e ácidas (pH 2,5) e tende a melhorar os parâmetros histológicos, mostrando uma propensão a reverter os efeitos da obesidade.

### **Introdução**

O *Lycium barbarum*, ou Goji berry (GB), é considerado um fruto nutrimental usado como recurso na medicina por ser uma fonte rica em macronutrientes, micronutrientes (incluindo minerais e vitaminas), riboflavinas, tiaminas, polissacarídeos, ácido nicotínico, carotenoides, compostos fenólicos, entre

outros (MA et al., 2019). Destacam-se as propriedades antioxidante, anti-inflamatórias, neuroprotetoras, atividades anticâncer e de imunomodulação, além de um aumento e modificação na composição básica da microbiota intestinal, diminuindo a abundância do potencial de patógenos ligados a inflamações (XIA et al., 2020). Os efeitos do GB em reduzir a glicemia, lipidemia, o índice de adiposidade e o ganho de peso corporal em ratos Wistar obesos, tratados por 60 dias com GB (250 mg/kg peso corporal) foram descritos por Crepaldi et al. (2018). O presente estudo objetivou avaliar os efeitos da utilização do GB como alternativa terapêutica para a obesidade provocada pela ingestão de dieta RCS avaliando-se parâmetros morfológicos e morfométricos e a quantificação de células calciformes no jejuno de ratos Wistar adultos.

## Materiais e métodos

Aos 21 dias de idade, 28 ratos Wistar machos fornecidos pelo Biotério Central da UEM, foram distribuídos em 4 grupos (n=7) e tratados por gavagem gástrica. Controle água (CA): ração padrão dos 21 aos 130 dias, dos 70 aos 130 dias receberam água filtrada; obeso água (OA): dieta RCS dos 21 aos 130 dias, dos 70 aos 130 dias receberam água filtrada; obeso Goji berry (OGB): dieta RCS dos 21 aos 130 dias, dos 70 aos 130 dias receberam extrato de GB (250mg/kg de peso corporal); obeso profilático (OPR): dieta RCS dos 21 aos 130 dias, dos 21 aos 130 dias receberam extrato de GB (250mg/kg de peso corporal). Os protocolos de indução da obesidade e preparo do Goji berry estão descritos em Crepaldi et al. (2018). Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (UEM). Aos 130 dias os animais foram pesados e mensurado o comprimento naso-anal para cálculo do Índice de Lee. Posteriormente, os ratos foram eutanasiados e depósitos de gordura (mesentérica, epididimal, inguinal e retroperitoneal) foram removidas e pesadas; as amostras do jejuno foram coletadas, mensuradas e fixadas para processamento histológico e coloração com HE para análise morfológica e morfométrica, e reações histoquímicas de PAS, Alcian Blue pH 1 e pH 2,5 para evidênciação de células calciformes neutras e ácidas. Após verificação da normalidade dos dados (testes D'Agostino e Shapiro-Wilk) os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn's e os dados paramétricos submetidos à Análise de Variância *One-way* ANOVA, seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância para todas as comparações estatísticas foi de 5%.

## Resultados e Discussão

Os animais submetidos à dieta RCS apresentaram aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no peso corporal, comprovando o modelo experimental utilizado, resultados também obtidos por Crepaldi et al. (2018). A análise do índice de massa corporal, Índice de Lee e das gorduras mesentérica, epididimal, inguinal e retroperitoneal obtiveram acréscimo nos grupos tratados com a

dieta RCS. Já o comprimento do intestino delgado reduziu nos grupos obesos. A largura do intestino delgado não apresentou alterações. Dados apresentados na Tabela 1. A análise morfométrica do jejuno (Tabela 2), indica que houve aumento significativo na espessura da parede total e da túnica mucosa, bem como na altura das vilosidades nos ratos obesos. Também constatou-se aumento na espessura da túnica submucosa, túnica muscular e profundidade da cripta apenas nos grupos OA e OPR, divergindo do grupo OGB, que apresentou acentuada redução. Nas análises de PAS e Alcian Blue pH 2,5, houve uma redução no percentual de células calciformes no grupo obeso (OA), o que impacta o sistema de defesa, propiciando a entrada de patógenos e efeito positivo da administração oral de Goji berry devido o aumento no percentual das células calciformes produtoras de mucinas neutras e ácidas (pH 2,5). O comportamento das células calciformes positivas para o Alcian Blue pH 1 não diferiu entre os grupos experimentais em relação ao grupo controle. Os dados histoquímicos estão representados na Figura 1.

**Tabela 1.** Peso corporal (PC) (g), Índice de Massa Corporal (IMC) (kg/cm<sup>2</sup>), Índice de Lee (IL), largura do intestino delgado (LID) (cm), comprimento do intestino delgado (CID) (cm), gordura mesentérica (GM) (g/100g), gordura epididimal (GE) (g/100g), gordura inguinal (GI) (g/100g) e gordura retroperitoneal (GR) (g/100g) de ratos dos grupos Controle Água (CA), Obeso Água (OA); Obeso Goji Berry (OGB); Obeso Profilático (OPR).

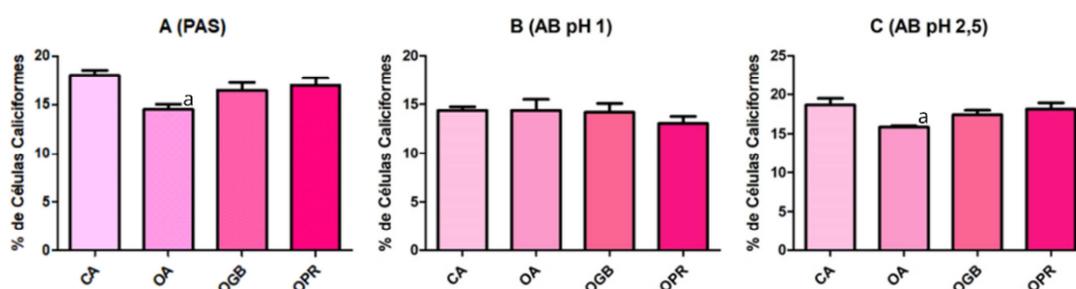
|                           | CA                      | OA                            | OGB                            | OPR                            |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| PC (g)                    | 429.2 ± 13.22           | 515.5 ± 21.3 <sup>a</sup>     | 562.6 ± 40.28 <sup>b</sup>     | 483 ± 28.72 <sup>a</sup>       |
| IMC (Kg/cm <sup>2</sup> ) | 0.6799 ± 0.02399        | 0.8395 ± 0.03347 <sup>a</sup> | 0.7793 ± 0.06298 <sup>ab</sup> | 0.7481 ± 0.02949 <sup>ab</sup> |
| IL                        | 294.2 ± 4.744           | 314.9 ± 9.336 <sup>a</sup>    | 310.8 ± 8.572 <sup>a</sup>     | 302.5 ± 3.888 <sup>bc</sup>    |
| LID (cm)*                 | 0.95<br>(0.8523 -1.068) | 1<br>(0.9298-1.115)           | 1<br>(0.8909-1.509)            | 1<br>(0.9225-1.237)            |
| CID (cm)                  | 106 ± 13.62             | 90.06 ± 8.995 <sup>a</sup>    | 82.6 ± 11.72 <sup>a</sup>      | 80 ± 7.513 <sup>a</sup>        |
| GM (g/100g)               | 1.477 ± 0.1130          | 2.115 ± 0.1671 <sup>a</sup>   | 1.618 ± 0.1709                 | 1.848 ± 0.08383                |
| GE (g/100g)               | 1.623 ± 0.1005          | 2.308 ± 0.1101 <sup>a</sup>   | 1.860 ± 0.1603                 | 2.203 ± 0.09301 <sup>a</sup>   |
| GI (g/100g)               | 1.211 ± 0.07345         | 1.745 ± 0.0545 <sup>a</sup>   | 1.508 ± 0.0596 <sup>ab</sup>   | 1.461 ± 0.0695 <sup>a</sup>    |
| GR (g/100g)               | 1.637 ± 0.1048          | 2.629 ± 0.1632 <sup>a</sup>   | 2.227 ± 0.1644 <sup>a</sup>    | 2.076 ± 0.0658 <sup>b</sup>    |

One-way ANOVA/Tukey, expressos em média ± DP. \* Kruskal-Wallis/Dunn's, expressos em mediana com 95% de intervalo de confiança. (n=7/grupo). <sup>a</sup>p < 0.05 vs. CA; <sup>b</sup>p < 0.05 vs. OA; <sup>c</sup>p < 0.05 vs. OGB.

**Tabela 2.** Morfometria do jejuno (µm): espessura da parede total (PT), túnica mucosa (TMU), túnica submucosa (TSM) e túnica muscular (TMUS), altura dos vilos (AV) e profundidade das criptas (PC) de ratos dos grupos Controle Água (CA), Obeso Água (OA); Obeso Goji berry (OGB); Obeso Profilático (OPR).

|                         | CA                     | OA                                  | OGB                                  | OPR                                   |
|-------------------------|------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| PT ( $\mu\text{m}$ )*   | 517.1<br>(459.9-554.1) | 607.5<br>(559.2-647.9) <sup>a</sup> | 545.5<br>(501.7-586.5) <sup>ab</sup> | 587.4<br>(505.1-642.9) <sup>abc</sup> |
| TMU ( $\mu\text{m}$ )*  | 425.8<br>(394.8-473.8) | 496.1<br>(418.6-553.8) <sup>a</sup> | 448.4<br>(385.3-498.8) <sup>ab</sup> | 476.7<br>(395.6-522.9) <sup>abc</sup> |
| TSM ( $\mu\text{m}$ )*  | 19.88<br>(16.09-22.78) | 20.90<br>(18.22-27.76) <sup>a</sup> | 18.79<br>(15.73-23.95) <sup>ab</sup> | 21.22<br>(17.75-25.07) <sup>ac</sup>  |
| TMUS ( $\mu\text{m}$ )* | 61.87<br>(51.02-69.04) | 68.72<br>(61.77-74.54) <sup>a</sup> | 56.85<br>(50.97-60.47) <sup>ab</sup> | 66.47<br>(60.62-75.96) <sup>ac</sup>  |
| AV ( $\mu\text{m}$ )    | 306.2 $\pm$ 13.75      | 348.1 $\pm$ 17.97 <sup>a</sup>      | 330.5 $\pm$ 13.09 <sup>ab</sup>      | 353.1 $\pm$ 17.94 <sup>ac</sup>       |
| PC ( $\mu\text{m}$ )*   | 139.6<br>(127.1-159.9) | 166.8<br>(162-178.6) <sup>a</sup>   | 139.3<br>(121.9-153.1) <sup>b</sup>  | 150.3<br>(134.3-164.1) <sup>abc</sup> |

One-way ANOVA/Tukey, expressos em média  $\pm$  DP. \* Kruskal-Wallis/Dunn's, expressos em mediana com 95% de intervalo de confiança. (n=7/grupo). <sup>a</sup>p < 0.05 vs. CA; <sup>b</sup>p < 0.05 vs. OA; <sup>c</sup>p < 0.05 vs. OGB.



**Figura 1** – Percentual de células caliciformes. Técnica histoquímica PAS para evidênciação de mucinas neutras (A), técnica histoquímica de Alcian Blue pH 1, para evidênciação de mucinas ácidas (B) e técnica histoquímica de Alcian Blue pH 2,5, também para evidênciação de mucinas ácidas (C) de ratos dos grupos CA, OA, OPR e OGB. One-way ANOVA/Tukey, expressos em média  $\pm$  DP. (n=7/grupo). <sup>a</sup>p < 0.05 vs. CA.

## Conclusões

A administração oral de *Lycium barbarum* (Goji Berry) em ratos Wistar obesos, foi eficaz em reduzir o IMC nos grupos OGB e OPR, quando comparados ao grupo OA. Na porção jejunal, o grupo OGB promoveu alterações em parâmetros morfométricos e percentual de células caliciformes, mostrando uma tendência a reverter os efeitos da obesidade.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica e apoio financeiro.

## Referências

CREPALDI, L.; MARIANO, I. R.; TRONDOLIL A. N. P. C.; MORENO, F. N.; PIOVAN, S.; FORMIGONI, M.; SALGUEIRO-PAGADIGORRIA C. L.; GODOI, V. A. F.; BRITO, M. N; GARCIA, R. F. Goji Berry (*Lycium barbarum*) Extract improves biometric, plasmatic and hepatic parameters of rats fed a high-carbohydrate diet. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.6, p. 877-889, 2018.

MA, Z. F.; ZHANG, H.; TEH, S. S.; WANG C. W.; ZHANG, Y.; HAYFORD, F.; WANG, L.; MA, T.; DONG, Z.; ZHANG, Y.; ZHU, Y. Goji Berries as a

Potential Natural Antioxidant Medicine: Na Insight into Their Molecular Mechanisms of Action. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v.2019, p.1-9, 2019.

XIA, W.; LI, X.; KHAN, I.; YIN, L.; SU, L.; LEONG, W. K.; BIAN, X., SU, J.; HSIAO, W. L. W.; HUANG, G. *Lycium Berry Polysaccharides Strengthen Gut Microenvironment and Modulate Gut Microbiota of the Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v.2020, p.1-10, 2020.