

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA INTESTINAL E HEPÁTICA EM RATOS OBESOS: EFEITOS DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Moringa oleifera*

Ana Luiza Russo Duarte 
Universidade Estadual de Maringá
– UEM
anaaluiza.rd@gmail.com

Nayra Thais Delatorre Branquinho 
Centro Universitário de Maringá –
Unicesumar
nayrathaisdb@hotmail.com

Rosangela Bergamasco 
Universidade Estadual de Maringá
– UEM
rbergamasco@uem.br

Márcia do Nascimento Brito 
Universidade Estadual de Maringá
– UEM
mnbrito@uem.br

Maria Raquel Marçal Natali 
Universidade Estadual de Maringá
– UEM
mrmnatali@uem.br

Resumo

A obesidade é um problema grave de saúde pública, associada ao desenvolvimento de várias comorbidades. A *Moringa oleifera* é um fitoterápico conhecido por propriedades químicas que podem contribuir no controle da obesidade através da redução do perfil lipídico e a inflamação hepática. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da solução aquosa de *M. oleifera* (200mg/Kg de massa corporal) por 60 dias, como alternativa terapêutica para a obesidade provocada pela ingestão de dieta rica em carboidratos simples (RCS) mediante análise morfológica hepática e jejunal de ratos Wistar. Foram constituídos os grupos: controle água (CC): alimentação com dieta padrão e gavagem gástrica com água filtrada; controle Moringa (CM): alimentação com dieta padrão e gavagem gástrica de Moringa; obeso água (OB): alimentação com dieta RCS e gavagem gástrica com água filtrada; obeso Moringa (OM): alimentação com dieta RCS e gavagem gástrica com Moringa. Aos 150 dias, após eutanásia, amostras de fígado e jejuno foram fixadas para processamento histológico e coloração com HE para análises morfológicas e morfométricas, e reação histoquímica PAS para quantificação de células caliciformes e glicogênio tecidual. Houve aumento do número e redução do perfil dos hepatócitos, sugerindo adaptação do órgão. No jejuno, a Moringa reduziu a espessura das túnicas, a parede intestinal e o índice de células caliciformes, que se encontrava aumentado nos grupos obesos, sugerindo melhora na absorção de nutrientes e defesa intestinal. A administração oral de *M. oleifera* em ratos obesos promoveu efeito positivo na morfometria hepática e intestinal.

Palavras-chave: Células caliciformes. Hepatócitos. Morfometria.

INTESTINAL AND HEPATIC MORPHOLOGICAL EVALUATION IN OBESE RATS: EFFECTS OF *Moringa oleifera* LEAF EXTRACT

Abstract

Obesity is a serious public health problem, associated with the development of several comorbidities. *Moringa oleifera* is an herbal medicine known for its chemical properties that can contribute to the control of obesity by reducing the lipid profile and liver inflammation. The objective of this work was to evaluate the effects of an aqueous solution of *M. oleifera* (200mg/kg of body mass) for 60 days, as a therapeutic alternative for obesity caused by the ingestion of a diet rich in simple carbohydrates (RSC) through hepatic and jejunal morphological analysis of Wistar rats. The following groups were formed: water control (CC): feeding with a standard diet and gastric gavage with filtered water; Moringa control (MC): feeding with a standard diet and Moringa gastric gavage; obese water (OB): feeding with RSC diet and gastric gavage with filtered water; Moringa obese (MO): feeding with RSC diet and gastric gavage with Moringa. At 150 days, after euthanasia, liver and jejunal samples were fixed for histological processing and staining with HE for morphological and morphometric analyses, and PAS histochemical reaction for quantification of goblet cells and tissue glycogen. There was an increase in the number and reduction in the profile of hepatocytes, suggesting adaptation of the organ. In the jejunum, Moringa reduced the thickness of the tunics, the intestinal wall and the goblet cell index, which was increased in obese groups, suggesting an improvement in nutrient absorption and intestinal defense. Oral administration of *M. oleifera* promoted a positive effect on liver and intestinal morphometry.

Keywords: Goblet cells. Hepatocytes. Morphometry.

1. INTRODUÇÃO

O predomínio da obesidade na população vem crescendo ano a ano, devido a um conjunto de fatores, tais como industrialização de alimentos, restrição do tempo de atividades físicas, limitações socioeconômicas e fatores ambientais, culturais e genéticos (CHOOI; DING; MAGKOS, 2019). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), é dever das políticas públicas e das ações da própria sociedade melhorar a sua qualidade de vida, apontando escolhas de prevenção, mudança na postura da alimentação e prática de exercícios físicos (BLUHER, 2019).

A obesidade é considerada uma doença crônica e grave que produz alterações no balanço energético do corpo, geralmente positivo, induzindo ou agravando a adipogênese (LIMA et al., 2008). Para pessoas obesas, as chances de desenvolvimento de outras comorbidades aumentam expressivamente, levando a quadros de diabetes *mellitus* tipo II, hipertensão arterial, dislipidemias, doenças cardiovasculares, esteatose hepática não alcoólica e alguns tipos de câncer (HORAN et al., 2014; SOUZA et al., 2016). O desenvolvimento dessas doenças está associado a desordens morfofuncionais sistêmicas, incluindo distúrbios relacionados à porção intestinal e hepática.

O intestino delgado é o sítio terminal de digestão dos alimentos, absorção de nutrientes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023), produz secreções endócrinas e muco. A organização histológica padrão do intestino delgado compreende a presença de quatro túnicas que a partir da luz do órgão são denominadas de túnicas mucosa, submucosa, muscular externa e serosa. No intestino delgado, a túnica mucosa é composta de epitélio simples cilíndrico (população celular heterogênea), lâmina própria constituída de tecido conjuntivo e a muscular da mucosa (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023). No epitélio intestinal, organizado em vilos e criptas, destacam-se os enterócitos que possuem microvilosidades e atuam na absorção intestinal (LIDDLE, 2018), as células caliciformes secretoras de mucinas constituintes da barreira intestinal, entre outras células. Pela veia porta hepática, os nutrientes são transportados para o fígado, que é constituído por hepatócitos que processam e armazenam nutrientes, acumulam metabólitos e eliminam substâncias tóxicas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023).

Algumas práticas de prevenção a obesidade, como exercícios físicos, reeducação alimentar e ingestão de alimentos funcionais, têm apresentado resultados positivos, principalmente evitando as doenças decorrentes desse grave quadro clínico. Além disso, tais práticas podem trazer muitos outros benefícios para a saúde. Dentre os alimentos funcionais, destaca-se a *Moringa oleifera* pertencente à família *Moringaceae*, nativa do Himalaia e Norte

da Índia, cultivada como alimento e remédio (medicina tradicional) e comercializada em grande parte dos países tropicais e subtropicais (SANDEEP et al., 2018).

A *M. oleifera* é considerada uma planta alimentícia com propriedades medicinais devido a sua composição química. Em suas folhas podem ser encontrados aminoácidos essenciais e não essenciais, importantes na formação de proteínas; macroelementos minerais, como cálcio, fósforo, magnésio, potássio, sódio e enxofre; microelementos minerais, como zinco, cobre, manganês, ferro, selênio e boro; ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados (FERNANDES, 2023; MOYO et al., 2011). Possuem também uma rica fonte de antioxidantes, representados pelo ácido bucólico, flavonoides, compostos fenólicos e carotenoides (ANWAR et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2022).

Propriedades anti-inflamatórias, antiasmática, antianêmica, ativadora do metabolismo, hipotensiva, antiespasmódica, analgésico, anticonvulsivante, antimicrobiano, anti-hiperlipidêmico, antiobesidade, antidiabético e hepatoprotetor, são atribuídas a *Moringa* (ANWAR et al., 2007; KANU et al., 2018; LATIF et al., 2011). Ratos Wistar obesos tratados com extrato de *M. oleifera* apresentaram redução no perfil lipídico e segundo os autores poderia ser considerado um potente agente hipocolesterolêmico (GHASI; NWOBODO; OFILI, 2000), sendo também associado ao efeito de reduzir níveis de esteatose e inflamação hepática (ASGARI-KAFRANI; FAZILATI; NAZEM, 2020).

Estudos que associam a obesidade e o intestino delgado em ratos em relação a animais não obesos se caracteriza pelo aumento da espessura da túnica mucosa e parede intestinal, e sugerem que o tipo de alimento, e não a quantidade consumida, foi responsável pelo efeito hipertrófico (SCOARIS et al., 2010). O trabalho de Tian e colaboradores (2021), que avaliou a morfometria intestinal de camundongos tratados com diferentes concentrações de *Moringa*, observou o aumento significativo na altura dos vilos, profundidade das criptas e na relação vilo/cripta, também em relação ao grupo controle, indicando relação entre a digestibilidade e a capacidade de absorção do intestino delgado de forma integrada, indicando uma forte capacidade de digerir e absorver nutrientes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da utilização do extrato das folhas de *M. oleifera* como uma alternativa terapêutica para a obesidade provocada pela ingestão de dieta rica em carboidratos simples (RCS) por meio da análise do comportamento morfológico e morfométrico hepático e jejunal de ratos Wistar adultos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados que envolveram o uso de animais estão de acordo com os princípios éticos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (Parecer n. 5764160120).

2.1 Estabelecimento dos grupos experimentais

Vinte ratos machos (*Rattus norvegicus*) adultos da linhagem Wistar foram utilizados. Os mesmos foram obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, aos 21 dias de idade, posteriormente transferidos para o Biotério Setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas e submetidos a fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 23°C.

Os ratos foram mantidos em caixas de polipropileno (46x24x20cm, quatro animais por caixa) e inicialmente distribuídos em dois grupos experimentais distintos. Dez animais receberam ração padrão para roedores (Nuvilab – Curitiba PR, Brasil) e, outros dez animais receberam dieta rica em carboidratos simples (RCS), constituída por ração triturada, leite condensado Moça®, açúcar cristal e água para indução da obesidade (LIMA et al., 2008).

A Tabela 1 apresenta a composição e valores nutricionais das dietas utilizadas. Todos os animais dispuseram de livre acesso à água e alimento.

Tabela 1 – Valores nutricionais da dieta padrão e da dieta rica em carboidratos simples (RCS).

Valores nutricionais	Dieta padrão	Dieta RCS
Calorias (kcal/100g de dieta)	292	318
Carboidratos (%)	57,2	68
Proteínas (%)	30	16
Gorduras (%)	12,5	16
Água (%)	12,5	27

Fonte: LIMA et al., 2008.

O pó das folhas de *Moringa oleifera* foi fornecido pela Prof.^a Dr.^a Rosangela Bergamasco do Departamento de Engenharia Química/UEM. Ao atingirem a idade de 90 dias, os animais do grupo controle (CC) e obeso (OB) foram fraccionados em quatro grupos adicionais (n=5): controle água (CC): animais alimentados com dieta padrão e que receberam por gavagem gástrica, 0,1mL/100g de massa corporal de água filtrada, por 60 dias; controle

Moringa (CM): animais alimentados com dieta padrão e que receberam por gavagem gástrica, solução aquosa de *M. oleifera* (200mg/kg de massa corporal) por 60 dias; obeso água (OB): animais alimentados com dieta RCS e que receberam por gavagem gástrica, 0,1mL/100g de massa corporal de água filtrada, por 60 dias; obeso Moringa (OM): animais alimentados com dieta RCS e que receberam por gavagem gástrica, solução aquosa de *M. oleifera* (200mg/Kg de massa corporal) por 60 dias.

2.2 Coleta do material biológico

Ao atingirem 150 dias de idade, os animais foram pesados, anestesiados e eutanasiados através de uma dose letal de pentobarbital sódico (120mg/kg de massa corporal, com adição de lidocaína) por via intraperitoneal. O fígado foi coletado, pesado e submetido a processamento histológico e histoquímico. O intestino delgado também foi coletado, mensurado seu comprimento total e amostras do jejuno foram submetidas ao processamento histológico e histoquímico.

2.3 Fígado

Amostras do fígado de aproximadamente 3mm, foram fixadas em solução de paraformaldeído 4% por 24 horas e armazenadas em álcool 70%. Subsequentemente foram desidratadas em uma série de concentrações crescentes de álcool (80%, 90% e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina histológica. Foram realizados cortes semi-seriados, de 5µm de espessura, em micrótomo rotativo (Leica® RM2245; Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) e, em seguida, foi realizada a desparafinização com xilol e hidratação em bateria de álcoois com concentrações decrescentes (100%, 90%, 80% e 70%).

Posteriormente, os cortes histológicos foram submetidos à coloração HE (Hematoxilina de Harris, por 30 segundos, e Eosina por 20 segundos). A seguir, os cortes foram desidratados com bateria de álcoois de concentrações crescentes, seguido imediatamente de diafanização com xilol e montados sob lamínula com resina sintética Permout®. Essa coloração foi utilizada para análise morfológica geral e determinação do número e área de hepatócitos.

Foram capturadas imagens da região próxima à veia central, em microscópio óptico (Nikon Eclipse®, Shimjuku, Japão) (objetiva de 40x) com câmera de alta resolução (Nikon®, Ds-Fi1c, Shimjuku, Japão), acoplado a um computador com programa computacional Q-Capture®. Para a avaliação do número de hepatócitos, foram utilizadas 40 imagens capturadas, por animal/grupo. A estas imagens foi adicionada uma tarja preta de área fixa para padronização da área de contagem, visto que as veias centro lobulares podem ter tamanhos diferentes. Todos

os hepatócitos presentes em cada imagem, exceto os cobertos pela tarja, foram quantificados. Para análise da área dos hepatócitos, foram mensurados 200 hepatócitos/animal, totalizando 1000 hepatócitos/grupo (μm^2). Estas análises foram realizadas com o software Image Pro Plus® versão 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA).

A reação histoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS) foi utilizada para estimar o percentual de glicogênio tecidual. Os cortes obtidos para esta análise foram desparafinizados em xilol e, posteriormente, passaram pela hidratação em bateria de álcool com concentrações decrescentes. Em seguida, foi realizada a oxidação com Ácido Periódico a 0,5% por 10 minutos e incubados com Reativo de Schiff por 40 minutos, acompanhado de três banhos em água sulfurosa, e finalizado com contra coloração com Hematoxilina por 30 segundos. Após a reação, os cortes foram desidratados com bateria de concentração crescente de álcoois seguido de diafanização com xilol e montados sob lamínula com resina sintética Permount®. Foram capturadas imagens da região próxima à veia centro lobular, em microscópio óptico (Nikon Eclipse®, Shimjuku, Japão) (objetiva de 40x) com câmera de alta resolução (Nikon®, Ds-Fi1c, Shimjuku, Japão), acoplado a um computador com programa computacional Q-Capture®. A análise histoquímica para avaliação do percentual de glicogênio tecidual em relação à área total foi realizada pela análise colorimétrica da área contendo glicogênio em 40 imagens/animal, realizadas com o software Image Pro Plus® versão 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA).

2.4 Intestino delgado

Foram fixadas amostras do jejuno em solução de paraformaldeído 4% para avaliação morfológica da parede intestinal, tûnicas e índice de células caliciformes. As amostras foram submetidas a processamento histológico de rotina, sendo realizado cortes semi-seriados de 5 μm de espessura (Micrótomo Rotativo Leica) corados com Hematoxilina-Eosina (HE) para a análise morfológica e mensuração da espessura das tûnicas e parede intestinal total. Amostras também foram submetidas a reação histoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS), afim de evidenciar as células caliciformes produtoras de mucinas neutras presentes no epitélio intestinal. Foram capturadas imagens em Microscópio Óptico (Nikon Eclipse®, Shimjuku, Japão) com câmera de alta resolução (Nikon®, Ds-Fi1c, Shimjuku, Japão), ligado a um aparelho computador com programa computacional Q-capture® instalado, e software de análise de imagem Image Pro Plus. Com o intuito de analisar a morfometria, foram mensuradas, com objetiva de 10x, em 10 pontos aleatórios por corte, perfazendo 100 mensurações/animal por

grupo, a espessura da parede total e das túnicas mucosa, submucosa e muscular externa, bem como a altura dos vilos e profundidade das criptas.

Para avaliação do Índice de Células Caliciformes, foram quantificadas 2500 células presentes em vilosidades íntegras e orientadas longitudinalmente, utilizando objetiva de 10x. O índice de células caliciformes (IC) foi definido a partir do cálculo: $IC = (N^\circ \text{ de células caliciformes} / N^\circ \text{ total de células na vilosidade}) \times 100$ (SOARES et al., 2015).

2.5 Análise estatística

Todos dados obtidos foram submetidos aos testes Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov para a verificação da normalidade. Dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn's (resultados expressos em mediana \pm intervalo de confiança). Dados paramétricos foram submetidos à Análise de Variância (One-way ANOVA), seguido pelo pós-teste de Tukey para comparação de médias (resultados expressos como média \pm desvio padrão). Para estas análises foi utilizado o software Graph Pad Prism® 5.0 (GraphPad, San Diego-CA, EUA). O valor de $p < 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais submetidos à dieta RCS apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) na massa corporal final. Entretanto, não houve efeito sobre a massa relativa do fígado e o comprimento do intestino delgado. A solução aquosa de Moringa (200 mg/Kg de massa corporal) reduziu ($p < 0,05$) o comprimento do intestino delgado do grupo OM em relação ao grupo OB (Figura 1).

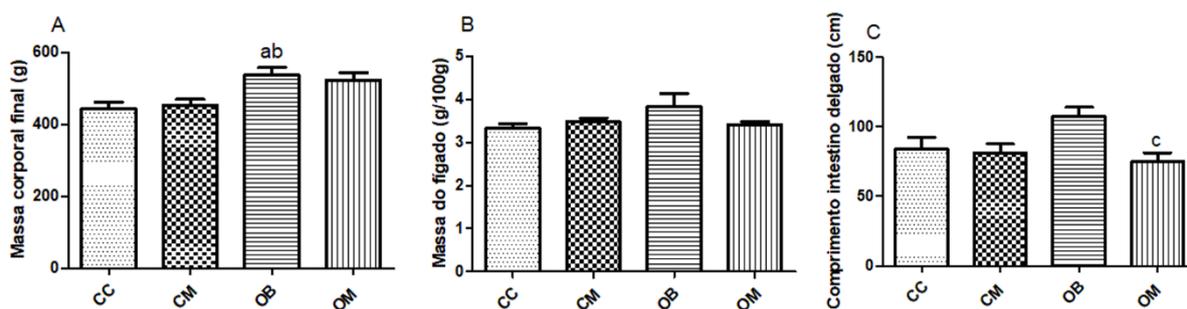


Figura 1 – Parâmetros biométricos de ratos aos 150 dias de idade. Massa corporal final (g) (A), massa relativa do fígado (g/100 de massa corporal) (B) e comprimento do intestino delgado (cm) (C). Grupos controle água (CC), controle Moringa (CM), obeso água (OB) e obeso Moringa (OM). One-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey, Resultados expressos em média \pm DP. (n=5/grupo). ^a $p < 0.05$ vs. CC; ^b $p < 0.05$ vs. CM; ^c $p < 0.05$ vs. OB.

3.1 Fígado

Não foram observadas alterações macroscópicas ou microscópicas no fígado, mantendo sua organização histológica padrão independente do grupo experimental. A tabela 2 apresenta os valores obtidos para o número de hepatócitos em uma área útil (área do campo da imagem subtraído da medida da tarja preta de área fixa) de 181693.14 μm^2 em 40 imagens capturadas próximo a veia centro lobular (Figura 2A), por animal/grupo, e área de hepatócitos (200 células/animal) (Figura 2B), bem como o percentual de glicogênio tecidual estimado em 40 imagens/animal (Figuras 2C e 2D).

A administração oral de Moringa (grupos CM e OM) aumentou o número e reduziu a área celular (perfil) dos hepatócitos (Tabela 2). Não houve diferença estatística entre os grupos sobre o percentual de glicogênio no tecido hepático. Os hepatócitos demonstraram resposta positiva para a reação histoquímica PAS (Figura 2C e 2D).

Tabela 2 – Número de hepatócitos (NH) (área útil de 181693.14 μm^2), área celular (perfil) de hepatócitos (AH) (μm^2) e percentual de glicogênio tecidual de ratos dos grupos: controle água (CC), controle Moringa (CM); obeso água (OB); obeso Moringa (OM).

	CC	CM	OB	OM
NH (cel/mm²)	228.8 ± 13.1	281.2 ± 9.9 ^a	249.9 ± 12.5 ^{ab}	276.7 ± 10.4 ^{ac}
AH (μm^2)*	286.8 (284.8-295.8)	272 (267.9-277.8) ^a	282.8 (279.1-287.1) ^b	277.4 (274.4-281.8) ^a
Glicogênio (%)	31.6 ± 6.2	31.5 ± 7.1	34.2 ± 5.8	31.2 ± 3.8

One-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey, expressos em média ± DP. * Kruskal-Wallis seguido de pós teste de Dunn's, resultados expressos em mediana com 95% de intervalo de confiança. (n=5/grupo). ^ap < 0.05 vs. CC; ^b p < 0.05 vs. CM.

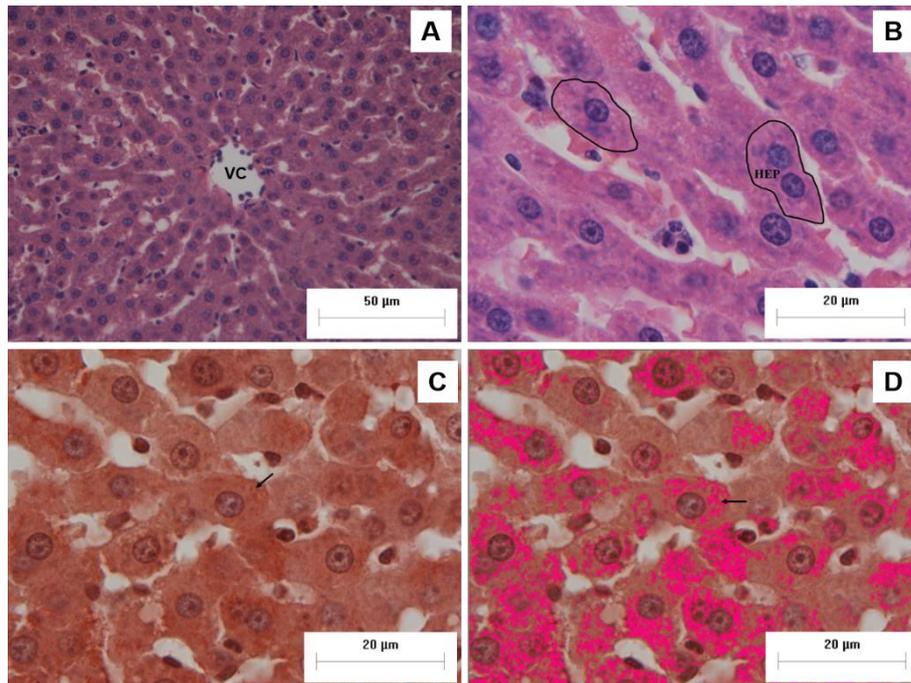


Figura 2 – Fotomicrografias de corte histológico de fígado de ratos do grupo controle água (CC). Coloração com Hematoxilina-Eosina em (A) cordões de hepatócitos e sinusóides convergindo para a veia central (VC), objetiva 40X e (B) demarcação da área dos hepatócitos (HEP), objetiva 100X. (C) Reação histoquímica PAS evidenciando o glicogênio intracelular (seta) e (D) marcação colorimétrica indicando a presença do glicogênio em rosa (seta), objetiva 100X.

3.2 Intestino delgado

A avaliação morfológica do jejuno indica preservação da organização histológica padrão das túnica mucosa, submucosa, muscular externa e serosa, independente do grupo experimental. A Figura 3A apresenta os limites das mensurações utilizadas na avaliação morfométrica. A figura 3B apresenta a reação histoquímica PAS obtida para evidenciar as células caliciformes produtoras de mucinas neutras nas vilosidades intestinais.

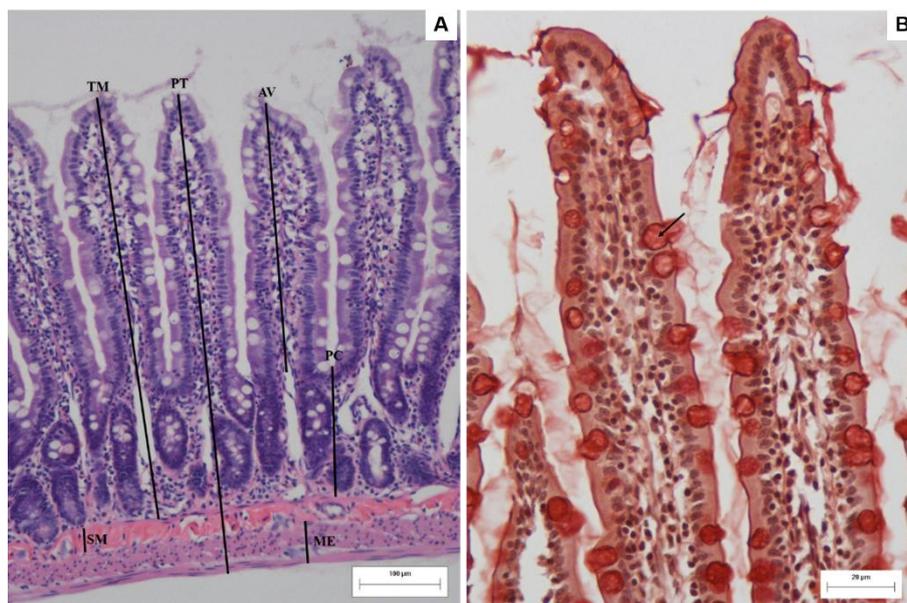


Figura 3 – Fotomicrografias de corte histológico de jejuno de ratos do grupo controle água. (A) Parede jejunal evidenciando as mensurações realizadas: altura do vilão (AV), profundidade da cripta (PC), túnica mucosa (TM), túnica submucosa (SM), túnica muscular externa (ME) e parede total (PT), mensurada do ápice do vilão até a serosa; HE, imagem capturada em 20X. (B) Vilosidades intestinais evidenciando as células caliciformes (seta); Reação histoquímica PAS imagem capturada em 40X.

A Tabela 3 apresenta resultados da morfometria jejunal de ratos dos diferentes grupos. Houve efeito da obesidade para grupos não tratados e tratados com relação ao controle, com aumento na túnica mucosa, altura dos vilos, profundidade das criptas, túnica muscular externa e parede total e redução da túnica submucosa. O índice de células caliciformes presentes nas vilosidades intestinais apresentou redução significativa nos ratos obesos (OB) com relação aos demais grupos.

Tabela 3 – Morfometria da parede jejunal (μm) de ratos: altura dos vilos, profundidade de criptas (PC), túnicas mucosa, submucosa e muscular externa, espessuras da parede total (PT) e índice de células caliciformes (ICC) (%). Grupos: controle água (CC), controle Moringa (CM), obeso água (OB) e obeso Moringa (OM).

	CC	CM	OB	OM
Alt. do vilão (μm)	294.6 \pm 15.3	309.7 \pm 18.4 ^a	335.4 \pm 16.6 ^{ab}	347.7 \pm 18.4 ^{abc}
PC (μm)	139.1 \pm 7.6	132.4 \pm 6.2 ^a	144.4 \pm 8.1 ^{ab}	141.8 \pm 6.1 ^{abc}
Mucosa (μm)	449.1 \pm 17.8	466 \pm 20.5 ^a	487.4 \pm 19.6 ^{ab}	504.5 \pm 20.7 ^{abc}
Submucosa (μm)	23.2 \pm 2.2	26.8 \pm 2.1 ^a	20.9 \pm 1.6 ^{ab}	20.4 \pm 1.2 ^{ab}

Muscular externa (μm) *	58.8 (57.8-59.1)	56.7 (54.4-62.6)	70.1 (69.3-71.5) ^{ab}	65.7 (65.1-66.9) ^{abc}
PT (μm)	512.5 \pm 17.1	516.3 \pm 21.3	569.2 \pm 24.2 ^{ab}	560.1 \pm 21.89 ^{ab}
ICC (%)	18.9 \pm 2.7	19.4 \pm 2.2	13.8 \pm 1.5 ^{ab}	15.7 \pm 2.5

One-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey, expressos em média \pm DP. * Kruskal-Wallis seguido de pós teste de Dunn's, expressos em mediana com 95% de intervalo de confiança. (n=5/grupo). ^ap < 0.05 vs. CC; ^b p < 0.05 vs. CM; ^c p < 0.05 vs. OB.

A obesidade é uma doença complexa causada por diversos fatores e de prevalência mundial. Além de alterar a fisiologia do corpo, a energia consumida é estocada no tecido adiposo em forma de triglicerídeos, favorecendo o aumento de massa corporal (CHOOI; DING; MAGKOS, 2019). A dieta RCS, utilizada neste trabalho (LIMA et al., 2008), foi eficaz em promover o aumento da massa corporal dos animais, comprovando o modelo de obesidade (Tabela 1). Assim como nos resultados obtidos para ratos e roedores (gerbil), em trabalhos distintos, a dieta rica em carboidratos também elevou a massa corporal (ABU-ELSAAD; EL-KAREF, 2018; SEMIANE et al., 2017).

Não houve efeito significativo da Moringa sobre a massa corporal dos animais controle, divergindo dos resultados de Allam et al. (2015) que obtiveram aumento no ganho de massa corporal, na ordem de 15 e 7,5% para ovelhas de 10 meses alimentadas com extrato de folhas de Moringa. Segundo os autores a melhora no ganho de massa em animais não-obesos poderia ser atribuída a baixa quantidade de extrato de Moringa fornecido, uma vez que o excesso de extrato pode indicar aumento de proteínas brutas na alimentação, pois são insolúveis em água (ALLAM et al., 2015). Nossos resultados convergem com os obtidos por Almatrafi et al. (2017), no qual cobaias, não apresentaram aumento de massa corporal, independente do grupo experimental ou da quantidade de Moringa ingerida durante seis semanas.

As doenças hepáticas estão diretamente relacionadas com a obesidade, causando alterações no metabolismo e, conseqüentemente, ocorrência de lesões que podem evoluir para vários estágios de gravidade, incluindo o estágio crônico (ALY et al., 2020; MARCHESINI et al., 2008). Apesar de apresentar-se em grande parte composta de fibras, segundo Almatrafi et al. (2017), o consumo de Moringa, não interrompeu a formação de micelas e circulação entero-hepática dos ácidos biliares. Este resultado pode sugerir melhora na absorção hepática (FERNANDEZ et al., 1997).

A obesidade provocada pela dieta RCS não promoveu alterações macroscópicas ou microscópicas visíveis no fígado, características de esteatose hepática, frequentes em alguns

modelos de obesidade, semelhante ao trabalho de Asgari-Kafrani; Fazilati; Nazem (2020), mantendo sua organização histológica padrão (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023). Os cordões de hepatócitos com núcleos centrais, intercalados a sinusoides que convergiam em direção à veia centro lobular, foram mantidos, além da ausência de infiltrados de células inflamatórias.

O tecido hepático dos animais que consumiram a solução aquosa de Moringa apresentou redução na área e aumento no número de hepatócitos, indicando uma capacidade adaptativa do órgão, mesmo que não foram apresentadas diferenças significativas em sua massa. Esta alteração está presente também em dietas de restrição calórica moderada em ratos (BRANQUINHO, et al. 2018). No mesmo estudo, observou-se que não houve diferença significativa no acúmulo de glicogênio entre os grupos.

As alterações morfométricas no fígado de animais que receberam a Moringa é justificável, pois trata-se de um produto com propriedades medicinais capaz de interferir na dinâmica do metabolismo hepático e tem função hepatoprotetora, impedindo que lesões crônicas se instalem (ALMATRAFI et al., 2017). Este efeito também é descrito no trabalho de ALY et al. (2020), que ressaltam ação do extrato da planta de *M. oleifera* na preservação da integridade estrutural da membrana hepatocelular, impedindo que enzimas potencialmente prejudiciais passem para a circulação.

Além disso, as folhas de Moringa possuem concentrações de quercetina (ATAWODI et al., 2010), portanto, pode-se especular que este flavonoide poderia estar relacionado com a modificação da transmissão de sinais de crescimento e apoptose celular, além de estar envolvido na diminuição da expressão da enzima chave envolvida na biossíntese de triglicerídeos (DGAT2), contribuindo para menores concentrações de triglicerídeos em cobaias (ALMATRAFI et al., 2017; ALY et al., 2020).

O intestino delgado desempenha um papel crucial na absorção e no processamento metabólico eficiente dos nutrientes ingeridos. É o primeiro órgão exposto à energia proveniente dos alimentos e tem a capacidade de se adaptar tanto funcional quanto morfológicamente com base na quantidade e qualidade dos alimentos consumidos. Recentemente, diversos estudos têm revelado que a obesidade induzida por dietas ricas em lipídios e/ou calorias afeta a mucosa intestinal, resultando em alterações na altura dos vilos, na profundidade das criptas e na espessura da túnica muscular, além de afetar a distribuição dos tipos celulares. (CLARA et al., 2017; SCOARIS et al., 2010; SEGÚ et al., 2022).

Por estar diariamente exposto a constantes ataques de ácidos, bile, toxinas e patógenos (IJOMA et al., 2018), o intestino delgado e, de forma mais acentuada, a mucosa intestinal, deve apresentar rápida reposição celular. Os resultados obtidos na análise morfométrica jejunal de

ratos obesos indicam aumento considerável na espessura da parede total, mucosa e da túnica muscular, e redução na espessura da submucosa e no índice de células caliciformes. Resultado semelhante foi obtido em ratos tornados obesos por ingestão de dieta de cafeteria, onde houve aumento da espessura da parede total e da túnica mucosa na porção jejunal, sendo que o efeito hipertrófico foi atribuído ao tipo de alimento consumido (SCOARIS et al., 2010).

A eficiência da absorção de nutrientes está relacionada à manutenção da arquitetura das túnicas intestinais, principalmente a túnica mucosa por meio dos vilos e criptas (GARTNER, 2017). Ao observar o aumento da altura das vilosidades em conjunto com a profundidade das criptas, é possível que haja relação direta entre o aumento da renovação celular e melhor absorção intestinal (KHAN et al., 2017). A partir disso, pode-se presumir que o consumo de alimento e ganho de massa está relacionado ao aumento na absorção intestinal e, conseqüentemente, da espessura das túnicas e parede intestinal, de acordo com os resultados obtidos por Silva et al. (2021), visto que o aumento da área de superfície pode significar sobrecarga nutricional devido a dieta hipercalórica. Infere-se, portanto, em efeito positivo da *Moringa*, uma vez que a espessura destas estruturas manteve a característica morfométrica obtida no grupo controle.

As células caliciformes produtoras de mucinas neutras constituem a primeira defesa do intestino delgado contra patógenos, os fixam em seu muco até que o sistema imune adaptativo finalize a proteção (CORFIELD, 2000). Houve redução no número de células caliciformes no jejuno dos ratos obesos, e possível redução na secreção de muco. Conforme destacado por Sharma e Schumacher (1995), o tipo de dieta pode modificar a quantidade de mucinas, o que implicaria em variações no número das células caliciformes. Scoaris et al. (2010) também obtiveram redução no número destas células no jejuno de ratos obesos por dieta de cafeteria. Schoffen et al. (2014), identificaram que o menor aporte de nutrientes em ratos promoveu redução do número de células caliciformes no colo proximal, enquanto que manutenção deste número foi obtido por Soares et al. (2015), no duodeno e jejuno e redução no íleo de camundongos tornados obesos por dieta hiperlipídica.

Nossos resultados indicam que o consumo de *Moringa* tende a retornar o índice de células caliciformes ao do grupo controle o que poderia configurar um efeito protetor de normalização da dinâmica das células do epitélio da mucosa intestinal em função de possíveis alterações na microbiota devido à natureza da dieta. Estudo de Khan et al. (2017), demonstram que a contagem total de células caliciformes no duodeno de frangos suplementados com *Moringa*, em diferentes níveis, apresentou aumento em relação ao grupo controle e ressaltam

um possível efeito protetor no trato gastrointestinal e produção de mucinas neutras, assegurando maior defesa do organismo

4. CONCLUSÃO

Constatamos benefícios nutricionais no consumo da *Moringa oleifera*. A sua administração oral em ratos Wistar obesos durante 60 dias promoveu alterações na morfometria hepática e intestinal. O fígado apresentou adaptação elevando o número e reduzindo o perfil dos hepatócitos e os parâmetros intestinais avaliados também refletiram efeito positivo da Moringa.

REFERÊNCIAS

- ABU-ELSAAD, N.; EL-KAREF, A. The falconoid mitigates the myocardial inflammatory response induced by high-carbohydrate/high-fat diet in Wistar rats. **Inflammation**, v. 41, p. 221-231, 2018. DOI: 10.1007/s10753-017-0680-8
- ALLAM, S.; ABOULFOTOH, G.; EL-GARHY, G.; GAMAL, O. Use of moringa leaves (*moringa oleifera*) in fattening lambs rations. **Egyptian Journal Nutrition and Feeds**, v. 18, n. 2, p. 11-17, 2015. DOI: 10.21608/ejnf.2015.104349
- ALMATRAFI, M. M.; VERGARA-JIMENEZ, M.; MURILLO, A. G.; NORRIS, G. H.; BLESSO, C. N.; FERNANDEZ, M. L. Moringa leaves prevent hepatic lipid accumulation and inflammation in guinea pigs by reducing the expression of genes involved in lipid metabolism. **International Journal of Molecular Science**, n. 18, v. 1330, p.1-12, 2017. DOI: 10.3390/ijms18071330
- ALY, O.; ABOUELFADL, D. M.; SHAKER, O. G.; HEGAZY, G. A.; FAYEZ, A. M.; ZAKI, H. H. Hepatoprotective effect of *Moringa oleifera* extract on TNF- α and TGF- β expression in acetaminophen-induced liver fibrosis in rats. **Egyptian Journal of Medical Human Genetics**, n. 21, v. 69, p. 1-9, 2020. DOI: 10.1186/s43042-020-00106-z
- ANWAR, F.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 17-25, 2007. DOI: 10.1002/ptr.2023
- ASGARI-KAFRANI, A.; FAZILATI, M.; NAZEM, H. Hepatoprotective and antioxidante activity of aerial parts of *Moringa oleifera* in prevention of non-alcoholic fatty liver disease in Wistar rats. **South African Journal of Botany**, v. 129, n. 2020, p.82-90, 2020. DOI: 10.1016/j.sajb.2019.01.014
- ATAWODI, S. E.; ATAWODI, J. C.; IDAKWO, G. A.; PFUNDSTEIN, B.; HAUBNER, R.; WURTELE, G.; BARTSCH, H.; OWEN, R. W. Evaluation of the polyphenol potent and antioxidant properties of methanol extracts of the leaves, stem, and root barks of *Moringa oleifera* lam. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 3, p. 710-716, 2010. DOI: 10.1089/jmf.2009.0057

- BLUHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, n. 15, p. 288-298, 2019. DOI: 10.1038/s41574-019-0176-8
- BRANQUINHO, N. T. D.; LOIOLA, M. S. M.; CREPALDI, L. D.; YAMADA, L. A.; AZEVEDO, S. C. S. F.; BATAGLINI, C.; BRITO, M. N.; GODOI, V. A. F.; PEDROSA, M. M. D.; NATALI, M. R. M. Responses of the adult rat glucose metabolism to early life feeding, caloric restriction and refeeding. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, n. 2018, p. 370-379, 2018. DOI: 10.17265/2328-2150/2018.04.008
- CHOOI, Y. C.; DING, C.; MAGKOS, F. The epidemiology of obesity. **Metabolism**, n. 92, v. 2019, p. 6-10, 2019. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.09.005
- CLARA, R.; SCHUMACHER, M.; RAMACHANDRAN, D.; FEDELE, S.; KRIEGER, J. P.; LANGHANS, W. Metabolic adaptation of the small intestine to short- and medium-term high-fat diet exposure. **Journal of Cellular Physiology**, n. 232, v. 1, p. 167-175, 2017. DOI: 10.1002/jcp.25402
- CORFIELD, A. P. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease. **Gut**, v. 47, p. 589-594, 2000. DOI: 10.1136/gut.47.4.589
- FERNANDES, J. M. Morfologia e uso da Moringa na medicina popular (*Moringa oleifera*, Moringaceae): uma espécie proibida em produtos tradicionais fitoterápicos. **Enciclopédia Biosfera – Centro Científico Conhecer**, v.20, n.43, p.117-129, 2023. DOI: 10.18677/EnciBio_2023A10
- FERNANDEZ, M. L.; VERGARA-JIMENEZ, M.; CONDE, K.; BEHR, T; ABDEL-FATTAH, G. Regulation of apolipoprotein B-containing lipoproteins by dietary soluble fiber in guinea pigs. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, v. 3, p.814-822, 1997. DOI: 10.1093/ajcn/65.3.814
- GARTNER, L. P. **Tratado de Histologia**. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017
- GHASI, S.; NWOBODO, E.; OFILI, J. O. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 1, p. 21-25, 2000. DOI: 10.1016/S0378-8741(99)00106-3
- HORAN, M.; GIBNEY, E.; MOLLOY E.; MCAULIFFE F. Methodologies to assess paediatric adiposity. **Irish Journal of Medical Science**, v. 184, p. 53-68, 2018. DOI: 10.1007/s11845-014-1124-1
- IJOMA, S. N.; NWAOGAZI, E. N.; NWANKWO, A. A.; OSHILONYA, H.; EKELEME, C. M.; OSHILONYA, L. U. Histological exhibition of the gastroprotective effect of *Moringa oleifera* leaf extract. **Comparative Clinical Pathology**, v. 27, p. 327-332, 2018. DOI: 10.1007/s00580-017-2594-0
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO J. **Histologia Básica**. 14° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.
- KANU, A. N.; ALAKALI, J. S.; EKE, M. O.; GIRGI, A. T.; EZEocha, C. V. Influence of *Moringa oleifera* seed meal and yam blend in body weight and glucose level of alloxan

- induced diabetes mellitus male albino rats. **Asian Food Science Journal**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2018. DOI: 10.9734/AFSJ/2018/40468
- KHAN, I.; ZANEB, H.; MASOOD, S.; YOUSAF, M. S.; REHMAN, H. F.; REHMAN, H. Effect of *Moringa oleifera* leaf powder supplementation on growth performance and intestinal morphology in broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, n. 1, p. 114-121, 2017. DOI: 10.1111/jpn.12634
- LATIF, S.; ANWAR, F.; HUSSAIN, A. I.; SHAHID, M. Aqueous enzymatic process for oil and protein extraction from *Moringa oleifera* seed. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, p. 1012-1018, 2011. DOI: 10.1002/ejlt.201000525
- LIDDLE, R. A. Interactions of gut endocrine cells with epithelium and neurons. **Comprehensive Physiology**, n. 8, p. 1019-1030, 2018. DOI: 10.1002/cphy.c170044
- LIMA, D. C.; SILVEIRA, S. A.; HAIBARA, A. S.; COIMBRA, C. C. The enhanced hyperglycemic response to hemorrhage hypotension in obese rats is related to an impaired baroreflex. **Metabolic Brain Disease**, n. 23, p. 361-373, 2008. DOI: 10.1007/s11011-008-9101-x
- MARCHESINI, G.; MOSCATIELLO, S.; DI DOMIZIO, S.; FORLANI, G. Obesity-associated liver disease. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, n. 93, v. 11, p. 74-80, 2008. DOI: 10.1210/jc.2008-1399
- MOYO, B.; MASIKA, P. J.; HUGO, A.; MUCHENJE, V. Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera Lam.)* leaves. **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.60, p.12925-12933, 2011. DOI: 10.5897/AJB10.1599
- OLIVEIRA, S. M. L.; MARCUCCI, M. C.; GONÇALVES, C. P.; MELO, A.; OLIVEIRA, C. R. Composição química, atividade biológica e segurança de uso da *Moringa oleifera* Lam. Moringaceae. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v.4, n.3, p.1-15, 2022. DOI: 10.31415/bjns.v4i3.161
- SANDEEP, G.; ANITHA, T.; VIJAYALATHA, K.; SADASAKTHI, A. *Moringa* for nutritional security (*Moringa oleifera* Lam.). **International Journal of Botany Studies**, n. 4, n. 1, p. 21-24, 2018. DOI: 10.13140/RG.2.2.28647.91045
- SCHOFFEN, J. P. F.; VICENTINI, F. A.; MARCELINO, C. G.; ARAÚJO, E. J. A.; PEDROSA, M. M. D.; NATALI, M. R. M. Food restriction beginning at lactation interferes with the cellular dynamics of the mucosa and colonic myenteric innervation in adult rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n. 86, v. 4, p. 1833-1847, 2014. DOI: 10.1590/0001-3765201420140163
- SCOARIS, C. R.; RIZO, G. V.; ROLDI, L. P.; MORAES, S. M. F.; PROENÇA, A. R. G.; PERALTA, R. M.; NATALI, M. R. M. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. **Nutrition**, v. 26, n. 2010, p. 312-320, 2010. DOI: 10.1016/j.nut.2009.04.012
- SEGÚ, H.; JALŠEVAC, F.; PINENT, M.; ARDÉVOL, A.; TERRA, X.; BLAY, M. T. Intestinal morphometric changes induced by a western-style diet in Wistar rats and GSPE counter-regulatory effect. **Nutrients**, v. 14, n. 13, p. 1-11, 2022. DOI: 10.3390/nu14132608

SEMIANE, N.; FOUFELLE, F.; FERRÉ, P.; HAINAULT, I.; AMEDDAH, S.; MALLEK, A.; KHALKHAL, A.; DAHMANI, Y. High carbohydrate diet induces nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in a desert gerbil. **Comptes Rendus Biologies**, v. 340, n. 2017, p. 25-36, 2017. DOI: 10.1016/j.crvi.2016.09.002

SHARMA, R.; SCHUMACHER, U. Morphometric analysis of intestinal mucins under different dietary conditions and gut flora in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 40, n. 12, p. 2532-2539, 1995.

SOARES, A.; BERARDI, E. J.; FERREIRA, P. E. B.; BAZOTTE, R. B.; BUTTOW, N. C. Intestinal and neuronal myenteric adaptations in the small intestine induced by a high-fat diet in mice. **BMC Gastroenterology**, v. 15, n. 3, p. 1-9, 2015. DOI: 10.1186/s12876-015-0228-z

SOUZA, G. E. S.; PRUDENCIATTO, M. R.; TANAKA, R. S.; MARTELLI, A.; DELBIM, L. R. Exercícios físicos como ferramenta de enfrentamento às comorbidades associadas à obesidade: revisão da literatura. **Archives of Health Investigation**, v. 5, n. 2, p.112-119, 2016. DOI: 10.21270/archi.v5i2.1307

TIAN, H.; LIANG, Y.; LIU, G.; LI, Y.; DENG, M.; LIU, D.; GUO, Y.; SUN, B. *Moringa oleifera* polysaccharides regulates caecal microbiota and small intestinal metabolic profile in C57BL/6 mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, n. 2021, p.595-611, 2021. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.144