

Carolina S Araujo<sup>1,2</sup>, Luiz P Scalzer<sup>1,3</sup>, Vanessa Siniscalchi<sup>1,4</sup>, Ary G Silva<sup>1,5</sup>, Denise C. Endringer<sup>1,6</sup> & Robison P Garcia Jr.<sup>1,7</sup>

## Avaliação do efeito da “essência de hormônio natural, almeirão-roxo” produzido pela Pastoral da Saúde de Domingos Martins, ES, em ratas com menopausa cirúrgica<sup>8</sup>

Evaluation of the effect of “essence of natural hormone, Chicory” produced by the Pastoral of Health Domingos Martins, ES, in rats with surgical menopause

**Resumo** A fitoterapia popular se baseia no conhecimento tradicional de plantas medicinais, muitas vezes sem comprovação de suas propriedades terapêuticas. Diversos estudos têm demonstrado que fitoestrogênios seriam alternativas naturais à terapia de reposição hormonal (TRH). O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do “hormônio natural”, almeirão-roxo, na TRH em ratas com menopausa cirúrgica. Estas foram divididas em três grupos: controle (CONT), castradas (CAST), castradas com tratamento (TRAT). O material vegetal, do qual é feito os extratos, foi coletado para a devida identificação. Os extratos, adquiridos na Pastoral da Saúde de Domingos Martins, foram concentrados e o resíduo seco foi solubilizado em solução salina para serem administrados nos animais. Após o tratamento, foram feitas análises por citologia esfoliativa, peso do útero, peso do fígado e peso corporal. O útero e o fígado foram retirados para obtenção do peso úmido em balança e os valores foram corrigidos pelo peso corporal, onde foram realizadas análises de variância (ANOVA), para análise estatística. Os ensaios biológicos realizados não mostraram ação estrogênica no útero, pois houve uma redução significativa tanto no peso úmido do útero quanto na relação peso do útero/peso corporal (mg/g). O fígado mostrou comportamento normal não indicando toxicidade.

**Palavras-chaves** *Cichorium intybus* L.; climatério; fitoestrógeno; isoflavonas; menopausa

**Abstract** The herbal medicine therapy is mainly based on the traditional medicinal knowledge. However, this knowledge needs to be scientifically evaluated. Several studies have shown that phytoestrogens may represent an alternative to natural hormone replacement therapy (HRT). This study aimed to evaluate the effect of the “natural hormone” of Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a HRT in rats with surgical menopause. The animals were divided into three groups: control (CONT), castrated (CAST), castrated with treatment (TRAT). The tinctures made by the Pastoral Health of Domingos Martins were concentrated and a solid residue was solubilized in saline. One voucher was prepared and identified by a botanic. After the treatment the animals were sacrificed, subsequently analyses were performed in cytology, and uterine weight, liver weight and body weight were quantified. Analysis of variance (ANOVA) was performed for statistical analysis. No estrogen effect in the uterus could be detected, because there was a significant reduction in both the wet weight of the uterus and in weight of the uterus / body weight (mg g<sup>-1</sup>). An analysis of the liver did not show signs of toxicity.

**Keywords** *Cichorium intybus* L.; climacteric; phytoestrogens; isoflavones; menopause.

1 Centro Universitário Vila Velha - UVV. Rua Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, Vila Velha, ES, Brasil. CEP 29101-770

2 carolfar\_sa@hotmail.com

3 skolzer@hotmail.com

4 salsinessa@hotmail.com

5 arygomes@uvv.br

6 denise.endringer@uvv.br

7 robisongarcia@yahoo.com.br

8 Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação de Graduação em Farmácia.

### Introdução

Com o crescente número de mulheres que entram na menopausa, a faixa etária na próxima década da utilização de alternativas ao padrão da terapia de reposição hormonal (TRH) aumentará. O climatério que deriva do grego (klimacton = crise) significa “período de crise ou mudança” e é entendido como o período de transição entre a fase reprodutiva ou menacme e a fase não reprodutiva ou senil da mulher. Essas alterações estão relacionadas com mudanças

hormonais endócrinas em relação à função do ovário, ocasionando disfunção, perda de fertilidade e ciclo menstrual debilitado. Em função dessas variações hormonais, a mulher entra na menopausa normalmente a partir dos 51 anos de idade, apresenta variações nesse período pela deficiência hormonal e em conjunto com alterações fisiológicas e comportamentais (Zahar et al. 2005).

Na menopausa, mais de 100 sintomas já foram descritos e ocorrem com frequência. Há os neurovegetativos e os urogenitais. Os sintomas neurovegetativos mais comuns são: fogachos; sudorese; cefaléias; palpitação; vertigem; zumbido. Além dos sintomas neuropsíquicos como: alteração do humor; ansiedade; diminuição da libido; labilidade emocional; astenia; déficit de memória. E os sintomas urogenitais: secura vaginal; prurido vulvar; dispareunia; pré-disposição a infecções urogenitais; síndrome uretral; incontinência urinária; dificuldade de esvaziamento vesical. Os sintomas vasoativos (fogachos) e sudorese noturna ocupam os primeiros lugares nesse ranking e claramente dependentes do hiperestrogenismo, respondendo de modo imediato à TRH (Demetrio & Vieira Filho, 2001).

O fim do ciclo menstrual se dá pelo esgotamento dos folículos ovarianos, sendo que a duração dessa fase é o que determina a duração do ciclo menstrual. A elevação dos níveis pelo folículo estimulante (FSH) e queda do hormônio inibina, promovem alteração antes da menopausa, porém os níveis de estradiol e do hormônio luteinizante (LH) não diminuem antes da menopausa, permanecendo na sua faixa normal até a pós-menopausa. A diminuição de inibina pelos folículos começa mais ou menos aos 35 anos, tendo esse processo acelerado após os 40 anos, sendo que isso reflete na diminuição da fecundidade. Por consequência, ocorrerá um aumento de dez a vinte vezes na quantidade de FSH e três vezes na quantidade de LH tendo uma queda assim de gonadotrofinas (Tonisi, 2000).

O estradiol é produzido pelos folículos do ovário feminino depois da estimulação pelo hormônio folículo estimulante (FSH) e secretado na circulação. Na fase folicular a concentração de estradiol encontra-se por volta de 30 a 120 pg.mL<sup>-1</sup>. Já no período pós-menopausa é de 10 a 20 pg.mL<sup>-1</sup>, assim, com esses níveis de hormônios reduzidos dá origem a algumas alterações como secura vaginal, fogachos, alterações psíquicas, de intensidade variável. A terapia de reposição de estrogênio tem alcançado resultados significativos no controle destes sintomas e uma melhor qualidade de vida para essas mulheres, mas se aplicado em doses excessivas pode levar a um hiperestrogenismo, provocando algumas alterações como: mastalgia (dor na mama), edema, desconforto nos membros inferiores, obesidade, diabetes, hipertensão e carcinomas do endométrio (Wygoda, 1999).

O emprego de plantas medicinais no tratamento de doenças tem aumentado devido à procura de um estilo de vida mais saudável e o retorno à natureza aos valores essenciais. Fatores como, a descoberta de muitos efeitos adversos em fármacos de síntese; elevado preço dos fármacos de síntese e o desenvolvimento de métodos que facilitam a preparação e administração dos medicamentos fitoterápicos, contribuíram significativamente para o uso desses produtos à base de plantas e outros produtos de origem vegetal (Maciel, 2002).

Contudo observa-se que diversos usos de plantas medicinais estão fundamentados apenas na indicação popular das plantas sem nenhuma comprovação clínica.

A “essência de hormônio natural” é um extrato utilizado para terapia de reposição hormonal, o qual é preparado pela Pastoral da Saúde, a partir do almeirão-roxo, único material vegetal presente no produto. O nome “essência de hormônio natural” é um termo presente no rótulo, porém devido às características da técnica empregada na preparação ser a maceração, o nome correto para designá-lo seria macerado, modificação está que será proposta aos responsáveis pela pastoral.

No Brasil, a ANVISA aprova o uso de isoflavonas somente para o tratamento dos fogachos e como adjuvante na redução dos níveis séricos do colesterol (Brasil, 2002).

O almeirão-roxo, família Asteraceae, é uma planta herbácea perene, pertence à espécie *Cichorium intybus* L., subclasse Asteridae e ordem Asterales, subfamília Cichorioideae, de ciclo anual curto, cultivada em quase todas as regiões do Brasil, atingindo até 50 centímetros de altura. Sua raiz é tuberosa longa e tem formato cônico, cujo carboidrato de reserva é a inulina. Suas folhas são verdes com nervuras arroxeadas, alongadas e estreitas, de superfície lisa recoberta de pêlos e desenvolvem-se formando uma roseta próxima ao solo. É usada como hortaliça de folhas comumente na alimentação humana em saladas ou cozidas, como raiz seca e moída como chá, em substituição e ou como complemento para o café. É natural da Europa e cultivado em todo o mundo. Devido ao sabor de suas folhas, é conhecido também como chicória-amarga (Sandanielo & Lunardi, 2002).

Suas folhas e raízes têm sido empregadas na medicina há cerca de 4 mil anos antes de Cristo, até hoje é considerada um remédio confiável e inofensivo, usado como medicação amarga, diurética e laxativa e, segundo os levantamentos etnofarmacológicos, seu uso reduz inflamações e proporciona um efeito tônico no fígado e vesícula, sendo por isso empregada para tratar os males do fígado, reumatismo, gota e hemorróidas. As folhas frescas colhidas antes da floração são empregadas no preparo de xaropes, indicado no tratamento de distúrbios digestivos pelas atividades aperitivas, laxantes e antiácidas (Lorenzi & Matos, 2008).

Mulheres que sofrem de síndrome pré-menstrual

(SPM) relatam que o uso regular de raiz de chicória como um tônico amargo pode ajudar na manutenção do equilíbrio hormonal e diminuição dos sintomas da SPM. Além disso, fortalece o fígado, inibe o crescimento de *Candida sp*, aumenta a capacidade do corpo de absorver cálcio o que mantém os dentes e ossos fortes (Kapes, 2001).

Assim, a maioria dos fitoterápicos está fundamentada apenas no uso popular das plantas sem nenhuma comprovação clínica, não podendo ser competitivo, por isso a comprovação é de suma importância. O presente projeto se propõe à avaliação experimental do efeito da “essência de hormônio natural”, extraído da planta do almeirão, produzido pela Pastoral da Saúde de Domingos Martins, ES, em ratas com menopausa cirúrgica.

## Métodos

### Coleta e identificação do material vegetal

Um espécime de *Cichorium intybus L.*, divisão: Magnoliophyta (Angiosperma), família: Asteraceae (Compositae) (figura 1) foi coletado no mês de outubro de 2009, em Domingos Martins (ES), na horta da Pastoral da Saúde da Igreja Católica. A espécie foi identificada pela Profa. M.Sc. Solange Z. Schneider, curadora do herbário do Centro Universitário Vila Velha – UVV.

### Obtenção do extrato

Foram adquiridos seis frascos de “Essência de Hormônio Natural” (Figura 2), na Pastoral da Saúde de Domingos Martins, totalizando cerca de 164 mL. Este extrato foi evaporado em banho-maria, a 50 °C até a obtenção do



**Figura 1** Almeirão-roxo cultivada pela Pastoral da Saúde, Domingos Martins – ES. Fotografia: Luiz P. Scalzer



**Figura 2** Frascos da “Essência de Hormônio Natural” produzido pela Pastoral de Domingos Martins. Fotografia: Luiz P. Scalzer. Arquivo pessoal.

resíduo, totalizando cerca de 630 mg de resíduo seco. O resíduo foi ressuspensão com 3 mL de etanol (Cromoline®, Química Fina). Seguindo-se de adição de 4 mL de etanol a 70%. A suspensão resultante foi, então, solubilizada em até 35mL com solução salina (NaCl 0,9 %).

### Animais experimentais

Foram utilizadas 19 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), fêmeas com três meses e com peso corporal variando entre 200 a 220 g que foi fornecido pelo Biotério do Complexo Biopráticas – UVV. Um grupo de 13 animais foi submetido à ovariectomia bilateral. As ratas foram separadas aleatoriamente por sorteio, identificadas e acondicionadas em gaiolas. As gaiolas foram identificadas com dia de castração, número da gaiola e o extrato administrado, sendo mantidas em condições de iluminação, ambiente climatizado adequados, com água filtrada e ração Biobase Alimentação Animal (Biotec®, Basequímica produtos químicos LTDA).

As ratas foram divididas em três grupos: o grupo castrado (CAST); o grupo castrado e tratado (TRAT); e o grupo controle (CONT), o qual não foi submetido à cirurgia da retirada do ovário. Todos os animais dos grupos tiveram livre acesso à água e ração durante o tratamento.

### Procedimento de castração

Após anestesia com Tiopental sódico 500mg (Anental®, Cellofarm), com dose calculada de 50 mg.kg<sup>-1</sup> de animal, por via intraperitoneal, as ratas foram castradas por meio de uma incisão de 1 a 1,5 cm na pele, entre a última costela e a coxa, a 1 cm da linha mediana, seguida de uma incisão na camada muscular, abrindo a cavidade peritoneal para posterior remoção dos ovários e ligadura da trompa uterina. Após a retirada dos ovários, realizou-se a sutura da musculatura e da pele. O mesmo processo foi realizado no lado oposto (Dantas et al., 1999). Ao final do procedimento os animais receberam 0,1 ml do antibiótico Enrofloxacin 2,5% (Flotril®, Schering-

Plough), por via intramuscular e no local da sutura aplicou-se topicamente iodopovidina.

#### Tratamento com o extrato

A partir do décimo quarto dia após o processo de castração, foi dado início ao tratamento, administrando 0,2 mL do extrato por via oral (gavagem) durante 14 dias consecutivos, no período matutino, exceto nos grupos CAST e CONT. Semanalmente todas as ratas foram pesadas. No vigésimo oitavo dia, foi realizado o esfregaço vaginal, e em seguida, os animais foram sacrificados por meio de doses elevadas de anestésico Tiopental sódico para a retirada do útero (histerectomia total) e do fígado. Os grupos CONT e CAST receberam 0,2 mL do veículo utilizado no extrato.

#### Esfregaço vaginal

Após quatorze dias de iniciado o tratamento, foi realizado a coleta da secreção vaginal das ratas, através da introdução por Swab na vagina do animal, onde foi rotacionado no sentido horário (em todas as direções) e imediatamente rolado sobre uma lâmina de microscopia limpa e devidamente identificada, fazendo três impressões lineares. Após secagem do esfregaço, a lâmina foi imersa em metanol, por um minuto, para sua fixação, sendo logo depois corada com Panótico Rápido LB (Porto, et al. 2007). Uma lâmina diferente foi usada para cada animal. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico, de forma coordenada em “dentes”, utilizando as lentes do condensador, em aumento de 4, 10 e 40 vezes, para a caracterização morfológica e tintorial das células de descamação do epitélio vaginal.

#### Procedimento de histerectomia total

A histerectomia foi realizada através da abertura do abdômen em avental, rebatendo todo o intestino delicadamente, expondo, assim, o útero bilobado, localizando deste modo, o cérvix (ou cérvix) uterino (esta região é mais clara e mais consistente que o restante do útero), realizando o corte neste nível. O útero foi distendido suavemente para remoção de toda gordura aderida na extensão dos dois lobos, dissecando-se desta maneira ainda no animal. Feito isto, o útero e fígado foram retirados e colocados sobre um pedaço de papel de filtro, removendo todo o excesso de gordura e de secreção em seu interior, e em seguida, submetidos à obtenção do peso úmido em balança. O peso úmido foi corrigido pelo peso corporal para estimar a hipertrofia uterina (peso do útero/peso corporal ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) e peso do fígado/peso corporal ( $\text{mg.g}^{-1}$ )).

#### Análise estatística

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) uma via,

para análise estatística dos valores do peso corporal, peso do útero, peso do fígado e relação peso corporal/peso do útero, seguida pelo cálculo das diferenças mínimas significativas entre as médias pelo teste a posteriori Fisher's. Para análise estatística e representação gráfica dos resultados foram empregados os programas GBStat (S.N. 96003126) e Slide Write Plus (S.N. C018529), respectivamente. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).

## Resultados e discussão

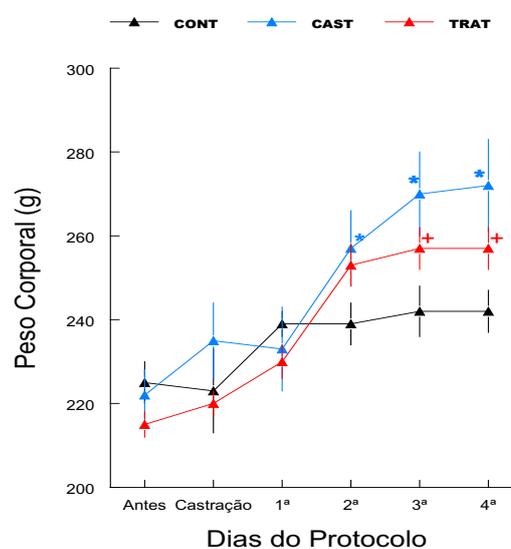
A “essência de hormônio natural” preparada a partir de folhas de almeirão-roxo foi selecionada devido a uma possível característica estrogênica e pela baixa quantidade de pesquisa publicada a respeito de possível fitoestrógeno existente.

No ensaio pré-clínico, com os pesos corporais obtidos semanalmente foram feitas às médias dos grupos e o erro padrão da média (Tabela I e Figura 3).

**Tabela I** Médias semanais do peso corporal dos animais  $\pm$  EPM nas quatro semanas do experimento.

Grupos	Antes Castração	Castração	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana
CONT	225,7 $\pm$ 5,4	223,3 $\pm$ 10,1	239,3 $\pm$ 3,4	239,3 $\pm$ 4,8	242,7 $\pm$ 5,9	242 $\pm$ 4,7
CAST	221,7 $\pm$ 6,2	235,3 $\pm$ 8,9	233 $\pm$ 9,7	256,7 $\pm$ 9,0*	269,7 $\pm$ 9,7**	272,3 $\pm$ 11,4**
TRAT	214,6 $\pm$ 3,0	219,7 $\pm$ 2,8	230 $\pm$ 4,4	253,3 $\pm$ 5,4*	257,4 $\pm$ 4,5 <sup>+</sup>	256,6 $\pm$ 5,0 <sup>+</sup>

Legenda: \* $p < 0,05$  comparando ao grupo CONT. \*\*  $p < 0,01$  comparada ao grupo CONT. + $p < 0,05$  comparando ao grupo CAST.



**Figura 3** Médias semanais do peso corporal dos animais nas seis semanas. \* $p < 0,05$  comparando ao grupo CONT. \*\*  $p < 0,01$  comparada ao grupo CONT. + $p < 0,05$  comparando ao grupo CAST.

A partir dos dados apresentados na Tabela 1, elaborou-se o gráfico da Figura 3 mostrando que no dia da castração os grupos CAST e TRAT tiveram um aumento do peso corporal, já o grupo CONT teve uma manutenção do peso corporal. Na primeira e segunda semana, período o qual se iniciou o tratamento foi verificado um aumento significativamente estatístico no grupo TRAT e o CAST em relação ao grupo CONT, mostrando que os animais tratados com o extrato apresentaram peso corporal próximo dos valores dos animais castrados (CAST).

Após a castração, o ganho de peso das ratas castradas (CAST) e controle (CONT) foram significativamente diferentes, sendo maior no primeiro grupo (Figura 3). Esses resultados podem estar ligados à deficiência hormonal, sabendo que o estrogênio aumenta o consumo de energia e consequentemente diminui o peso corporal, logo se houver um déficit estrogênico, haverá um consumo de energia menor, assim os animais terão um aumento no peso. Esse aumento está relacionado com a elevação do tecido adiposo e posteriormente com a diminuição da massa magra (Kirchengast et al., 1999).

Segundo Tommaselli et al. (2003) a terapia de reposição hormonal em mulheres menopausadas reduz a obesidade, como pode ser observado no grupo TRAT, houve uma estabilização do peso corporal na terceira a quarta semana de tratamento em relação ao grupo CAST.

Com os pesos uterinos e dos fígados obtidos ao final do experimento foram feitas às médias dos grupos, o erro padrão da média (EPM) e, com os dados da Tabela 2, a relação do peso do útero/peso corporal e relação peso do fígado/peso corporal (mg/g).

**Tabela 2** Médias dos pesos em gramas dos úteros e do fígado ± EPM e relação do peso do útero e do fígado com peso corporal ± EPM.

Grupos	Peso úmido do útero (média ± EPM)	Peso úmido do fígado (média ± EPM)	Relação peso do útero/peso corporal (mg/g) (média ± EPM)	Relação peso do fígado/peso corporal (mg/g) (média ± EPM)
CONT	356,2 ± 28,9	7146,2 ± 482,8	1,41 ± 0,13	25,33 ± 4,71
CAST	122,2 ± 5,5**	7994,8 ± 540,1	0,45 ± 0,01**	29,21 ± 3,50
TRAT	127,9 ± 3,8**	7584 ± 104,7	0,50 ± 0,02**	29,60 ± 3,22

Legenda: \*\* p < 0,01 comparada ao grupo CONT

Segundo os dados da Tabela 2, observa-se que tanto no peso úmido do útero quanto na relação peso do útero/peso corporal, os grupos CAST e TRAT determinaram uma redução significativa quando comparados ao grupo CONT. Porém, não foi observada nenhuma alteração do grupo TRAT em relação ao CAST (Figuras 4A e 5A). Isto indica que o tratamento realizado com o extrato não apresenta ação uterotrófica sobre o endométrio dessas ratas, já que

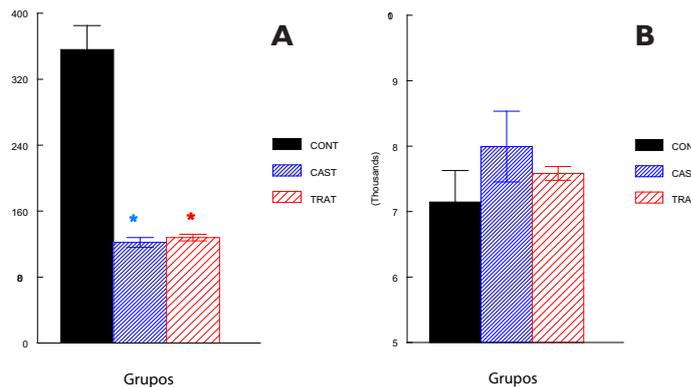


Figura 4 Média dos pesos. A: útero. B: fígado. \*\* p < 0,01 comparada ao grupo CONT.

essas não mostraram diferença em relação às CAST. Os três grupos apresentaram a mesma relação: aspecto normal, sem manchas, mesmo tamanho e de peso seguindo a média peso fígado/corporal (Figuras 4B e 5B).

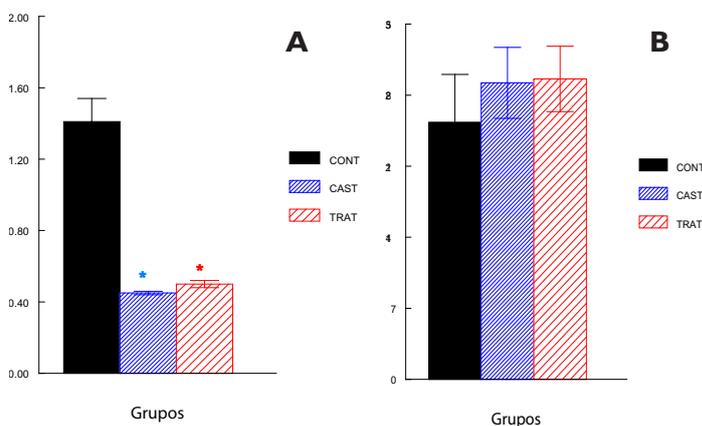
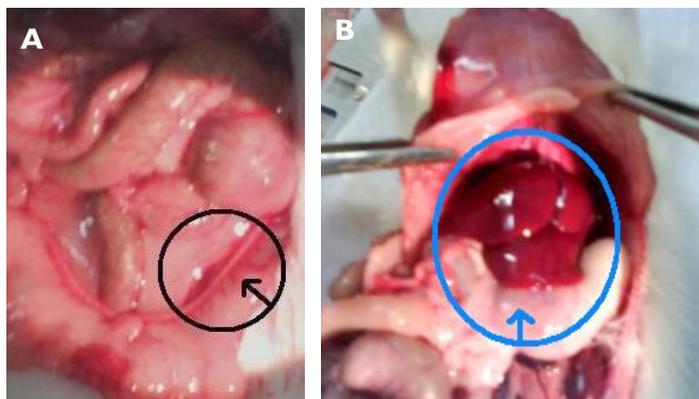


Figura 5 Relação peso do órgão/peso corporal. A: útero. B: fígado. \*\* p < 0,01 comparada ao grupo CONT

Sobre o endométrio uterino, as isoflavonas apresentam efeitos estrogênicos fracos. Tal fato poderia derivar da não-responsividade das isoflavonas nos receptores estrogênicos, presentes no endométrio, uma vez que o estrogênio interage mais facilmente com os receptores  $\alpha$ -estrogênicos. Mostrando assim que as isoflavonas apresentam ação seletiva, isto é, exibem atividade estrogênica em alguns tecidos (Makella et al., 1999).

Apresentando suas características fisiológicas, o fígado é responsável por funções bioquímicas como síntese e degradação de proteínas e glicoproteínas, metabolismo e degradação de drogas e hormônios, síntese e excreção da bile, metabolismo intermediário de aminoácidos e carboidratos, regulação do metabolismo de lipídeos e colesterol. Tem sido proposto que a atuação das isoflavonas, sobre receptores  $\beta$ -estrogênicos presentes no fígado, melhora o perfil lipídico por meio do número de receptores hepáticos do colesterol LDL, o que favorece o catabolismo de colesterol. A estimulação dos receptores  $\beta$ -estrogênicos levaria à inibição da lipase hepática, implicada no metabolismo do colesterol HDL, ocasionando seu incremento (Torrezan et al., 2008).

Segundo os dados da Tabela 2, o tratameto com a “essencia de hormônio natural” não conseguiu eitar o aspecto atrófico do útero se apresentou atrófico (Figura 6A) nas ratas tratadas, devido à ausência de estrogênio ovariano, em razão da ovariectomia. O fígado apresentou-se apresntou com morfologia conservada (Figura 6B), não indicando toxicidade.



**Figura 6** Órgãos em dissecação post mortem. A: útero atrófico do grupo TRAT; B: fígado com morfologia conservada no grupo TRAT de aspecto, semeidências de toxicidade.

Com isso, através de estudos, os efeitos benéficos das isoflavonas foram revelados sobre a tolerância à glicose na obesidade e no metabolismo hepático. Ratos geneticamente obesos, após o tratamento com isoflavonas, apresentaram redução do peso corporal e do conteúdo de gordura, reduzindo o risco de lipotoxicidade hepática e, conseqüentemente diminuindo o risco de esteatose (Torrezan et. al., 2008).

No experimento, para possíveis e futuros estudos mais aprofundados, as características do fígado foram minuciosamente observadas e apresentaram comportamento normal, não indicando toxicidade.

Apresentando suas características fisiológicas, o fígado é responsável por funções bioquímicas como síntese e degradação de proteínas e glicoproteínas, metabolismo e degradação de drogas e hormônios, síntese e excreção da bile, metabolismo intermediário de aminoácidos e carboidratos, regulação do metabolismo de lipídeos e colesterol. Tem sido proposto que a atuação das isoflavonas, sobre receptores  $\beta$ -estrogênicos presentes no fígado, melhora o perfil lipídico por meio do número de receptores hepáticos do colesterol LDL, o que favorece o catabolismo de colesterol. A estimulação dos receptores  $\beta$ -estrogênicos levaria à inibição da lipase hepática, implicada no metabolismo do colesterol HDL, ocasionando seu incremento (Torrezan et al., 2008).

Com isso, através de estudos, os efeitos benéficos das isoflavonas foram revelados sobre a tolerância à glicose na obesidade e no metabolismo hepático. Ratos geneticamente obesos, após o tratamento com isoflavonas, apresentaram redução do peso corporal e do conteúdo de gordura, reduzindo

o risco de lipotoxicidade hepática e, conseqüentemente diminuindo o risco de esteatose (Torrezan et al., 2008).

No experimento, para possíveis e futuros estudos mais aprofundados, as características do fígado foram minuciosamente observadas e apresentaram comportamento normal, não indicando toxicidade.

O ciclo estral é o período decorrente entre sucessivas fases de receptividade sexual, geralmente chamadas de cio ou estro. O ciclo estral das ratas tem duração média de quatro ou cinco dias e é caracterizado por quatro fases seguindo a classificação utilizada por Junqueira & Martins (1947), que compreendem o proestro, estro, metaestro (I e II) e diestro.

O Proestro tem duração de mais ou menos 12 horas e pode haver cio, apresentando-se citologicamente sem muco, com inúmeras células nucleadas, sem células anucleadas e sem presença de leucócitos.

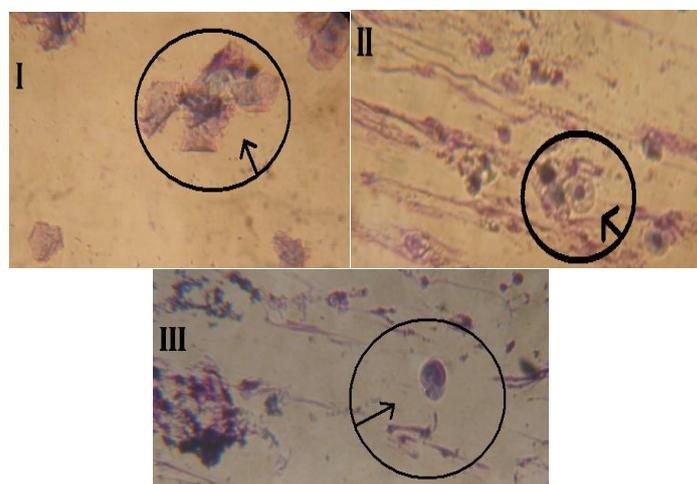
O Estro, com duração de aproximadamente 12 horas, corresponde à ovulação e nesta fase a progesterona encontra-se em seu nível máximo. As células apresentam-se cornificadas, com intensa descamação, anucleadas sem os elementos apresentados na fase proéstrica.

O Metaestro I ou inicial dura de 15 a 18 horas, caracterizando-se pela ausência de cio, enquanto as células anucleadas apresentam-se agrupadas, formando colônias.

O Metaestro II ou final, com uma duração de 6 horas e citologicamente, sem nenhuma correlação funcional, sem muco, com poucas células nucleadas, número razoável de células anucleadas e um grande número de leucócitos.

O Diestro tem duração de 57 a 60 horas, caracterizado por excesso de leucócitos e muco e poucas células nucleadas e anucleadas.

Nos esfregaços (Figura 8) do grupo **CONT (I)**, as ratas apresentaram a predominância da fase Estro, com fundo limpo, caracterizada pelo desaparecimento da camada mais profunda e ausência de leucócitos, com apenas células superficiais queratinizadas o que era de se esperar, uma



**Figura 10** Esfregaço do epitélio vaginal das ratas dos grupos CONT (I), CAST (II), TRAT (III), mostrando citologia em todos os grupos.

vez que o Estro é a fase na qual o pico estrogênico atinge o máximo. As ratas do grupo **CAST (II)** observaram-se a total modificação citológica como se estivessem em fase Diestro, pois possuem esfregaço atrófico, caracterizado pela ausência de células superficiais, infiltradas por leucócitos do tipo polimorfonucleados, na maioria neutrófilos e muitas células profundas e grande quantidade de muco. No grupo **TRAT (III)** presença de células profundas (parabasais), identificadas pela maior relação núcleo/citoplasma, grande quantidade de muco o que representa a fase Diestro, as células não apresentaram descamação e há grande número de leucócitos polimorfonucleados.

Uma vez realizados os ensaios biológicos não houve ação estrogênica no epitélio cérvico-vaginal e no útero, entretanto ocorreu uma estabilização no peso corpóreo dos animais que foram tratados com o extrato em relação apenas o grupo CAST. O peso uterino e a relação peso uterino/peso corporal (mg/g) apresentou diferença em relação às CONT, entretanto não houve alteração quando comparada às CAST, o que demonstra ausência da ação estrogênica no útero.

O fato da pastoral não preconizar corretamente a técnica de obtenção do extrato, pode-se considerar, um fator relevante para a não total eficácia do “hormônio natural” na avaliação do tratamento feito nas ratas. Com isso, se faz necessário mais estudos experimentais para avaliar melhor sua ação e os possíveis problemas relacionados à utilização do almeirão-roxo na TRH.

---

## Referências

- Brasil (2002) **Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Informe do workshop sobre isoflavonas realizado em 29/08/2002. [online] <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2002/270902.htm>. Acessado em: 10 de março de 2009.
- Dantas AP, Scivoletto R, Nigro D, Fortes Z.B & Carvalho MH (1999) Influence of female sex hormones on endothelium-derived vasoconstrictor prostanoid generation in microvessels of spontaneously hypertensive rats. **Hypertension** 34(2): 914-919.
- Demetrio FN & Vieira Filho AHG (2001) Efeito da terapia de reposição estrogênica no humor em mulheres menopausadas. **Revista de Psiquiatria Clínica** 28(2): 72-88.
- Junqueira LCU & Martins EO (1947) **Atlas de anatomia microscópica do rato**. Universidade de São Paulo: Rossolio. São Paulo.
- Kapes B (2001) “Chicory”. **Gale Encyclopedia of Alternative Medicine**. Gale Group.
- Kirchengast S. et al. (1999) Postmenopausal weight status, body composition and body fat distribution in relation to parameters of menstrual and reproductive history. **Maturitas Limerick** 33(1): 117-126.
- Leite JPV (2009) **Fitoterapia**: bases científicas e tecnológicas. São Paulo: Editora Atheneu, pp. 144-145.
- Livinali A & Lopes LC (2007) Avaliação das prescrições de isoflavonas para mulheres no climatério em cidade de médio porte do Estado de São Paulo. **Revista Ciência Farmacêutica Básica Aplicada** 28(2): 185-191.
- Lorenzi H & Matos FJA (2008) **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda.
- Maciel, MAM et al. (2002) Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova** 25(3): 429-438.
- Makella S, Sabolin H, Aavik E, Myllatviniemi M, Strauss L & Taskinen E et al. (1999) Differentiation between vasculoprotective and uterotrophic effects of ligands with different binding affinities to estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$ . **Environ Health**. 102:572-8.
- Marcondes FK, Bianchi FJ & Tanno AP (2002) Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology** 62(4): 609-614.
- Patton MQ (1990) **Qualitative evaluation and research methods**. London: SAGE Publications, pp 105-124.
- Pedro AO, Pinto N, Paiva M, Costa LHS, Osis MJD & Hardy EE (2003) Síndrome do climatério: inquérito populacional domiciliar em Campinas, SP. **Revista de Saúde Pública** 37(6): 735-742.
- Sandanielo A & Lunardi DMC (2002) Coeficientes de Cultura da Chicória (*Chichorium endívia L.*). **Revista Irriga** 7(2): 76-80.
- Silva Filho AM & Longatto Filho A (2000) **Colo uterino e vagina**: processos inflamatórios (aspectos histológicos, citológicos e colposcópicos). Rio de Janeiro: Editora Revinter, pp 35-54.
- Silvano RAM (2001) **Etnoecologia e história natural de peixes no Atlântico (Ilha dos Búzios, Brasil) e Pacífico (Moreton Bay, Austrália)**. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Sociedade Brasileira de Climatério (2003) **Consenso brasileiro multidisciplinar de assistência à saúde da mulher climatérica**, São Paulo: Ed. Segmento.
- Tommaselli GA, Di Carlo C & Nasti A et al. (2003) Effects of bilateral ovariectomy and postoperative hormonal replacement therapy with 17 beta-estradiol or raloxifene on serum leptin levels. **Menopause** 10(2):160-164.
- Tonisi GABR (2000) **Os efeitos do climatério na frequência fundamental**. Monografia. (Aperfeiçoamento/Especialização em Especialização Em Voz) - Centro de Especialização em Fonoaudiologia Clínica, São Paulo, SP.
- Torrezan R, Gomes RM, Ferrarese ML, Melo FBH, Ramos AMD & Mathias PCF (2008) O tratamento com isoflavonas mimetiza a ação do estradiol no acúmulo de gordura em ratas ovariectomizadas. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabólica** 52(9): 1489-1496.
- Zahar SEV, Aldrighi JM, Pinto-Neto AM, Conde DM, Zahar LO & Russomano F (2005) Qualidade de vida em usuárias e não usuárias de terapia de reposição hormonal. **Revista da Associação Médica Brasileira** 51(3): 133-138.
- Wygoda MM, Filippo Jr, RB, Gomes MAS & Clapauch R (1999) Monitorizando a terapia de reposição estrogênica (TRE) na menopausa. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia** 43(5): 203-205.