

INFLUÊNCIA DO PREBIÓTICO MOS SOBRE OS EFEITOS DA DIETA CONTAMINADA COM A MICOTOXINA FUMONISINA B1 SOBRE OS PARÂMETROS URINÁRIOS DE RATOS WISTAR

**Nayra Thais Delatorre Branquinho
Jade Cabestre Venancio
Layane Pimenta Baldon
Fernando Carlos de Sousa
Maria Raquel Marçal Natali
Edmara Aparecida Baroni**

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Fisiológicas (DFS). Av. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: eabaroni@gmail.com

Introdução

Os mananoligossacarídeos (MOS) são prebióticos derivado da parede celular de levedura. As glicomananas presentes no MOS podem inativar micotoxinas. As fumonisinas são micotoxina produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, sendo a B1 a mais tóxica e mais frequente em grãos como o milho (Bezuidenhout et al., 1988). A toxicidade das fumonisinas, dependendo da espécie de animal, difere em relação ao órgão, contudo, o fígado e o rim parecem ser os mais afetados (Williams et al., 2003). Considerando esse contexto, esse trabalho teve como objetivo estudar a influencia de ração contaminada com a FB1 e suplementada com o MOS, sobre os parâmetros urinários de ratos *Wistar* adultos.

Materiais e Métodos

Foram utilizados ratos machos, linhagem *Wistar*, que foram separados em 4 grupos: F0M0 (receberam ração sem FB1/sem MOS- n=8); F0M0,2 (receberam ração sem FB1/com 0,2% de MOS - n= 8); F6M0 (receberam ração com 6mg de FB1/kg de ração/ sem MOS-n=8); F6M0,2 (ração com 6mg de FB1/kg de ração/com 0,2% de MOS - n= 6). Ao final de 42 dias, os animais foram colocados na gaiola metabólica para mensuração da ingestão hídrica, do volume urinário de 24 horas e coleta da urina para análise de proteinúria por método enzimático e para a quantificação do Na e K⁺ da urina. Os resultados foram estatisticamente analisados por teste “t” de Student. Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado pela Comissão de Ético Animal da Universidade Estadual de Maringá (CEAE) (Protocolo 068/2009).

Resultado e Discussão

Observamos que não houve diferença significativa quanto à ingestão hídrica, mas houve aumento significativo ($p=0,00016$) no volume urinário, de 24 horas, nos grupos F6M0 e F6M0,2 quando comparados ao grupos controles (F0M0 e F0M0,2). Não houve alteração dos valores da proteinúria, assim como a análise da excreção urinária de Na⁺, porém houve aumento significativo ($p=0,00044$) na excreção urinária do K⁺ nos grupos que receberam 6 mg de FB1, com ou sem adição do MOS (F6M0 e F6M0,2) (Tabela 1).

Conclusão

A ingestão de ração contaminada com a micotoxina fumonisina B1, na dose de 6 mg/kg de ração por 42 dias, provocou aumento significativo na excreção urinária do K⁺. A suplementação com o prebiótico MOS não reverteu esse efeito.

Tabela 1: Ingestão hídrica, volume urinário e proteinúria dos ratos dos grupos F0M0 (sem FB1/sem MOS - n=8), F0M0,2 (sem FB1/com 0,2% MOS - n=8), F6M0 (com 6mg de FB1/kg de ração/ sem MOS - n=8) e F6M0,2 (com 6mg de FB1/kg de ração/com 0,2% MOS - n=6).

Grupos	Ingestão hídrica (mL/24h)	Volume urinário (mL/24h)	Na ⁺ (mEq/24h)	K ⁺ (mEq/24h)	Proteinúria (mg/24h)
F0M0	27,52 ± 4,7 ^a	25,3 ± 2,8 ^a	0,85 ± 0,02 ^a	0,62 ± 0,03 ^a	3,44 ± 0,63 ^a
F0M0,2	27,2 ± 5,2 ^a	24,2 ± 2,8 ^a	0,84 ± 0,02 ^a	0,61 ± 0,04 ^a	3,00 ± 0,32 ^a
F6M0	30,25 ± 1,7 ^a	34,9 ± 3,7 ^b	0,92 ± 0,13 ^a	0,97 ± 0,07 ^b	3,56 ± 0,58 ^a
F6M0,2	30,16 ± 1,3 ^a	35,5 ± 3,9 ^b	0,94 ± 0,14 ^a	0,96 ± 0,07 ^b	3,25 ± 0,48 ^a

Resultados expressos pela média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

Apoio: FADEC

Referências Bibliográficas

BEZUIDENHOUT, S. C. et al. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. **J. Chem. Soc.**, v. 11, p. 743-745, 1988.

WILLIAMS, L. D. et al. Leaching and binding of fumonisins in soil microcosms. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 51, n. 3, p. 685-690, 2003.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

ALTERAÇÕES NA REGIÃO TUBULOINTERSTICIAL DOS RINS DE RATOS WISTAR PROVOCADAS PELA MICOTOXINA FUMONISINA B1 – INFLUÊNCIA DO PREBIÓTICO MOS

**Nayra Thais Delatorre Branquinho
Samara Emerich
Jade Cabestre Venancio
Christiano Rodrigues Shamber
Maria Raquel Marçal Natali
Edmara Aparecida Baroni**

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Fisiológicas (DFS). Av.
Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: eabaroni@gmail.com

Introdução

A ingestão de dieta contaminada com micotoxinas pode causar danos a diversos sistemas do organismo, inclusive o renal. A Fumonisina B1 (FB1) é uma micotoxina presente em cereais como o milho. Os mananoligossacarídeos (MOS) são prebióticos que podem inativar micotoxinas (SONG e LI, 2001). O aumento da matriz extracelular e fibrose tubulointersticial são alterações que ocorrem com frequência durante a evolução de diversas doenças renais, clínicas e experimentais (Nangaku, 2006). Considerando esse contexto, esse trabalho teve como objetivo estudar a influência do prebiótico MOS sobre as alterações tubulointersticiais provocadas pela micotoxina Fumonisina B1 nos rins de ratos *Wistar*.

Materiais e Métodos

Foram utilizados ratos *Wistar* machos, os quais foram divididos em 4 grupos: F0M0 (ração sem FB1/sem MOS - n=8); F0M0,2 (ração sem FB1/com 0,2% de MOS- n= 8); F6M0 (6mg de FB1/kg de ração/ sem MOS- n=8); F6M0,2 (6mg de FB1/kg de ração/com 0,2% de MOS - n= 6). A dieta foi administrada por 42 dias. Após esse período os animais foram sacrificados para a coleta dos rins, que foram fixados, incluídos em parafina e corados pelo Tricrômico de Masson. As imagens foram captadas por câmera (Multicam-CAM1000 - 1.3 pixel) acoplada ao microscópio. Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do COBEA e foram aprovados (Protocolo 068/2009) pela Comissão de Ética Animal da UEM (CEAE).

Resultados

Foi observada a presença de focos com infiltrado inflamatório e fibrose, de intensidade leve, na região tubulointersticial, tanto no grupo de animais que recebeu a micotoxina sem o MOS (F6M0) (Figura 1C), como no que recebeu a FB1 com o MOS (F6M0,2) (Figura 1D).

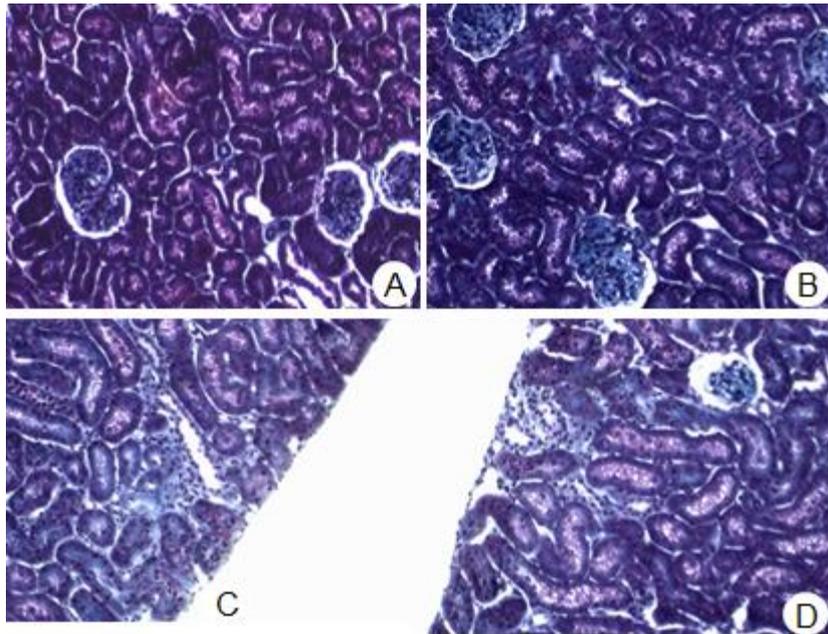


Figura 1: Cortes histológicas do córtex renal de ratos *Wistar* corados pelo Tricrômico de Masson. Imagens representando a região tubulointersticial dos ratos dos grupos: F0M0 (A), F0M0,2 (B), F6M0 (C) e F6M0,2 (D). Observar foco com infiltrado inflamatório e fibrose no córtex externo em C e D. Aumento original: 10x.

Conclusão

O prebiótico MOS não exerceu efeito protetor sobre as alterações na região tubulointersticial, caracterizadas pela presença de infiltrado inflamatório e fibrose, provocados pela micotoxina FB1. Essas alterações foram observadas no córtex externo, região renal que possui maior suprimento sanguíneo.

Apoio: FADEC

Referências Bibliográficas

NANGAKU, M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 17, n. 1, p. 17-25, 2006.

SONG, J. Y.; LI, W. F. The preparation of mannan-oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* and its effect on intestinal microflora in chicken. **Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Science)**, v. 27, p. 447-450, 2001.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

CONSEQUÊNCIAS DA ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL NO SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO: REVISÃO

Aline Cristine da Silva de Souza
Stephanie Carvalho Borges
Evandro José Beraldi
Nilza Cristina Buttow

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Morfológicas. Av. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: alinecs.souza@yahoo.com.br

Introdução

A isquemia mesentérica pode ser subdividida em crônica, quando os sintomas isquêmicos são provenientes de doença arteriosclerótica de longa data, e aguda, baseada na etiologia da oclusão: embólicas, trombóticas ou não oclusivas. Como resultado da I/R temos alterações funcionais do intestino, que por sua vez estão relacionados à injúria que o procedimento causa no sistema nervoso entérico (SNE). Esta revisão tem como objetivo mostrar quais as consequências da I/R intestinal no SNE, que justificam a disfunção do órgão.

Materiais e Métodos

Revisão realizada através do banco de dados PubMed disponível eletronicamente no site www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed, utilizando-se para busca as palavras: ischemia and reperfusion, gut/intestinal e enteric nervous system, além dos artigos relacionados sugeridos.

Resultados

As subpopulações neuronais reagem de maneira diferente à injúria por I/R. Estudos mostram que os neurônios nitrérgicos parecem ser mais resistentes do que os colinérgicos. Após curtos períodos de isquemia, entre 45min e 1h, seguido de reperfusão de 1h a 7 dias, alguns neurônios apresentam-se aumentados, como os nitrérgicos; e alguns diminuídos, possivelmente a subpopulação colinérgica, devido a alterações nos receptores de glutamato e canais iônicos. Estudos mostram que ocorre morte neuronal a partir de 6h de reperfusão devido ao estresse oxidativo e que os efeitos dessa injúria podem permanecer por até 4 semanas. Distorções dendríticas e gliais também foram observadas. Porém, a glia parece ser afetada somente após 3h de isquemia, sendo essas distorções ligadas à injúria neural.

Além disso, a translocação da proteína Hu tem sido observada em estudos de isquemia intestinal, esta é uma proteína ligada à expressão de RNAm e normalmente está em maior quantidade no citoplasma, porém, após a I/R tem-se mostrado a translocação do Hu para o núcleo, o que estaria relacionado à morte neuronal, pois observa-se co-localização dos marcadores imunohistoquímicos para a proteína e também para morte celular.

Conclusão

Os estudos mostram que a I/R intestinal atinge o sistema nervoso entérico de modo a alterar morfológica e quantitativamente as diferentes subpopulações neuronais.

Referências Bibliográficas

CALCINA, F. et al. Effect of N-methyl-d-aspartate receptor blockade on neuronal plasticity and gastrointestinal transit delay induced by ischemia/reperfusion in rats. *Neuroscience*, v. 134, p. 39-49, 2005.

- CERQUEIRA, N. F.; HUSSNI, C. A.; YOSHIDA, W. B. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. **Acta Cir. Bras.**, v. 20, p. 336-43, 2005.
- CHANG, R. W.; CHANG, J. B.; LONGO, W. E. Update in management of mesenteric ischemia. **World J. Gastroenterol**, v. 2, p. 3243-3247, 2006.
- DONG, Z.; SAIKUMAR, P.; WEINBERG, J. M.; VENKATACHALAM, M. A. Calcium in cell injury and death. **Annu Rev Pathol.**, v. 1, p. 405-434, 2006.
- GRANGER, D. N.; KORTHUIS, R. J. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 57, p. 311-332, 1995.
- HIMMAN, M. N.; LOU, H. Diverse molecular functions of Hu proteins. **Cell Mol Life Sci.**, v. 65, p. 3168-3181, 2008.
- KRISTIÁN, T.; SIESJO, B. K. Calcium in Ischemic Cell Death. **Stroke**, v. 29, p. 705-718, 1998.
- LINDESTROM, L. M.; EKBLAD, E. Structural and neuronal changes in rat ileum after ischemia with reperfusion. **Dig. Dis. Sci.**, v. 49, p. 1212-22, 2004.
- LIU, B. et al. Ischemic insults direct glutamate receptor subunit 2-lacking AMPA receptors to synaptic sites. **J. Neurosci.**, v. 26, p. 5309-5319, 2006.
- MEI, F. et al. Apoptosis of interstitial cells of Cajal, smooth muscle cells, and enteric neurons induced by intestinal ischemia and reperfusion injury in adult guinea pigs. **Virchows Arch.**, v. 454, p. 401-409, 2009.
- PONTELL, L. et al. Demagibg effects of ischemia/reperfusion on intestinal muscle. **Cell Tissue Res.**, v. 343, p. 411-419, 2011.
- RIVERA, L. R. et al. The reactions of specific neuron types to intestinal ischemia in the guinea pig enteric nervous system. **Acta Neuropathol.**, v. 118, p. 261-270, 2009.
- RIVERA, L. R.; THACKER, M.; PONTELL, L.; CHO, H. J.; FURNESS, J. B. Deleterious effects of intestinal ischemia/reperfusion injury in the mouse enteric nervous system are associated with protein nitrosylation. **Cell Tissue Res.**, v. 344, p. 111-123, 2011.
- THACKER, M.; RIVERA, L. R.; CHO, H.J.; FURNESS, J. B. The relationship between glial distortion and neuronal changes following intestinal ischemia and reperfusion. **Neurogastroenterol Motil.**, 2011.
- TÓTH, S. et al. Mesenteric ischemia-reperfusion injury: specific impact on different cell populations within the jejunal wall in rats. **Acta Histochem**, v. 114, p. 276-84, 2012.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÕES NEURAIS NO SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO APÓS ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL

Aline Cristine da Silva de Souza
Stephanie Carvalho Borges
Evandro José Beraldi
Nilza Cristina Buttow

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Morfológicas. Av. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: alinecs.souza@yahoo.com.br

Introdução

A isquemia e reperfusão (I/R) entérica pode ser consequência de procedimentos cirúrgicos, trombose, embolia ou ainda doenças inflamatórias. Como consequência desses eventos, há alteração nas funções de motilidade, absorção e secreção do sistema nervoso entérico que culminam com a redução da qualidade de vida dos pacientes. Essas alterações estão ligadas a modificações morfofisiológicas nos neurônios entéricos, os quais, segundo estudos, podem até mesmo entrar em apoptose após períodos superiores a 6h de reperfusão, devido a ação do excesso de radicais livres produzidos durante esse período. Tendo em vista que o resveratrol é um antioxidante e neuroprotetor, este estudo buscou avaliar as alterações morfológicas ocorridas no plexo mientérico de ratos após I/R intestinal e a ação do pré-tratamento com resveratrol sobre essas lesões.

Materiais e Métodos

Ratos machos *Wistar* foram distribuídos em 3 grupos de 5 animais cada: Controle (C); isquêmico controle (I/RC) e isquêmico tratado (I/RT). O resveratrol foi administrado no grupo tratado, por gavagem, durante 5 dias (10 mg/kg). Após anestesiados, os animais dos grupos I/RC e I/RT tiveram a artéria mesentérica superior ocluída por 45 minutos. Três horas após o início da reperfusão, os animais foram mortos. Os preparados de membrana, deles obtidos, foram submetidos à imunohistoquímica para evidenciação da população neuronal geral (Hu-IR). A avaliação das alterações morfológicas dos neurônios foi realizada através de imagens capturadas em microscópio de fluorescência Axioshop Plus (Carl Zeiss) e câmera AxioCam MRC (Carl Zeiss) acoplados ao microcomputador.

Resultados

Ao realizar a análise das imagens obtidas, a população geral neural, imunorreativa à proteína Hu, mostrou-se aglomerada, distorcida, não revelando completamente a morfologia do neurônio e translocada do citoplasma, onde a proteína é normalmente encontrada em maior concentração, para o núcleo, no grupo I/RC. Já nos grupos I/RT e C, essas alterações não foram identificadas. Embora a translocação de Hu ainda não seja bem explorada, ela foi encontrada por estudos anteriores após I/R intestinal e possivelmente está relacionada a degradação de RNAm, uma vez que está ligada a sua expressão e aos danos provocados pelo estresse oxidativo.

Conclusões

Tendo em vista que as alterações morfológicas identificadas no grupo I/RC não foram encontradas nos grupos I/RT e C, sugerimos que os efeitos antioxidante e neuroprotetor do resveratrol foram capazes de impedir injúria nos neurônios mientéricos dos ratos submetidos a 45 minutos de isquemia e 3 horas de reperfusão, sendo necessários estudos mais aprofundados para confirmar essa hipótese.

Apoio: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoas (CAPES).

Referências Bibliográficas

HINMAN, M. N.; LOU, H. Diverse molecular functions of Hu proteins. **Cell Mol Life Sci.**, v. 65, p. 3168-3181, 2008.

KUENZLER, K. A.; PEARSON, P. Y.; SCHWARTZ, M. Z. IL-11 pretreatment reduces cell death after intestinal ischemia-reperfusion. **J. Surg. Res.**, v. 108, p. 268-272, 2002.

LINDESTRÖM, L. M.; EKBLAD, E. Structural and neuronal changes in rat ileum after ischemia with reperfusion. **Dig Dis Sci.**, v. 49, p. 1212-1222, 2004.

RIVERA, L. R.; THACKER, M.; PONTELL, L.; CHO, H. J.; FURNESS, J. B. Deleterious effects of intestinal ischemia/reperfusion injury in the mouse enteric nervous system are associated with protein nitrosylation. **Cell Tissue Res.**, v. 344, p. 111-1123, 2011.

SILVA, M. A.; MEIRELLES, L. R.; BUSTORFF-SILVA, J. M. Changes in intestinal motility and in the myenteric plexus in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion. **J. Pediatr. Surg.**, v. 42, p. 1062-1065, 2007.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

OBESIDADE INDUZIDA PELA DIETA CAFETERIA E SEUS EFEITOS SOBRE A EXCREÇÃO RENAL DE Na^+ E K^+ DE RATOS *WISTAR* COM 70 DIAS DE IDADE

**Barbara Saboia de Paula
Nayra Thaís Delatorre Branquinho
Layane Pimenta Baldon
Maynara Lucca Andrade
Solange Marta Franzoi de Moraes
Edmara Aparecida Baroni**

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Fisiológicas, Av. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: eabaroni@gmail.com

Introdução

Os rins exercem função vital no controle hidroeletrolítico e constituem um meio importante para excreção do excesso de Na^+ e K^+ do organismo. A ocorrência de uma lesão renal pode levar à perda progressiva e irreversível da função dos rins, caracterizando a doença renal crônica (DRC) (Bastos et al., 2004). Vários fatores podem provocar alteração na função renal. Um deles é a obesidade. De modo geral, as afecções renais decorrentes da obesidade estão associadas à lesão glomerular, proteinúria, esclerose glomerular segmentar e focal que contribui para a gênese da doença renal crônica (Zhang et al., 2005). Um modelo experimental para estudo da obesidade é a dieta cafeteria. Nesse modelo, são oferecidos, aos animais, alimentos com grande valor energético, com promoção da hiperfagia voluntária e do rápido aumento de peso. O objetivo do presente trabalho foi estudar a influência da dieta cafeteria sobre a excreção renal de Na^+ e K^+ de ratos *Wistar* com 70 dias de idade.

Materiais e Métodos

Ratos *Wistar* foram divididos em 2 grupos: G-con/con (filhotes de ratas alimentadas com dieta controle durante a gestação, lactação e após o desmame até os 70 dias de idade) e G-con/caf (filhotes de ratas alimentadas com dieta controle durante a gestação e lactação, que receberam dieta cafeteria após o desmame até os 70 dias de idade). Após esse período, os ratos foram colocados na gaiola metabólica para mensuração da ingestão hídrica, do volume urinário e coleta da urina. Para a quantificação do Na^+ e K^+ da urina, utilizou-se o fotômetro de chama (modelo B-262). A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa "Statistica" (*Data analysis software system*, versão 7). Foi realizada a análise de variância (ANOVA) com tratamento pós-hoc do teste Tukey HSD (*Honest Significant Difference*), com confirmação pelo Teste "t" de *Student*. Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do COBEA e foram aprovados pelo CEAE-UEM (Protocolo nº 022/2010).

Resultados

Não houve diferença estatisticamente significativa, entre os grupos, em relação ao peso corporal ($p=0,2810$) e a ingestão de água ($p=0,3587$), porém o volume urinário foi menor ($p=0,0448$) nos animais que receberam dieta cafeteria (G-con/caf). A excreção urinária de Na^+ e do K^+ foi significativamente maior no grupo (G-con/caf) ($p=0,00005$ e $0,0000012$, respectivamente) (Tabela 1).

Tabela 1. Peso corporal, ingesta hídrica, volume urinário, excreção urinária de Na⁺ e excreção urinária de K⁺ dos ratos dos grupos G-con/con (n=9) e G-con/caf (n=9).

Grupos	Peso corporal (g)	Ingestão de água (mL/24 h)	Volume urinário (mL/24 h)	Excreção urinária de Na ⁺ (mEq/24 h)	Excreção urinária de K ⁺ (mEq/24 h)
G-con/con	290,8±13,1 ^a	33,6±10,9 ^a	26,8±8,4 ^a	0,27±0,11 ^a	0,12±0,04 ^a
G-con/caf	284,1±19,0 ^a	28,7±10,6 ^a	18,8±6,5 ^b	2,23±0,90 ^b	0,37±0,06 ^b

Resultados expressos pela média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

Conclusões

Ratos *Wistar* que receberam dieta cafeteria, após a amamentação até os 70 dias de idade, apresentaram aumento na excreção renal de Na⁺ e K⁺. Esse aumento foi acompanhado pela diminuição do volume urinário. Esses achados sugerem uma possível alteração na região tubulointersticial dos rins desses animais.

Apoio: FADEC

Referências Bibliográficas

BASTOS, M. G. et al. Doença Renal Crônica: Problemas e soluções. **J. Bras. Nefrol.**, v. 26, p. 202-215, 2004.

ZHANG, R. et al. Kidney disease and the metabolic syndrome. **Amer. J. Medical Sci.**, v. 330, p. 319-325, 2005.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DA DIETA CAFETERIA SOBRE A MORFOFISIOLOGIA RENAL DE RATOS WISTAR MACHOS COM 150 DIAS DE IDADE

**Lívia Franchin Viccari
Nayra Thais Delatorre Branquinho
Barbara Saboia de Paula
Maynara Lucca Andrade
Solange Marta Franzoi de Moraes
Edmara Aparecida Baroni**

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Fisiológicas. Av. Colombo, n° 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: eabaroni@gmail.com

Introdução

A obesidade pode levar a Doença Renal Crônica (DRC). Os mecanismos pelos quais a obesidade contribui para a perda da função renal podem estar relacionados com a resistência à insulina, a hiperglicemia e a obesidade *per se* (ABRASS, 2004). De modo geral, as afecções renais decorrentes da obesidade estão associadas à lesão glomerular, proteinúria, esclerose glomerular segmentar e focal (Srivastava, 2006). Existem vários modelos para o estudo experimental da obesidade. Um modelo é o da obesidade por cafeteria, onde os animais ingerem alimentos altamente palatáveis, o que tende a provocar um incremento no peso corporal e na adiposidade. O objetivo do presente trabalho foi estudar a influência da obesidade por cafeteria sobre a morfofisiologia renal de ratos *Wistar* com 150 dias de idade.

Materiais e Métodos

Ratos *Wistar* foram divididos em 2 grupos: G-con/con (filhotes de ratas alimentadas com dieta controle durante a gestação, lactação e após o desmame até os 150 dias de idade) e G-con/caf (filhotes de ratas alimentadas com dieta controle durante a gestação e lactação, que receberam dieta cafeteria após o desmame até os 150 dias de idade). Após esse período, foi efetuado o sacrifício dos animais e coleta dos rins, que foram fixados, incluídos em parafina e corados pelo Tricrômico de Masson. As imagens foram captadas por câmera (Multicam-CAM1000 - 1.3 pixel) acoplada ao microscópio. Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do COBEA e foram aprovados pelo CEAE-UEM (Protocolo n° 022/2010).

Resultados

O grupo que recebeu dieta cafeteria (G-con/caf) apresentou focos com infiltrado inflamatório e fibrose, de intensidade leve, próxima aos glomérulos, que também apresentaram maior deposição de colágeno, quando comparado ao grupo controle (Figuras 1A e 1B). Também foram observados focos com inflamação e fibrose na região tubulointersticial do córtex externo nos animais do grupo G-con/caf (Figura 2B).

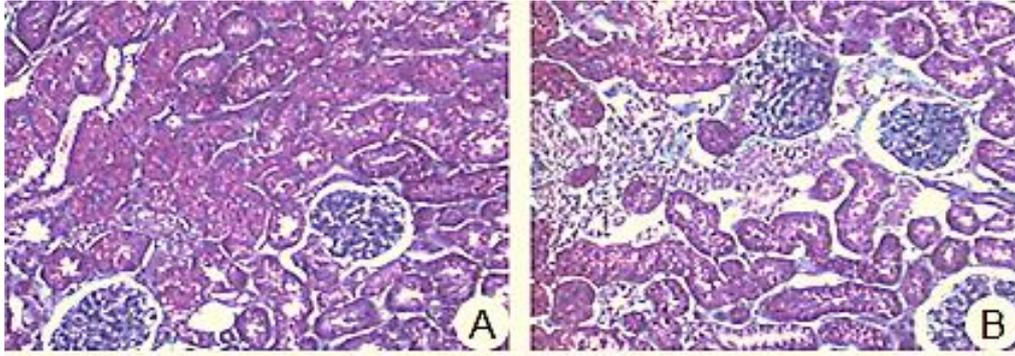


Figura 1: Tecido renal, de ratas *Wistar*, corado pelo Tricrômico de Masson representando a região glomerular dos grupos de ratos analisados: G-con/com (A) e G-con/caf (B). Aumento original: 10x.

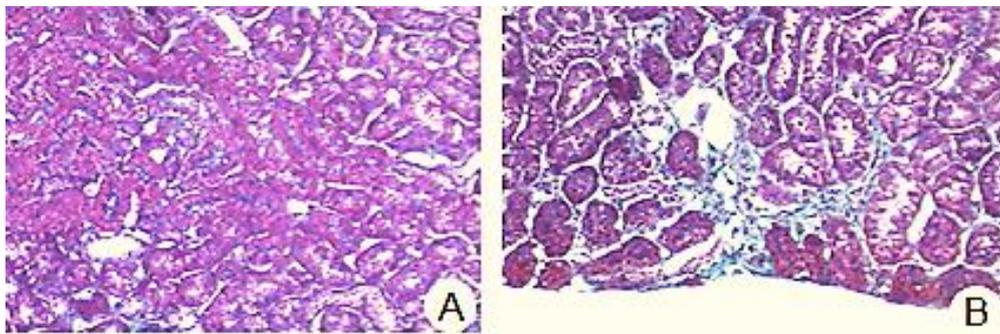


Figura 2: Tecido renal, de ratas *Wistar*, corado pelo Tricrômico de Masson representando a região tubulointerstitial dos grupos de ratos analisados: G-con/con (A) e G-con/caf (B). Aumento original: 10x.

Conclusão

Rins de ratos que receberam dieta cafeteria, após a amamentação até os 150 dias de idade, apresentaram alterações tanto na região glomerular, caracterizadas pela maior deposição de colágeno na cápsula de Bowman, como também na região tubulointerstitial, com infiltrado inflamatório e fibrose observada tanto no córtex renal externo como próxima de glomérulos.

Apoio: FADEC

Referências Bibliográficas

ABRASS, C. K. Overview Obesity: What does it have to do with kidney disease? **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 15, p. 2768-2772, 2004.

SRIVASTAVA, T. Nondiabetic consequences of obesity on kidney. **Pediatric Nephrol.**, v. 21, n. 4, p. 463-470, 2006.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

EFEITO DA REDUÇÃO DE NINHADA SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE RATAS WISTAR, COM 120 DIAS DE IDADE, SEDENTÁRIAS E SUBMETIDAS À ATIVIDADE FÍSICA

**Mônica dos Santos Mucio Loiola
Nayra Thais Delatorre Branquinho
Elizete Rosa dos Santos
Gláucia Midori Sakakima
Maria Montserrat Diaz Pedrosa
Edmara Aparecida Baroni**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Fisiológicas. Av. Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900, Maringá (PR). e-mail: ebaroni@gmail.com

Introdução

Os rins são órgãos importantes para a manutenção da homeostase corporal, uma vez que exercem funções excretórias, regulatórias e endócrinas. A obesidade pode provocar alterações na função renal como aumento da taxa de filtração glomerular e proteinúria (Zhang et al., 2005; Eknoyan, 2011). A prevalência da obesidade tem aumentado a níveis alarmantes, predominantemente nas sociedades industrializadas e existem vários modelos para o estudo experimental da mesma. O modelo por redução de ninhada é um deles, no qual ratas prenhes são criadas em condições normais de alimentação, e após o nascimento dos filhotes, no terceiro dia de vida, apenas 3 deles permanecem com a mãe durante o período de lactação. Esse procedimento leva os filhotes à hiperalimentação. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da redução de ninhada sobre a função renal de ratas *Wistar* com 120 dias de idade.

Materiais e Métodos

As ninhadas recém-nascidas (período de lactação) foram organizadas com 9 filhotes (fêmeas) no grupo controle (G-C) e três filhotes (fêmeas) no grupo obeso (G-O). Os filhotes permaneceram com as mães até os 21 dias de idade (desmame). Após esse período, os animais foram divididos em 4 grupos: Controle sedentário (GCse); Controle submetido à atividade física (GCat); Obeso sedentário (GOse) e Obeso submetido à atividade física (GOat). A atividade física foi realizada em esteira ergométrica (Imbramed, mod. KT3000), em cinco sessões semanais, de caminhada, com 30 minutos cada e velocidade de 0,6 km/h. Os animais foram acompanhados por 120 dias. Após esse período, as ratas foram colocadas na gaiola metabólica para mensuração da ingestão hídrica, do volume urinário e coleta da urina de 12 horas. Também foi realizada a coleta do sangue para a dosagem da creatinina plasmática. Tanto essa quanto a creatinina urinária foram quantificadas pela metodologia colorimétrica de ponto final ("Kit" Analisa), e a proteinúria por método enzimático ("Kit" Analisa). O espectrofotômetro utilizado foi o Bioplus Bio-2000. Para a quantificação do Na⁺ e K⁺ da urina, utilizou-se o fotômetro de chama (modelo B-262). A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa "Statistica" (*Data analysis software system*, versão 7). Foi feita Análise de Variância (ANOVA) com tratamento pós-hoc do teste Tukey HSD (*Honest Significant Difference*), com confirmação pelo Teste "t" de *Student*. Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do COBEA e foram aprovados pelo CEAE-UEM (Protocolo 089/2012).

Resultados

A ingestão hídrica e o volume urinário em 12 horas não foram estatisticamente diferentes em nenhum dos grupos de animais analisados (GCse, GCat, GOse e GOat). Também não foi observada diferença significativa, entre os grupos, quanto à excreção urinária do Na⁺ e K⁺, proteinúria e taxa de filtração glomerular (TFG) (Tabela 1).

Tabela 1: Ingestão hídrica, volume urinário, excreção urinária de Na⁺ e K⁺, proteinúria e taxa de filtração glomerular (TFG) dos ratos dos grupos GCse (n =7), GCat (n=7), GOse (n =7) e GOat (n= 7).

Grupos	Ingestão Hídrica (mL/12 h)	Volume Urinário (mL/12 h)	Excreção Urinária de Na ⁺ (mEq/12 h)	Excreção Urinária de K ⁺ urinário (mEq/12h)	Proteinúria (mg/12h)	TFG (mL/min/100g p.c.)
GCse	10,2±2,3 ^a	10,3±1,6 ^a	0,27±0,09 ^a	0,05±0,02 ^a	1,0±0,32 ^a	0,23±0,05 ^a
GCat	11,7±3,9 ^a	12,4±5,6 ^a	0,21±0,03 ^a	0,03±0,01 ^a	0,8±0,16 ^a	0,24±0,07 ^a
GOse	9,8±2,1 ^a	10,6±1,7 ^a	0,31±0,20 ^a	0,04±0,01 ^a	1,0±0,42 ^a	0,19±0,03 ^a
GOat	10,1±3,8 ^a	10,5±4,2 ^a	0,25±0,08 ^a	0,04±0,01 ^a	0,9±0,17 ^a	0,23±0,03 ^a

Resultados expressos pela média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença estatisticamente significante (p≥0,05).

Conclusão

A não alteração na TFG e na proteinúria indica que ratas *Wistar* com 120 dias de idade, sedentárias e exercitadas, submetidas ao protocolo de redução de ninhada durante a amamentação, não apresentaram alteração na função glomerular. Também foi observada normalidade na função tubular com relação a excreção do Na⁺ e K⁺ desses animais.

Apoio: FADEC

Referências Bibliográficas

- EKNOYAN, G. Obesity and Kidney Disease. *Nefrologia*, v. 31, n. 4, p. 397-403, 2011.
- ZHANG, R.; LIAO, J.; MORSE, S.; DONELON, S.; REISIN, E. Kidney disease and the metabolic syndrome. *The American Journal of the medical sciences*, v. 330, p. 319-325, 2005.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

PROTOCOLO DA REDUÇÃO DE NINHADA E SEUS EFEITOS SOBRE A MORFOFISIOLOGIA RENAL DE RATAS *WISTAR*, COM 120 DIAS DE IDADE, SEDENTÁRIAS E SUBMETIDAS AO EXERCÍCIO FÍSICO

**Mônica dos Santos Mucio Loiola
Nayra Thais Delatorre Branquinho
Elizete Rosa dos Santos
Gláucia Midori Sakakima
Maria Montserrat Diaz Pedrosa
Edmara Aparecida Baroni**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Fisiológicas. Maringá (PR),
Av. Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900. e-mail: eabaroni@gmail.com

Introdução

Vários fatores podem levar a doença renal crônica (DRC), sendo os mais importantes a hipertensão arterial, o diabetes e a obesidade (Eknoyan, 2011). A prevalência da obesidade tem aumentado nas últimas décadas, e a alimentação inadequada e inatividade física são os fatores mais apontados (Premevida, 2012). Existem vários modelos para o estudo experimental da obesidade, e o protocolo da redução de ninhada é um deles. Nesse modelo, ratas prenhas são criadas em condições normais de alimentação, e após o nascimento dos filhotes, apenas 3 deles permanecem com a mãe durante o período de lactação. Esse procedimento leva os filhotes à hiperalimentação.

O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da redução de ninhada sobre a região glomerular e tubulointersticial de ratas *Wistar*, com 120 dias de idade, sedentárias e submetidas ao exercício físico.

Materiais e Métodos

Após o nascimento, no período da lactação, as ninhadas de ratas *Wistar* foram distribuídas com nove filhotes (fêmeas) no grupo controle (G-C) e três filhotes (fêmeas) no grupo obeso (G-O). Os filhotes permaneceram com as mães até os 21 dias de idade (desmame). Após esse período, os animais foram divididos em 4 grupos: Controle sedentário (GCse); Controle submetido à atividade física (GCat); Obeso sedentário (GOse) e Obeso submetido à atividade física (GOat). A atividade física foi realizada, em cinco sessões semanais, na esteira ergométrica (Imbramed, mod. KT3000). Cada sessão de caminhada foi de 30 minutos com velocidade de 0,6 km/h. Os animais foram acompanhados por 120 dias, e após esse período, foram sacrificados para a coleta dos rins, que foram fixados, incluídos em parafina e corados pelo Tricrômico de Masson, sendo as imagens capturadas por câmera (Multicam-CAM1000 - 1.3 pixel) acoplada ao microscópio. Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do COBEA e foram aprovados pelo CEAE-UEM (Protocolo 089/2012).

Resultados

A análise da região glomerular evidenciou glomérulos preservados, sem infiltrado inflamatório e esclerose, em todos os grupos (Figura 1, A1-GCse; B1-GOse; C1- GCat e D1-

GOat). Também não foi observado focos com infiltrado inflamatório e fibrose na região tubulointersticial em nenhum dos grupos (Fig. 1A2-GCse; B2 - GOse; C2-GCat e D2-GOat).

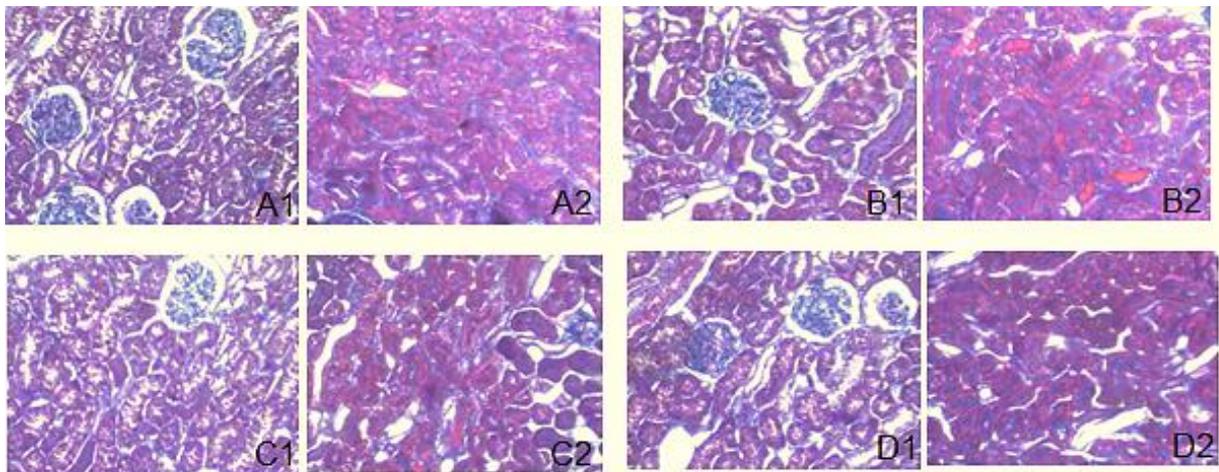


Figura 1: Tecido renal, de ratas *Wistar*, corado pelo Tricrômico de Masson. Grupos: GCse (A1 e A2); GOse (B1 e B2); GCat (C1 e C2) e GOat (D1 e D2). As imagens A1, B1, C1 e D1 representam a região glomerular. As imagens A2, B2, C2 e D2 representam a região tubulointersticial. Aumento original: 10x.

Conclusão

Rins de ratas *Wistar* com 120 dias de idade, sedentárias e exercitadas, submetidas ao protocolo de redução de ninhada durante a amamentação, apresentaram interstício tubular preservado, sem focos de inflamação e sem aumento da matriz extracelular. A região glomerular não mostrou presença nem de infiltrado inflamatório nem de esclerose.

Apoio: FADEC

Referências Bibliográficas

EKNOYAN, G. Obesity and Kidney Disease. *Nefrologia*, v. 31, n. 4, p. 397-403, 2011.

PREMEBIDA, N. **Porque a gordura abdominal visceral aumenta os riscos de doenças cardiovasculares?** Monografia (Especialização em Fisiologia Humana) – Departamento de Ciências Fisiológicas - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012. 32p.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

TRATAMENTO MATERNO COM O HIPOGLICEMIANTE METFORMINA DURANTE A LACTAÇÃO NÃO PROGRAMA RESISTÊNCIA CONTRA O CRESCIMENTO TUMORAL NA PROLE ADULTA

**Bruna Thais da Silva
Kelly Valério Prates
Isabela Peixoto Martins
Carina Previante
Aline Amenência de Souza
Amanda Bianchi Trombini**

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Laboratório de Biologia Celular da Secreção. Av. Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900, Maringá (PR). e-mail: bruna.thaisbio@hotmail.com

Introdução

Injúrias nutricionais são fatores que determinam o baixo peso de neonatos e podem programar a prole a mudanças metabólicas na vida adulta. No entanto este fenótipo pode ser revertido, não só garantindo o fluxo alimentar, mas também suplementando a dieta materna com vitaminas e/ou substâncias antioxidantes. Estas considerações reforçam o conhecimento da interação do meio ambiente no desenvolvimento do fenótipo, tanto para a saúde como para a doença, que podem ser transmitidos para a prole. Sendo a metformina um hipoglicemiante oral comumente indicado para o tratamento do diabetes mellitus tipo 2 e que tem apresentado atividade anticancerígena, objetivou-se verificar se sua administração em ratas lactantes pode programar a prole contra o crescimento de células de um carcinoma de mama de roedores, o tumor Walker 256.

Materiais e Métodos

Ratas *Wistar* lactantes foram tratadas, via gavagem, com metformina (320mg/kg, grupo metformina), água (grupo água), e não tratadas (grupo controle), durante todo o período de lactação. Aos 21 dias de vida, a prole de cada grupo experimental foi desmamada e acompanhou-se o ganho de peso e consumo alimentar até os 130 dias de vida quando foram submetidas à inoculação das células tumorais. Após 14 dias, os animais foram sacrificados para avaliação do crescimento tumoral e dos parâmetros biométricos.

Resultados

O peso do tumor, dos animais tratados com metformina, não foi atenuado quando comparado com os animais do grupo água e do grupo controle. O índice de Lee, gordura subcutânea e o consumo alimentar dos animais tratados com metformina também não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo água e ao grupo controle.

Conclusão

O tratamento com a metformina durante o período da lactação não foi capaz de induzir resistência ao crescimento do tumor, mesmo que o período perinatal seja passível de modular

as funções na vida adulta, pois recentemente nosso laboratório observou que o tratamento crônico com metformina iniciado após o desmame foi capaz de induzir uma drástica inibição do crescimento tumoral mesmo após o término do tratamento.

Referências Bibliográficas

BARKER, D. J. The developmental origins of chronic adult disease. **Acta Paediatrica**, Suppl., v. 93, v. 446, p. 26-33, 2004.

BEN SAHRA, I.; Le MARCHAND-BRUSTEL, Y.; TANTI, J. F.; Bost, F. Metformin in cancer therapy: a new perspective for an old antidiabetic drug? **Mol. Cancer Ther.**, v. 9, n. 5, p. 1092-1099, 2010.

BLAKEMORE, S. J.; Burnett, S.; Dahl, R. E. The role of puberty in the developing adolescent brain. **Hum. Brain Mapp**, v. 31, n. 6, p. 926-933, 2010.

FONSECA E. A. I. et al. Metformin reduces the stimulatory effect of obesity on in vivo Walker-256 tumor development and increases the area of tumor necrosis. **Life Sciences**, v. 88, p. 846-852, 2011.

MARKAKIS, E. A. Development of the neuroendocrine hypothalamus. **Front Neuroendocrinol.**, v. 23, n. 3, p. 257-291, 2002.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

**AUSÊNCIA DE ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS EM NEURÔNIOS
MIENTÉRICOS DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM BIOTERÁPICO DE
Toxoplasma gondii E INFECTADOS PELO PROTOZOÁRIO**

**Ricardo Nascimento Drozino
Caroline Felício Braga
Neide Martins Moreira
Silvana Marques de Araújo**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências básicas da Saúde.
Av. Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900, Maringá (PR). e-mail: rndrozino@gmail.com

Introdução

A toxoplasmose, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, é uma doença de ampla distribuição geográfica e de alta prevalência mundial (Oréface, 2005), constituindo um sério problema de saúde pública. A infecção pelo *T. gondii* pode acarretar alterações gastrointestinais comprometendo a motilidade, secreção e absorção intestinal (Sugauara, et al., 2009). No que diz respeito ao protozoário, a literatura demonstra relações importantes entre imunocompetência do hospedeiro e o desenvolvimento de sinais clínicos da doença como lesões intestinais relacionadas principalmente aos neurônios mientéricos (Moreira et al., 2011). Atualmente vem se utilizando medicamentos ultra diluídos para o tratamento de doenças parasitárias, podendo constituir inovação terapêutica na abordagem de tratamento dessas patologias (Aleixo et al., 2012). No entanto nenhum resultado conclusivo foi obtido até o momento. Portanto, este estudo avaliou o efeito de um medicamento ultra diluído de *T. gondii* sobre a população neuronal total do jejuno de camundongos experimentalmente infectados com este protozoário.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 45 camundongos suíços machos, 60 dias de idade, distribuídos em: grupo controle não tratado e não infectado (GCN), controle tratado com álcool de cereais a 7% e infectado (GCInf) e grupo tratado com o bioterápico de *T. gondii* 200 DH – diluição 1:10²⁰⁰ (BIOT-TG200). O bioterápico 200 DH foi produzido com macerado de cérebros de camundongos infectados (20 cistos *T. gondii*/100µL – 242 bradizoítos/cisto), segundo a Farmacopéia Homeopática Brasileira (2011), em capela de fluxo laminar. O medicamento foi diluído em água (1mL/100mL de água) e oferecido *ad libitum* por três dias consecutivos antes da infecção. Foram inoculados 10 cistos da cepa ME49 de *T. gondii*, segundo o protocolo de Dubbey e Beattie (1988), via oral (gavagem). Os animais foram avaliados clinicamente durante todo o experimento e, aos 60 dias após a infecção foram eutanasiados. O jejuno foi coletado, dissecado e corado pela técnica de Giemsa (Barbosa, 1978). Os neurônios da população total foram quantificados em 120 campos microscópicos (400X). Os dados foram analisados utilizando os testes ANOVA – Tukey e Kruskal-Wallis, com 5% de significância.

Resultados e Discussões

A infecção por *T. gondii* não promoveu alterações quantitativas sobre a população neuronal total nos grupos GCInf e BIOT-TG200 quando comparados ao grupo GCN (p>0,05). Ao comparar os neurônios dos animais dos grupos controle infectado e infectado tratados

(GCInf x BIOT-TG200) não foi possível observar diferença significativa no segmento avaliado (Figura 1). Braga (2013), ao estudar diferentes potências do bioterápico de *T. gondii* em modelos experimentais infectados com a cepa ME49 de *T. gondii*, observou que o BIOT-TG200 foi o mais eficaz, causando redução no número de bradizoítos/cisto quando comparado ao grupo controle infectado e uma tendência na redução dos cistos cerebrais encontrados. Braga (2013), ainda observou que o BIOT-TG200 mostrou ser mais eficaz contra os danos da toxoplasmose ocular. No presente estudo não foi observado efeito diferenciado do BIOT-TG200 sobre a população neuronal total, assim como não foi observado efeito da infecção sobre esta população de células.

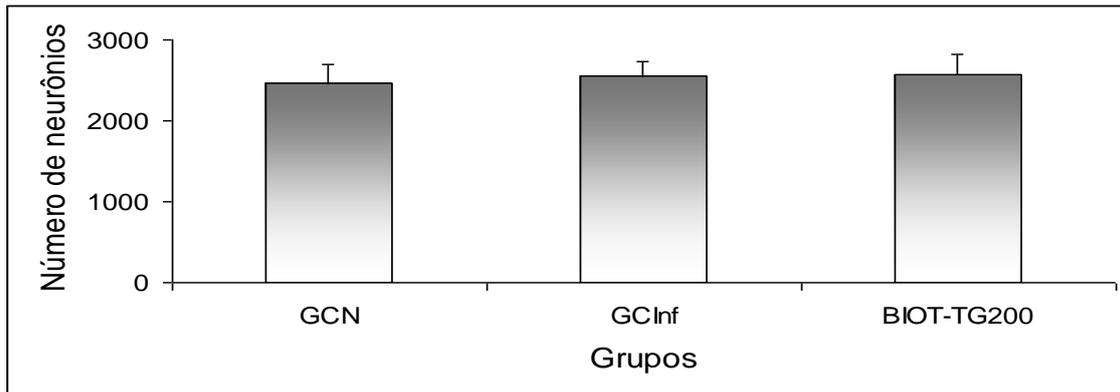


Figura 1: Número de neurônios (Média e \pm desvio padrão) da população total do jejuno de camundongos em 120 campos microscópicos. Grupo controle não tratado e não infectado (GCN), grupo tratado com álcool de cereais 7% e infectado (GCInf), grupo tratado com o bioterápico 200 DH e infectado (BIOT-TG200), durante 60 dias.

Conclusão

A infecção por *T. gondii* e o tratamento utilizado nesse estudo não promoveram alterações quantitativas sobre a população neuronal total do jejuno dos camundongos infectados, quando comparados aos animais do grupo controle, não infectado, demonstrando que o *T. gondii* não afeta os neurônios mientéricos e que o bioterápico utilizado não tem efeito sobre estes neurônios.

Referências Bibliográficas

- ALEIXO, D. et al. Highly diluted medication reduces parasitemia and improves experimental infection evolution by *Trypanosoma cruzi*. **BMC Research Notes**, v. 5, p. 352-367, 2012.
- BARBOSA, A. J. A. Técnica histológica para gânglios nervosos intramurais em preparados espessos. **Rev. Bras. de Pesquisas Med. e Biol.**, v. 11, n. 2-3, p. 95-97, 1978.
- MOREIRA, N. M. et al. Neuronal changes caused by "*Trypanosoma cruzi*": an experimental model. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, p. 545-555, 2011.
- ORÉFICE, F. **Uveíte: Clínica e Cirúrgica: Texto e Atlas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2005.

SUGAUARA, E.Y.Y. et al. Hypertrophy of the neurons in the ileum of rats infected with cysts of *Toxoplasma gondii* (genotype II). **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, v. 31, n. 2, p. 195-201, 2009.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTATIONA NAS CÉLULAS GLIAIS ENTÉRICAS DO ÍLEO DE RATOS DIABÉTICOS

Cynthia Priscilla do Nascimento Bonato Panizzon

Aline Rosa Trevizan

Camila Caviquioli Sehaber

Catchia Hermes Uliana

Francielle Veiga Ramalho

Marcilo Hubner de Miranda Neto

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, Laboratório de Plasticidade Neural Entérica, Av. Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900, Maringá (PR). e-mail: fran_fvr@hotmail.com

Introdução

O Sistema Nervoso Entérico (SNE) é composto por neurônios entéricos localizados intrinsecamente à parede do Trato Gastrointestinal (TGI) e por Células Gliais Entéricas (CGEs) (Sternini, 1988). Estudos têm sido feitos com o intuito de analisar o comportamento das CGEs em animais diabéticos induzidos por estreptozotocina (Pereira et al., 2011; Lopes et al., 2012). Estima-se que cerca de 143 milhões de pessoas em todo o mundo sofram de diabetes (King et al., 1998). O Diabetes Mellitus (DM) é um dos principais problemas de saúde pública e é a principal causa de neuropatia, retinopatia, nefropatia, ataques cardíacos e derrames (Zagury et al., 2000).

No DM, ocorre à redução dos níveis de importantes antioxidantes como a L-Glutationa (GSH) (Kuyvenhoven et al., 1999). A GSH é um tripeptídeo γ -glutamil-cisteína-glicina, considerado um dos mais importantes antioxidantes. Vários estudos utilizando a GSH foram realizados. Segundo Bravenboer et al. (1992), seu uso em ratos diabéticos é particularmente efetivo na prevenção da neuropatia diabética, além disso, Ueno et al. (2002), demonstraram que o tratamento dietético com GSH em animais com DM experimental, previne disfunções neuronais e renais. Desta forma esse estudo teve por objetivo verificar o efeito da suplementação com GSH sobre as CGEs do íleo de ratos diabéticos.

Materiais e Métodos

Foram utilizados, neste estudo, 20 ratos machos, da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*) distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de cinco indivíduos, sendo eles: normoglicêmico (N), normoglicêmico suplementado com L-Glutationa 1% (NGO), diabético (D) e diabético suplementado com L-Glutationa 1% (DGO). A indução do diabetes foi realizada nos grupos D e DGO, por meio de estreptozotocina via endovenosa na dosagem de 35 mg/Kg de peso corporal. Os animais não suplementados (grupos N e D) receberam ração balanceada padrão Nuvital (Nuvilab, Colombo, PR, Brasil). Para a suplementação experimental dos animais dos grupos NGO e DGO, a L-Glutationa (DEG, São Paulo, SP, Brasil) foi incorporada à ração padrão na concentração de 1% (10g/kg de ração).

Com 120 dias de suplementação os ratos foram mortos. Após sacrifício e laparotomia, os segmentos de íleo foram coletados e preparados para a técnica imunohistoquímica anti-S100, que marca proteínas presentes em todas as CGEs. A quantificação das CGEs foi realizada através de imagens de 50 gânglios da região intermediária (Zanoni et al., 2005).

Os resultados foram submetidos à análise estatística através do programa GraphPad Prism 3.0 e expressos como média \pm erro padrão da média. Foi realizado previamente o

delineamento em blocos dos dados, seguido de Teste de Tukey. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significantes estatisticamente.

Resultados

O diabetes mellitus não alterou a densidade glial por gânglio mioentérico, quando comparado o grupo D com o grupo N. Os animais diabéticos suplementados com L-Glutationa (grupo DGO) apresentaram um aumento de 52% na densidade glial em relação aos animais diabéticos não suplementados (grupo D, $P < 0,05$) e de 45,9% em relação ao grupo N ($P < 0,05$). Não houve alteração na densidade glial nos animais normoglicêmicos suplementados com L-Glutationa quando comparado com o grupo N (Tabela 1).

Tabela 1. Densidade das células da glia S100-IR dos animais dos grupos: normoglicêmico (N), normoglicêmico suplementado com L-Glutationa (NGO), diabético (D) e diabético suplementado com L-Glutationa (DGO).

Grupo	N	NGO	D	DGO
Densidade das células da glia S100-IR	$27,3 \pm 1,2^a$	$30,1 \pm 1,1^a$	$26,2 \pm 1,0^a$	$39,8 \pm 1,8^b$

Médias seguidas por diferentes letras sobrescritas na mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$) $n = 5$ ratos por grupo.

Conclusão

Conclui-se que a suplementação com L-Glutationa 1% na condição de diabetes experimental apresentou um efeito protetor sobre as CGEs uma vez que estimulou a proliferação glial.

Apoio: CAPES

Referências Bibliográficas

BRAVENBOER, B. et al. Controversies concerning the pathogenesis and treatment of diabetic neuropathies. **Ned Tijdschr Geneesk.**, v. 136, n. 17, p. 823-826, 1992.

KING, H.; AUBERT, R. E.; HERWAN, W. H. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. **Diabetes Care**, v. 21, n. 9, p. 1414-1431, 1998.

KUYVENHOVEN, J.; MEINDERS, A. Oxidative stress and diabetes mellitus: pathogenesis of long-term complications. **European Journal of Internal Medicine**, v. 10, n. 1, p. 9-19, 1999.

LOPES, C. R. et al. Neuroprotective effect of quercetin on the duodenum enteric nervous system of streptozotocin-induced diabetic rats. **Digestive Diseases Sciences**, v. 57, n. 12, p. 3106-3115, 2012.

PEREIRA, R. V. F. et al. L-glutamine supplementation prevents myenteric neuron loss and has gliatrophic effects in the ileum of diabetic rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 56, n. 12, p. 3507-16, 2011.

STERNINI, C. Structural and Chemical Organization of the Myenteric Plexus. **Annual Review of Physiology**, v. 50, Suppl. 50, p. 81-93, 1988.

UENO, Y. et al. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 5, p. 897-900, 2002.

ZAGURY, L.; ZAGURY, T.; GUIDACCI, J. **Diabetes sem medo**. Rio de Janeiro: Rocco; 2000.

ZANONI, J. N. et al. Effects of supplementation with ascorbic acid for a period of 120 days on the myosin-V and NADPHd positive myenteric neurons of the ileum of rats. **Anatomia Histologia Embryologia**, v. 34, n. 3, p. 149-153, 2005.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

ANÁLISE DOS EFEITOS DA L-GLUTAMINA SOBRE A POPULAÇÃO TOTAL DOS NEURÔNIOS DO ÍLEO DE RATOS DIABÉTICOS

Francielle Veiga Ramalho
Cynthia Priscilla do Nascimento Bonato Panizzon
Aline Rosa Trevizan
Camila Caviquioli Sehaber
Catchia Hermes Uliana
Jacqueline Nelisis Zanoni

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, Laboratório de Plasticidade Neural Entérica, Av. Colombo, n° 5790, CEP: 87020-900, Maringá (PR). e-mail: fran_fvr@hotmail.com

Introdução

Na parede do trato gastrointestinal (TGI) encontra-se o plexo mientérico e submucoso que juntos formam o Sistema Nervoso Entérico (SNE) (Junqueira; Carneiro, 2008). O SNE é constituído por neurônios e células gliais entéricas (CGEs) (Furness, 2006). Os neurônios se localizam, na maioria das vezes, em gânglios nos plexo mientérico e submucoso (Ruhl, 2005).

Estudos têm sido realizados para verificar o comportamento dos neurônios entéricos em animais diabéticos induzidos por estreptozotocina (Alves et al., 2010; Honore et al., 2011). O *diabetes mellitus* (DM) é um dos principais problemas de saúde pública e é a principal causa de neuropatia (Vinik, 1999). A neuropatia diabética é um grupo heterogêneo de desordens e apresenta uma gama extensiva de anormalidades (Vinik, 2004) afetando entre 60 e 70 % dos pacientes diabéticos (Moghtaderi et al., 2006).

No DM, ocorre à redução dos níveis de importantes antioxidantes como a Glutathione (GSH), o que torna a suplementação com substâncias como a L-Glutamina, um precursor da GSH, uma esperança promissora no tratamento das complicações neurológicas induzidas pela doença. (Kuyvenhoven et al., 1999). Nesse contexto, objetivou-se verificar os efeitos da suplementação com glutamina sobre os neurônios do íleo de ratos diabéticos.

Materiais e Métodos

Utilizou-se neste estudo 20 ratos machos, da linhagem *Wistar (Rattus norvegicus)*, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, sendo eles: normoglicêmico (N), normoglicêmico suplementado com L-Glutamina 2% (NG), diabético (D) e diabético suplementado com L-Glutamina 2% (DG). A indução do diabetes foi realizada nos grupos D e DG, por meio de estreptozotocina via endovenosa na dosagem de 35 mg/Kg de peso corporal. Os animais não suplementados (grupos N e D) receberam ração balanceada padrão Nuvital (Nuvilab, Colombo, PR, Brasil). Para a suplementação experimental dos animais dos grupos NG e DG, a L-Glutamina (DEG, São Paulo, SP, Brasil) foi incorporada à ração padrão na concentração de 2% (20g/kg de ração).

Com 120 dias de suplementação os ratos foram mortos. Após sacrifício e laparotomia, os segmentos de íleo foram coletados e preparados para a técnica imunohistoquímica anti-HuC/D, que é um marcador pan-neuronal. A quantificação e morfometria dos neurônios foram realizadas através de imagens de 50 gânglios da região intermediária do íleo (Zanoni et al., 2005).

Os resultados foram submetidos à análise estatística através do programa GraphPadPrism 3.0 e expressos como média \pm erro padrão da média. Foi realizado previamente o delineamento em blocos dos dados, seguido de Teste de Tukey. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significantes estatisticamente.

Resultados

Os animais do grupo N e D apresentaram diferença significativa quanto à área dos corpos neuronais ($P < 0,05$). Já quando se faz o comparativo dos animais diabéticos, o grupo suplementado com L-Glutamina (grupo DG) mostrou área de corpo neuronal menor que o grupo dos diabéticos (grupo D) ($P < 0,05$). Na densidade neuronal os animais do grupo D apresentaram uma redução neuronal quando comparados com o grupo N ($P < 0,05$). Já o grupo DG não apresentou diferença significativa quando comparado com o grupo D.

Tabela 1. Área dos corpos celulares de neurônios HuC/D-IR (em μm^2) e densidade dos neurônios HuC/D-IR dos animais dos grupos: normoglicêmico (N), normoglicêmico suplementado com L-Glutamina (NG), diabético (D) e diabético suplementado com L-Glutamina (DG).

Grupo	N	NG	D	DG
Área dos corpos celulares de neurônios HuC/D-IR	302,5 \pm 6,6 ^a	344,3 \pm 7,6 ^b	395,3 \pm 9,1 ^c	350,9 \pm 6,9 ^b
Densidade de neurônios HuC/D-	14,0 \pm 0,6 ^a	12,5 \pm 0,7 ^{a,b}	11,52 \pm 0,4 ^b	10,15 \pm 0,5 ^b

Médias seguidas por diferentes letras sobrescritas na mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$) $n = 5$ ratos por grupo.

Conclusão

Conclui-se que a suplementação com L-Glutamina 2% mostrou-se eficaz na análise do perfil neuronal. Porém, a mesma não apresentou efeito neuroprotetor na densidade neuronal na condição de diabetes experimental.

Referências Bibliográficas

- ALVES, E. P. et al. Immunohistochemical study of vasoactive intestinal peptide (VIP) enteric neurons in diabetic rats supplemented with L-glutamine. **Nutr. Neurosci.**, v. 13, n. 1, p. 43-51, 2010.
- FURNESS, J. B. **The Enteric Nervous System**. Massachusetts: Blackwell Publishing, 2006. p.1-2.
- HONORE, S. M. et al. Neuronal loss and abnormal BMP/Smad signaling in the myenteric plexus of diabetic rats. **Auton. Neurosci.**, v. 164, n. 1-2, p. 51-61, 2011.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.283-284.
- KUYVENHOVEN, J.; MEINDERS, A. Oxidative stress and diabetes mellitus: pathogenesis of long-term complications. **Eur. J. Intern. Med.**, v. 10, n. 1, p. 9-19, 1999.

MOGHTADERI, A.; BAKHSHIPOUR, A.; RASHIDI, H. Validation of Michigan neuropathy screening instrument for diabetic peripheral neuropathy. **Clin. Neurol. Neurosurg.**, v. 108, n. 5, p. 477-481, 2006.

RUHL, A. Glial cells in the gut. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 17, n. 6, p. 777-790, 2005.

VINIK, A. I. Advances in diabetes for the millennium: new treatments for diabetic neuropathies. **MedGenMed.**, v. 6, n. 3, p. 13, 2004.

VINIK, A. I. Diabetic neuropathy: pathogenesis and therapy. **Am. J. Med.**, v. 107, n. 2B, p. 17S-26S, 1999.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

DIFERENTES INÓCULOS DE OOCISTOS DE *Toxoplasma gondii* NÃO ALTERAM A POPULAÇÃO GERAL DE NEURÔNIOS MIENTÉRICOS DO ÍLEO DE RATOS WISTAR

Lia Mara Teobaldo Tironi
Debora de Mello Goncales Sant'Ana
Evandro Jose Beraldi
Stephanie Carvalho Borges
Nilza Buttow

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Morfológicas. Av. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: liamaratironi@gmail.com

Introdução

O *Toxoplasma gondii* é um parasita de distribuição geográfica mundial que apresenta alta prevalência sorológica (Kawazoe, 2005). O ser humano, um dos hospedeiros do *T. gondii*, geralmente permanecem assintomáticos depois da infecção ou desenvolvem sintomas leves (Ambroise-Thomax e Pelloux, 1993). Os sintomas são agravados e geralmente causam problemas sérios quando crianças, fetos e imunodeficientes são infectados (Rey, 1991). As formas de infecção por *T. gondii* mais comuns são a ingestão de taquizoítos, cistos teciduais e oocistos (Neves et al., 2009), sendo que infecções iniciadas por oocistos geralmente causam lesões mais graves do que as iniciadas por taquizoítos ou cistos teciduais (Dubey e Frenkel, 1973).

No tecido nervoso as condições são favoráveis para o *T. gondii*, pois a defesa imunológica é fraca e a multiplicação dos parasitas ocorre de forma mais ativa e durante mais tempo (Ambroise-Thomax e Pelloux, 1993). Devido à intensidade das lesões causadas por oocistos e à afinidade deste parasita pelo tecido nervoso é de grande relevância avaliar os efeitos desta infecção sobre o Sistema Nervoso Entérico. Esse estudo teve por objetivo analisar o efeito de diferentes concentrações de inóculos de oocistos de *T. gondii* sobre a população geral de neurônios do plexo mientérico do íleo de ratos *Wistar*.

Material e Métodos

Foram utilizados 49 ratos (*Rattus norvegicus*) *Wistar* machos, com 60 dias de idade que foram distribuídos aleatoriamente em grupo controle (G1) e grupos infectados (G2 a G5) (n=6), mantidos por 30 dias em biotério. No início do experimento, cada rato dos grupos G2, G3, G4 e G5 recebeu, respectivamente, por via oral solução contendo 100, 500, 1.000 e 5.000 oocistos de *T. gondii* cepa ME-49, genótipo II. Os animais do G1 são os controles e receberam, por via oral, solução salina.

Trinta dias após a infecção os ratos foram submetidos à eutanásia, à laparotomia e em seguida o segmento do íleo de cada animal foi lavado e fixado por 3 horas em solução de paraformaldeído 4% tamponado, aberto na borda mesentérica e armazenado em PBS até a dissecação. Durante a dissecação o íleo de cada animal foi cortado em segmentos de aproximadamente 1 cm² e dissecados para a obtenção de preparados totais de membrana da túnica muscular. Esses preparados receberam os anticorpos específicos para a evidênciação da população geral de neurônios do plexo mientérico. Em seguida as lâminas foram montadas e delas capturadas 30 imagens aleatórias, em objetiva de 20X, em microscópio com filtros para imunofluorescência acoplado ao microcomputador. Através das imagens capturadas foram

quantificados todos os neurônios de cada imagem com o auxílio do programa de análise de imagem Image Pro Plus 3.0.1[®]. Os resultados foram expressos em neurônios por cm² e como média ± erro padrão, com nível de significância de 5%. Para a análise estatística, utilizou-se análise de variância One-way ANOVA, seguida de pós teste de Tukey.

Resultados

Os resultados demonstram que a população geral imunoreativa a proteína HuC/D não foi afetada pelas diferentes concentrações de inóculo de *T. gondii*. Como observado na Tabela 1.

Tabela 1: Densidade média da população geral de neurônios do plexo mientérico do íleo dos ratos dos grupos G1, G2, G3, G4 e G5. (n=6)

Grupos	Quantidade Média de Neurônios
G1	1822,0 ± 192,0
G2	1715,0 ± 101,5
G3	2158,0 ± 85,72
G4	2105,0 ± 102,1
G5	1736,0 ± 87,20

Média ± erro padrão. * Diferença significativa quando comparado ao grupo controle (p < 0,05).

Conclusão

A população geral do plexo mientérico do íleo de ratos infectados com *T. gondii* não sofreu alterações significativas com diferentes concentrações de inóculos.

Referências Bibliográficas

- AMBROISE-THOMAX, P. PELLOUX, H. Toxoplasmosis - Congenital and in Immunocompromised Patients: A Parallel. **Parasitology Today**, v. 9, n. 2, p. 61-63, 1993.
- DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K.; Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. **J. Parasitol.** [online], v. 59, p. 505-512, 1973. Disponível em: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/3278784?uid=38976&uid=3737664&uid=38970&uid=5909624&uid=2&uid=3&uid=67&uid=62&sid=21102520464197> Acesso em 09 jul. 2013.
- KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu. 2005. Cap. 16.
- NEVES, D. P. et al. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. São Paulo: Atheneu. 2009. Cap. 25.
- REY, L. *Toxoplasma gondii* e Toxoplasmose. In: REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1991. Cap. 25.



Resumo expandido apresentado no
 XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
 05 a 09 de agosto de 2013
 Maringá (PR).

EFEITOS DA INFECÇÃO CAUSADA POR DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OOCISTOS SOBRE A SUBPOPULAÇÃO NITRÉRGICA DO PLEXO MIENTÉRICO DO ÍLEO DE RATOS *WISTAR*

**Lia Mara Teobaldo Tironi
Debora de Mello Goncales Sant'Ana
Evandro Jose Beraldi
Stephanie Carvalho Borges
Nilza Cristina Buttow**

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Morfológicas. Av. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: liamaratironi@gmail.com

Introdução

O *Toxoplasma gondii* é um parasita de distribuição geográfica mundial que apresenta alta prevalência sorológica e causa uma doença chamada toxoplasmose em diversos tipos de animais, inclusive no humano (Kawazoe, 2005). O ser humano, quando parasitado por *T. gondii*, pode sofrer consequências sérias (Dubey, 1995), principalmente quando crianças, fetos e imunodeficientes são infectados (Rey, 1991). Porém a maioria dos casos de infecção por este parasita ocorre de maneira subclínica, do mesmo modo como ocorre em ratos e por isso são os animais utilizados como modelo experimental da Toxoplasmose (Dubey e Frenkel, 1998). As formas mais comuns de infecção por *T. gondii* são a ingestão de taquizoítos, cistos teciduais e oocistos (Neves et al., 2009) sendo que infecções iniciadas por oocistos geralmente causam lesões mais graves do que as iniciadas por taquizoítos ou cistos teciduais (Dubey e Frenkel, 1973).

Na literatura existem poucos trabalhos que relacionem a quantidade de oocistos ingeridos e as alterações neuronais causadas pela infecção, e o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes inóculos de oocistos de *Toxoplasma gondii* sobre a subpopulação de neurônios nitrérgicos do plexo mientérico do íleo de ratos.

Material e Métodos

Foram utilizados 49 ratos (*Rattus norvegicus*) *Wistar* machos, com 60 dias de idade que foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos: grupo controle (G1) e grupos infectados G4, G5, G6 e G7 os quais receberam, respectivamente, por via oral solução contendo 100, 500, 1.000 e 5.000 oocistos de *T. gondii* cepa ME-49, genótipo II.G4 a G7 (n=7 animais cada grupo), e foram mantidos por 30 dias em biotério.

Os animais do grupo G1 receberam por via oral solução salina. Trinta dias após a infecção os ratos foram submetidos à eutanásia, à laparotomia e em seguida o segmento do íleo de cada animal, foi coletado, lavado e fixado por 3 horas em solução de paraformaldeído 4% tamponado, aberto na borda mesentérica e armazenado em PBS até a dissecação.

Durante a dissecação o íleo de cada animal foi cortado em segmentos de aproximadamente 1 cm² e dissecados até obter membranas de preparados totais da túnica muscular. Esses preparados foram submetidos à técnica imunohistoquímica para a enzima Óxido Nítrico Sintase Neuronal (nNOS). Em seguida as lâminas foram montadas e delas capturadas 30 imagens aleatórias, em objetiva de 20X, em microscópio com filtros para imunofluorescência acoplado ao microcomputador. Através das imagens capturadas foram

quantificados todos os neurônios de cada imagem com o auxílio do programa de análise de imagem Image Pro Plus 3.0.1[®].

Os resultados foram expressos em neurônios por cm² e como média ± erro padrão, com nível de significância de 5%. Para a análise estatística utilizou-se análise de variância One-way ANOVA, seguida de pós teste de Tukey.

Resultados

A análise quantitativa da subpopulação nitrérgica não revelou alterações estatisticamente significantes entre o grupo controle e os demais grupos que receberam concentrações diferentes de oocistos (Tabela 1).

Tabela 1. Quantidade média de neurônios nitrérgicos do plexo mientérico do íleo dos ratos dos grupos G1, G4, G5, G6 e G7. (n=7)

Grupos	Quantidade média de neurônios
G1	431,8 ± 33,38
G4	465,0 ± 32,78
G5	592,57 ± 36,02
G6	507,85 ± 32,33
G7	465,42 ± 28,03

Média ± erro padrão. * Diferença significativa quando comparado ao grupo controle (p < 0,05).

Conclusões

Os diferentes inóculos de oocistos utilizados não causaram alterações na quantidade de neurônios na subpopulação nitrérgica do plexo mientérico do íleo de ratos.

Referências Bibliográficas

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. **Veterinary Parasitology**, v. 77, n. 1, p. 1-32, 1998.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K.; Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. **J. Parasitol.** [online], v. 59, p. 505–512, 1973. Disponível em: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/3278784?uid=38976&uid=3737664&uid=38970&uid=5909624&uid=2&uid=3&uid=67&uid=62&sid=21102520464197> Acesso em 09 jul. 2013.

DUBEY, J. P. et al. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. **J. Parasitol.** [online], v. 85, p. 723-729, 1995. Disponível em: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/3283961?uid=38976&uid=3737664&uid=38970&uid=5909624&uid=2&uid=3&uid=67&uid=62&sid=21102522266167>. Acesso em 10 jul. 2013.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu. 2005. Cap. 16.

NEVES, D. P. et al. *In*: NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. São Paulo: Atheneu. 2009. Cap. 25.

REY, L. *Toxoplasma gondii* e Toxoplasmose. *In*: REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1991. Cap. 25.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL PROMOVEM AUMENTO DAS VARICOSIDADES MIENTÉRICAS NO ÍLEO DE RATOS *WISTAR*

Stephanie Carvalho Borges
Aline Cristine da Silva de Souza
Evandro José Beraldi
Nilza Cristina Buttow

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Morfológicas, Maringá (PR).
e-mail: stephaniecarvalhoborges@hotmail.com

Introdução

Várias patologias podem ocasionar a isquemia e reperfusão intestinal, dentre elas a embolia, hérnia, infecção, cirurgias abdominais e transplante do intestino delgado. A restauração do fluxo sanguíneo para um tecido isquêmico pode levar a um dano maior do que aquele originalmente causado pela isquemia. As alterações celulares induzidas por esse evento causam edema celular, desequilíbrio de transporte de íons, desorganização do citoesqueleto, translocação bacteriana, inflamação, prejuízo a microcirculação e geração de radicais livres, os quais podem promover a morte celular por necrose e/ou apoptose. O resveratrol (3,5,4'-trihidroxi-estilbeno), é um polifenol encontrado naturalmente nas uvas, ameixas e amendoins e possui potencial antioxidante, anti-inflamatório e neuroprotetor.

Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do resveratrol sobre as varicosidades VIPérgicas (VIP-IR) do plexo mientérico do íleo de ratos submetidos a 45 minutos de isquemia e 7 dias de reperfusão.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 42 ratos machos da linhagem *Wistar*, divididos em 7 grupos (n = 6): C (controle), SC (cirurgia, sem oclusão da artéria mesentérica superior (AMS)), STA (cirurgia, sem oclusão da AMS, tratado antes da cirurgia), STAD (cirurgia, sem oclusão da AMS, tratado antes e depois da cirurgia), IRC (cirurgia, com oclusão da AMS), IRTA (cirurgia, com oclusão da AMS, tratado antes da isquemia) e IRTAD (cirurgia, com oclusão da AMS, tratado antes e depois da isquemia). Os animais foram tratados com 10 mg/kg de peso corporal de resveratrol. Os grupos STA e IRTA foram tratados 5 dias antes da cirurgia. Os grupos STAD e IRTAD foram tratados 5 dias antes da cirurgia e 7 dias depois. Com exceção do grupo controle, todos os grupos sofreram laparotomia. A isquemia foi estabelecida por oclusão da AMS por 45 minutos através de um clamp microvascular.

No 7º dia de reperfusão, o íleo foi coletado, fixado e dissecado para obtenção de preparados totais da túnica muscular, os quais foram submetidos à técnica de imunofluorescência para a marcação simples anti-VIP de varicosidades VIPérgicas. As análises quantitativas foram realizadas, por amostragem, no preparado total de membrana. Foram mensuradas a área de 400 varicosidades VIPérgicas por animal com auxílio do software de análise de imagens Image-Pro Plus. As imagens destas estruturas foram capturadas na objetiva de 40X ao nível da túnica muscular. Os resultados morfométricos foram expressos em μm^2 . Para a análise estatística foi realizado o delineamento em blocos seguido de pós-teste de Tukey. Para ambas as análises o valor de *p* menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

A manipulação intestinal ocasionada nos grupos SC, STA e STAD promoveu um aumento significativo nas varicosidades VIP-IR quando comparado com o grupo C, sendo ($p < 0,01$). No entanto, as alterações ocorridas durante a injúria por I/R promoveu aumento ainda maior das varicosidades VIP-IR nos grupos IRC, IRTA e IRTAD quando comparados aos grupos C e SC ($p < 0,001$) (Figura 1). O VIP é considerado uma substância anti-inflamatória, neuroprotetora e antioxidante e o aumento encontrado na produção e liberação deste neurotransmissor pode representar um mecanismo de defesa do sistema nervoso entérico em resposta a isquemia.

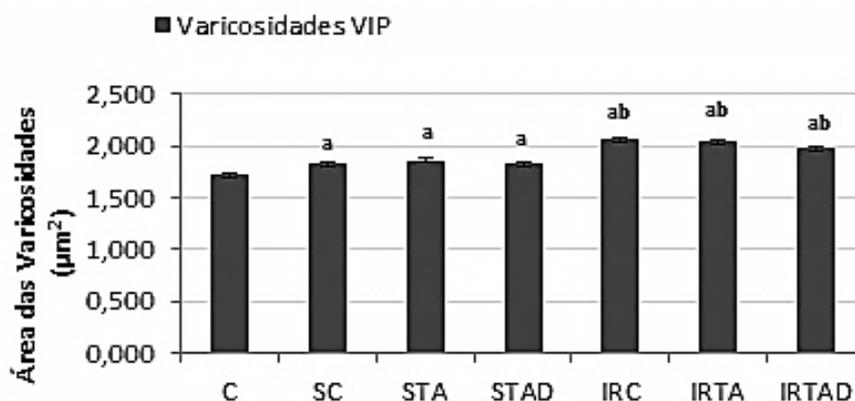


Figura 1. Média da área das varicosidades mientéricas VIP-IR do íleo distal do plexo mientérico de ratos em diferentes grupos: controle (C), *sham* controle (SC), *sham* tratado antes da cirurgia (STA), *sham* tratado antes e depois da cirurgia (STAD), isquêmico controle (IRC), isquêmico tratado antes da isquemia (IRTA), isquêmico tratado antes e depois da isquemia (IRTAD). Valores expressos como média \pm erro padrão. ^a = diferença significativa em relação ao grupo C; ^b = diferença significativa em relação ao grupo SC. ($n = 6$ animais por grupo).

Conclusão

A injúria por I/R promoveu alterações morfométricas nas varicosidades VIP-IR sendo que o resveratrol não foi capaz de amenizar estas alterações, portanto são necessários novos estudos para identificar a dosagem mais eficaz para atenuar as alterações morfométricas observadas.

Apoio: Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Área de concentração: Biologia Celular e Molecular da Universidade Estadual de Maringá e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES).

Referências Bibliográficas

De la LASTRA, C. A.; VILLEGAS, I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 35, p. 1156-1160, 2007.

DELGADO, M.; POZO, D.; GANEA, D. The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. **Pharmacol. Rev.**, v. 56, p. 249-290, 2004.

KASTE, M. Current therapeutic options for brain ischemia. **Neurology.**, v. 49, p. s56–s59, 1997.

MALLICK, I. H.; YANG, W.; WINSLET, M. C.; SEIFALIAN, A. M. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. **Dig. Dis. Sci.**, v. 49, p. 1359-1377, 2004.

MASSBERG, S.; MESSMER, K. The nature of ischemia/ reperfusion injury. **Transplant Proc.**, v. 30, p. 4217-4223, 1998.

MISRA, H. P. Vasoactive intestinal peptide, a singlet oxygen quencher. **J. Biol. Chem.**, v. 265, p.15371–15374, 1990.

TUNCEL, N. et al. The protective effect of vasoactive intestinal peptide (VIP) on stress-induced gastric ulceration in rats. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 865, p. 309-302, 1998.

WANG, Q. et al. Resveratrol protects against global cerebral ischemic injury in gerbils. **Brain Res.**, v. 958, n. 2, p. 439-7, 2002.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

EFEITO PROTETOR DA QUERCETINA SOBRE OS NEURÔNIOS E CÉLULAS GLIAIS DO PLEXO MIOENTÉRICO DO JEJUNO DE RATOS DIABÉTICOS

**Loraine Andressa Partyka
Sara Raquel Garcia de Souza
Flávia Cristina Vieira Frez
Isabela Zignani
Marcílio Hubner de Miranda Neto
Jacqueline Nelisis Zanoni**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências morfológicas, Laboratório de Plasticidade Neural Entérica. Av. Colombo, n° 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: lapartyka@gmail.com

Introdução

Diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico e complexo de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou resistência na ação deste hormônio sobre os tecidos alvos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica, frequentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial (Cotran et al., 2004).

A neuropatia diabética é uma das complicações mais frequentes a longo prazo, vista em pacientes com DM, afetando entre 60 e 70% dos pacientes diabéticos (Moghtaderi et al., 2005). A inervação entérica pode sofrer alterações devido ao estresse oxidativo que manifesta-se quando há desequilíbrio entre a produção de oxidantes e o respectivo sistema de defesa (Abuja e Albertini, 2001).

O tecido nervoso entérico é composto por neurônios e células da glia (Furness, 2006), que no DM têm suas densidades reduzidas devido ao estresse gerado pela doença.

Terapeuticamente, antioxidantes têm sido utilizados na tentativa de reduzir o estresse oxidativo, que podem desempenhar um papel importante no tratamento de complicações neurológicas provenientes do diabetes (Obrosova et al., 2002). O flavonóide quercetina é uma dessas substâncias, que tem sido utilizada em várias condições experimentais, confirmando a sua atividade antioxidante (Shirai et al., 2002). Nesse contexto, o presente estudo objetivou investigar o efeito antioxidante da quercetina sobre as células gliais e neurônios do sistema nervoso entérico de ratos diabéticos.

Material e Métodos

Vinte ratos *Wistar* machos, com 90 dias de idade, foram distribuídos em quatro grupos: normoglicêmicos (C), normoglicêmicos suplementados com quercetina (Q), diabéticos (D) e diabéticos suplementados com quercetina (DQ). Diabetes foi estabelecida nos grupos D e DQ pela estreptozotocina (e.v 35 mg/kg). Após 120 dias, os jejunos foram coletados e processados de acordo com a técnica imunohistoquímica para a evidênciação de neurônios mioentéricos HuC/D-IR e células gliais S100-IR.

Análise Quantitativa

Neurônios mioentéricos HuC/D-imunoreativos (HuC/D-IR) e as células gliais S100-imunoreativas (S100-IR) foram quantificados através do uso de imagens obtidas randomicamente da região intermediária do jejuno.

Para cada animal, todos os neurônios e células gliais presentes em 32 imagens, capturadas com objetiva de 20X, foram contados. A área de cada imagem, mensurada com o Image-Pro Plus, foi de aproximadamente 0,23 mm². As densidades neuronal e glial foram expressas como número de neurônios e glia, respectivamente, em 7,36 mm².

Análise Estatística

Os dados foram analisados estatisticamente usando os programas Statistica 7.1 e GraphPad Prism 5.1 e foram expressos como média ± erro padrão. Dados quantitativos foram submetidos à análise de variância one-way (ANOVA) seguida de teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados

Foi evidenciado redução da densidade dos neurônios HuC/D-IR quando foi comparado o grupo D com o C ($p < 0,05$). A densidade de neurônios verificada no grupo DQ, não apresentou diferença estatística significativa quando comparada ao grupo D ($p > 0,05$). A densidade da glia entérica (S100-IR) apresenta-se reduzida significativamente nos grupos D e DQ quando comparados à C ($p > 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1. Densidade dos neurônios entéricos HuC/D-IR e células gliais (S100-IR), pertencentes aos plexo mioentérico nos animais dos grupos normoglicêmicos (C), normoglicêmicos suplementados com quercetina (Q), diabéticos (D) e diabéticos suplementados com quercetina (DQ). Os resultados são expressos como $M \pm EP$. $n = 5$ animais por grupo.

Grupos	HuC/HuD	S100	razão
C	2095 ± 122,3	6113 ± 141,8	2,92
Q	1903 ± 64,6	5476 ± 265,1	2,88
D	1433 ± 89,6*	4255 ± 161*	2,97
DQ	1587 ± 100	4425 ± 190,6*	2,79

* $p < 0,05$ quando comparado a

Conclusão

A suplementação com quercetina na dose de 40 mg, por dia, não apresentou efeito neurotóxico para ratos normoglicêmicos que pudessem ser evidenciados por meio das análises que realizamos da glia e dos neurônios do plexo mioentérico. Houve uma intensa perda neuronal e glial no jejuno da maioria dos ratos diabéticos.

A suplementação com quercetina não impediu, porém reduziu a perda neuronal na maior parte dos ratos, sendo observada a mesma tendência para as células da glia.

Fonte Financiadora: Fundação Araucária

Referências Bibliográficas

ABUJA, P. M.; ALBERTINI, R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. **Clinica Chimica Acta**, v. 306, p. 1-17, 2001.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia Estrutural e Funcional**. 7. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2004.

FURNESS, J. B. **The Enteric Nervous System**. Oxford: Blackwell, 2006.

MOGHTADERI, A.; BAKHSHIPOUR, A.; RASHIDI, H. Validation of Michigan Neuropathy screening instrument for diabetic peripheral neuropathy. **Clin. Neurol. Neurosurg.**, v. 1, p.1-5, 2005.

OBROSOVIA, I. G.; Van HUYSEN; FATHALLAH, L. et al. Na aldose reductase inhibitor reverses early diabetes-induced changes in peripheral nerve function, metabolism, and antioxidative defense. **Faseb. J.** v.16, p.123-125, 2002.

SHIRAI, M. et al. Effect of quercetin and its conjugated metabolite on the hydrogen peroxide induced intracellular production of reactive oxygen species in mouse fibroblasts. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 66, p. 1015-1021, 2002.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

HIPERTROFIA DOS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DO JEJUNO DE RATOS SUBMETIDOS À INGESTÃO DE 2,4-D

**Andressa Cristina Damim
Aline Aparecida Ribeiro
Guilherme Vechiatto
Nathália Alves Diamante
Renan Giovanini Peres
Ricardo de Melo Germano**

Universidade Paranaense – Unidade de Paranavaí. Laboratório de Morfofisiologia do Aparelho Digestório, Av. Huberto Brüning, n° 360, Jardim Santos Dumont, Paranavaí (PR), CEP: 87706-140. e-mail: andressac2011@hotmail.com

Introdução

O 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) é um herbicida amplamente utilizado usado em grandes e pequenas propriedades (Bjorling-Olusen et al., 2008), controlando essencialmente ervas de folhas largas anuais e algumas perenes em culturas de arroz, cana-de-açúcar, pastagens e outros (Margonato, 2003). Devido a sua grande volatilidade, recomenda-se cuidado durante a aplicação, evitando-se períodos de ventos, mesmo fracos, pois a deriva dos vapores pode atingir quilômetros de distância (Almeida e Rodrigues, 1988).

Os sintomas de intoxicação pelo 2,4-D incluem mal-estar, vômitos, astenia muscular, dificuldades respiratórias, bradicardia, suor excessivo, entre outros (Almeida e Rodrigues, 1988). Mesmo apresentando sintomas gastrointestinais, pouco se conhece sobre sua ação no Sistema Nervoso Entérico (SNE).

Devido a grande utilização deste herbicida, principalmente pelas práticas das monoculturas, o presente trabalho teve por objetivo verificar os efeitos do 2,4-D na morfometria dos neurônios mioentéricos do jejuno de ratos, corados pela técnica de Giemsa.

Materiais e Métodos

Foram utilizados dez ratos machos *Wistar* de 60 dias de idade, distribuídos em dois grupos (n=5/grupo): grupo controle (GC) com animais que não receberam 2,4-D e serviram de controle para o grupo experimental (GE), em que os animais foram submetidos à ingestão de 5mg de 2,4-D/Kg por 60 dias. Ao final do período experimental os animais foram eutanasiados por superexposição ao anestésico inalatório Isoflurano – (Vetflurano®), o jejuno foi coletado e fixado em solução fixadora de Giemsa, após um intervalo não inferior a 48 horas, foram microdissecados e processados pela técnica de Giemsa, sendo posteriormente montados entre lâmina e lamínula. Em microscopia de luz e analisador de imagens foram mensurados 100 neurônios por preparado de membrana de cada animal. A normalidade dos dados foi testada usando o teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram comparados usando o teste de Mann-Whitney (dados com distribuição livre) e expressos usando a mediana e os percentins de 25 e 75 (P25; P75). O nível de significância adotado foi $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

A análise morfométrica da área do corpo celular dos neurônios evidenciados pela técnica de Giemsa apresentaram maiores dimensões no GE em relação aos neurônios do GC, sendo significativas ($p < 0,05$) estas diferenças (Tabela 1).

As características morfológicas de neurônios mioentéricos evidenciados pelo corante azul de metileno, de modo geral, estão bem estabelecidas nos estudos de Stabile e colaboradores (1999; 2000) e de Germano e colaboradores (2000).

Os estudos sobre a morfologia do plexo mioentérico revelam que, no mesmo indivíduo, os neurônios não são homogêneos no que diz respeito a sua distribuição ou mesmo ao seu conteúdo neuroquímico (Gabella e Halasy, 1987; Leite-Melo et al., 1997).

O aumento na área de pericário evidenciado por esta técnica é indicativo de maior atividade de síntese, como a que poderia estar ocorrendo nos neurônios para se adequar aos efeitos tóxicos do 2,4-D (Nanni, 2010).

Tabela 1: Mediana e percentis (P25; P75) da área do corpo celular (μm^2) de neurônios mioentéricos do jejuno de ratos pertencentes ao grupo controle (GC) e experimental (GE).

Grupos	Área do corpo celular (μm^2)
GC = 5	197,2 (177,7; 201,3) *
GE = 5	252,2 (233,1; 275,6) *

Valores marcados por asterisco (*) na mesma coluna diferem ($p < 0,05$) entre os grupos

Conclusão

Os resultados sugerem que a administração de 5 mg/kg de 2,4-D durante 60 dias induz a hipertrofia do corpo celular dos neurônios mioentéricos do jejuno de ratos, em resposta ao aumento da maquinaria bioquímica celular envolvidos nos mecanismos de defesa dos neurônios.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, F. S.; RODRIGUES, B. N. **Guia de herbicidas**. 2.ed. Londrina: Livroceres, 1988. p.175-185.

BJORLING-POULSEN, M.; ANDERSON, H. R.; GRANDJEAN, P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. **Environ. Health.**, v.7, p. 1-50, 2008.

GABELLA, G.; HALASY, K. On the nerve plexus of the chicken gizzard. **Anat. Embriol.**, v. 177, p. 97-103, 1987.

GERMANO, R. M.; STABILLE, S. R.; MAREGA, P.; MOLINARI, S. L. Morphological and quantitative analysis of myenteric plexus neurons of intestinal bulb of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Cyprinidae). **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 561-565, 2000.

LEITE-MELO, E. V. S.; STABILLE, S. R.; MIRANDA-NETO, M. H. Effect of maternal protein deprivations on morphological and quantitative aspects of the myenteric plexus neurons of proximal colon in rats. **Arq. Neuropsiq.**, v. 55, p. 106-113, 1997.

MARGONATO, S. B. Efeito do herbicida 2,4-D (ácido 2,4 diclofenoxiacético) na morfologia renal de ratos wistar. **Arq. Ciência da saúde Unipar**, v. 7, n. 2, p. 175-185, 2003.

NANNI, W. **Avaliação morfoquantitativa de neurônios mioentéricos do colo proximal de ratos tratados com herbicida ácido 2,4 diclorofenoxiacético**. Dissertação - Mestrado em Ciência Animal. Universidade Paranaense, 2010.

STABILLE, S. R.; MAREGA, P.; RIBEIRO, E. A.; GERMANO, R. M. Considerações morfológicas e quantitativas sobre os neurônios do plexo mioentérico do segmento intestinal médio da carpa *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 4, n. 3, p. 221-227, 2000.

STABILLE, S. R.; MIZUNO, M. S.; GERMANO, R. M. Morphological and quantitative aspects of the myenteric plexus of the anterior intestinal segment of the carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Cyprinidae). **Braz. J. Morphol. Sci.**, v. 16, p. 39-44, 1999.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

EFEITO DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DO JEJUNO DE RATOS *WISTAR* DURANTE O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

**Lainy Leiny de Lima
Aline Aparecida Ribeiro
Danieli Scotta
Nathalia Alves Diamante
Renata de Brito Mari
Ricardo de Melo Germano**

Universidade Paranaense – Unidade de Paranavaí. Laboratório de Morfofisiologia do Aparelho Digestório, Av. Huberto Brüning, n° 360, Jardim Santos Dumont, Paranavaí (PR), CEP: 87706-140. e-mail: lainy-leiny@hotmail.com

Introdução

O envelhecimento é um processo contínuo e inevitável que acarreta alterações morfofisiológicas, propiciando maior incidência de processos patológicos, podendo ou não estar associado a doenças, fatores ambientais ou estilo de vida (Holloszy e Fontana, 2007). Entre as atividades corporais comprometidas com a idade ressaltam-se as funções neuroendócrinas, hepáticas, gastrointestinais, renais dentre outras.

Algumas formas alternativas para aumentar a longevidade e a qualidade de vida da população têm sido estudadas, destacando-se a atividade física e a restrição calórica (Cutler e Mattson, 2006). Na restrição alimentar a diminuição do volume ingerido, conseqüentemente, diminui as calorias, contribuindo para uma diminuição dos danos oxidativas, que segundo Bernhardt (2005) diminui os efeitos neurodegenerativos, aumentam a produção de fatores neurotróficos, estimulam a plasticidade neuronal e a capacidade de auto-reparação em células nervosas.

Tendo em vista que no envelhecimento são observados alterações no Trato Gastrointestinal (TGI), muitas vezes acarretando desconforto nos idosos, faz-se necessário o estudo da restrição alimentar sobre a plasticidade dos neurônios mioentéricos e desta maneira observar possíveis efeitos benéficos de tais medidas alimentares na preservação da população entérica, contribuindo para a qualidade de vida dos animais.

Materiais e Métodos

Quinze ratos machos de seis meses da linhagem *Wistar* foram distribuídos em três grupos (n=5/grupo): grupo controle I (GCI), animais de seis meses que foram eutanasiados no primeiro dia de experimento, grupo controle II (GCII), que até completarem 12 meses de idade não sofreram restrição alimentar e receberam água *ad libitum* e o grupo experimental (GE), grupo que a partir dos seis meses foram submetidos a restrição alimentar de 30% e receberam água a vontade. Ao final deste período todos os animais foram eutanasiados por superexposição ao anestésico inalatório Isoflurano – (Vetflurano®), o jejuno foi coletado microdissecado para obtenção de preparados de membrana e processado para a técnica de Giemsa. Em microscopia de luz e analisador de imagens foram mensurados 100 neurônios por preparado de membrana de cada rato.

A normalidade dos dados foi testada usando o teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram expressos usando a mediana e os percentis de 25 e 75 (P25; P75), e comparados usando o

teste de Mann-Whitney (dados com distribuição livre). O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

A média da área do perfil celular dos neurônios mioentéricos do GCI foi superior ($p < 0,05$) à média neuronal do grupo GCII e ambos os GC não obtiveram diferença significativa em relação ao GE (Tabela 1).

Tabela 1: Mediana e percentins (P 25; P 75) da área do pericário (μm^2) de neurônios mioentéricos do jejuno dos animais do grupo controle I (GCI), grupo controle II (GCII) e grupo experimental (GE).

Grupos	Área do pericárdio (μm^2)
GCI (n=5)	234,5 (219,0; 241,0) *
GCII (n=5)	187,1 (175,5; 197,7) *
GE (n=5)	209,7 (183,3; 201,3)

Valores marcados por asterisco (*) na mesma coluna diferem ($p < 0,05$) entre os grupos.

Segundo Van Praag et al. (1999), o envelhecimento pode acarretar reduções no perfil celular neuronal podendo indicar o processo de apoptose, o que justifica a diminuição da área do pericário do GCII em relação ao GCI.

Quanto à diminuição da área do pericário do GE em relação ao GCI não foi observada diferença ($p < 0,05$), sugerindo efeito protetor da restrição alimentar sobre os neurônios mioentéricos, efeito este relacionado a uma diminuição da produção de radicais livres produzidos quando da digestão dos alimentos, principalmente, da digestão proteica. Na literatura os trabalhos sugerem que a restrição alimentar parece exercer ação protetora do sistema nervoso central frente às alterações causadas pelo envelhecimento (Prolla e Mattson, 2011).

Conclusão

Podemos inferir que a restrição alimentar de 30%, durante seis meses, promoveu manutenção das características morfológicas dos neurônios mioentéricos, quando da análise do pericário dos neurônios, demonstrando um possível efeito neuroprotetor nesta população neuronal.

Apoio

UNIPAR – Universidade Paranaense.

Referências Bibliográficas

BERNHARDI, M. R. Envejecimiento: cambios bioquímicos y funcionales del sistema nervioso central. **Revista Chilena de Neuro-Psiquiatria**, v. 43, n. 4, p. 297-304, 2005.

CUTLER, R. G.; MATTSON, M.P. Introduction: The adversities of aging. **Ageing Research Reviews**, v. 5, p. 221-238, 2006.

HOLLOSZY, J. O.; FONTONA, L. Caloric restriction in humans. **Experimental Gerontology**, v. 42, p. 709-712, 2007.

PROLLA, T. A.; MATTSON, M P. Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: Lessons from dietary restriction. **Trends Neuroscience**, v. 24, p. S21–S31, 2001.

Van PRAAG, H.; CHRISTIE, B. R.; SEJNOWSKI, T. J.; GAGE, F. H. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. **PNAS**, v. 96, n. 23, p. 13427-13431, 1999.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

ESTIMATIVA DA SUBPOPLAÇÃO COLINÉRGICA DOS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DO JEJUNO DE RATOS SUBMETIDOS À INGESTÃO DO ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO

**Aline Aparecida Ribeiro
Andressa Cristina Damim
Danieli Scotta
Lainy Leiny de Lima
Nathália Alves Diamante
Ricardo de Melo Germano**

Universidade Paranaense, Unidade de Paranavaí. Laboratório de Morfofisiologia do Aparelho Digestório. Avenida Huberto Bruning, nº 360, Paranavaí (PR),
CEP: 87706-140. e-mail: alineribeiropvai@gmail.com

Introdução

Devido à prática de monoculturas nas quais os riscos de invasões por ervas daninhas é elevado, nas últimas décadas, o uso de herbicidas apresentou um rápido crescimento no mercado agrícola (Miguel et al., 1999).

Dentre os herbicidas mais utilizados para o controle de pragas em plantações esta o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), sendo, por isso, amplamente estudado (Bjorling-Poulsen et al., 2008).

A exposição ao 2,4-D pode ocorrer desde a manufatura até a mistura e aplicação do mesmo, ou ainda, pela ingestão de alimentos e água contaminada. No ser humano, os efeitos neurotóxicos decorrentes de sua ingestão incluem coma, alucinações, convulsões, fasciculação e paralisia. Em estudos com ratos da linhagem *Wistar*, os sintomas e sinais gerais de envenenamento incluem a diminuição da atividade motora, deficiência muscular, dificuldade de respiração, entre outros (Paulino et al., 1996).

No entanto, apesar de o trato digestório ser um dos primeiros a serem impactados pela ingestão do 2,4-D, apresentando sintomas como vômitos, náuseas e diarreia, pouco se têm relatado sobre seus efeitos no Sistema Nervoso Entérico (Pereira e Stabille, 2006).

Utilizando-se preparados de membrana corados pela técnica de Giemsa e pela histoquímica da NADPH-diaforase, este trabalho teve por objetivo estimar a densidade de neurônios mioentéricos colinérgicos do jejuno de ratos submetidos à ingestão de 2,4-D.

Materiais e Métodos

Vinte ratos machos *Wistar* de 60 dias de idade foram distribuídos em quatro grupos (n=5/grupo): grupo controle (GCI) e grupo controle II (GCII), animais que não receberam 2,4-D e serviram de controle para o grupo experimental I (GEI) e grupo experimental II (GEII), respectivamente.

Durante 60 dias, os animais do GEI e GEII receberam 5mg de 2,4-D/kg de peso corpóreo/dia. Ao final do período experimental os animais foram eutanasiados por superexposição ao anestésico inalatório Isoflurano – (Vetflurano®), o jejuno do GCI e GEI foi coletado e processado para a técnica de Giemsa para evidenciação da população total de neurônios, enquanto que o mesmo segmento do GCII e GEII foi coletado e processado para a técnica histoquímica da NADPH-diaforase para evidenciação dos neurônios nitrérgicos. O jejuno foi microdissecado, e em microscopia de luz e analisador de imagens, foram

quantificados os neurônios presentes em 80 campos microscópicos por preparado de membrana de cada rato. Para estimar o número de neurônios colinérgicos subtraiu-se a quantidade de células nitrérgicas das células coradas pela técnica de Giemsa.

A normalidade dos dados foi testada usando o teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão comparados usando teste t de Tukey (dados com distribuição normal). O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

No grupo controle, a densidade neuronal marcada pela técnica de Giemsa foi superior ($p < 0,05$) à densidade neuronal do grupo experimental. Entre os grupos controle e experimental marcados pela histoquímica da NADPH-diaforase não houve diferença significativa. A estimativa de neurônios colinérgicos demonstrou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) destas células no grupo experimental (Tabela 1).

Tabela 1: Média e desvio padrão da densidade de neurônios mioentéricos em $7,68 \text{ mm}^2$ de jejunos marcados pela técnica de Giemsa e pela histoquímica da NADPH-diaforase, e estimativa neuronal da população colinérgica.

Grupos	Densidade neuronal ($7,68 \text{ mm}^2$)		Estimativa neuronal
	Giemsa	NADPH	Acetil
Controle	1032,0 \pm 16,99*	278,2 \pm 48,60	754,0 \pm 60,36*
Experimental	693,4 \pm 115,7*	370,0 \pm 67,67	323,4 \pm 87,38*

Valores marcados por asterisco (*) na mesma coluna diferem ($p < 0,05$) entre os grupos

A manutenção da população nitrérgica sugere uma maior resistência destes neurônios à morte celular por possuírem mecanismos de defesa contra danos causados por radicais livres. Há relatos de que os neurônios NADPH-diaforase positivos são resistentes ao envelhecimento, ao diabetes e a outras condições adversas (Santer, 1994).

Contudo, verificamos que houve uma redução neuronal significativa referente à subpopulação colinérgica, sugerindo assim, uma maior vulnerabilidade destes neurônios frente ao efeito tóxico do 2,4-D. Esta redução pode ser atribuída à maior susceptibilidade dos neurônios excitatórios ao aumento gradativo na produção de precursores de espécies reativas de oxigênio (Phillips et al., 2003).

Conclusões

Os resultados sugerem que a administração de 5 mg/kg de 2,4-D durante 60 dias promove a redução dos neurônios colinérgicos. Contrariamente, apesar do aumento no estresse oxidativo, constatamos que os neurônios nitrérgicos apresentam mecanismos eficientes de proteção contra os efeitos deletérios dos radicais livres, sendo, por isso, poupados da morte mesmo frente aos efeitos do 2,4-D.

Referências Bibliográficas

BJORLING-POULSEN, M.; ANDERSON, H. R.; GRANDJEAN, P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environ. Health.*, v.7, p. 1-50, 2008.

MIGUEL, M. G.; SOUSA, S. I. G.; CARDOSOS, J. C.R. Efeitos tóxicos dos pesticidas. **Rev. Port. de Farmácia.**, v. 49, n. 3, p. 105-119, 1999.

PAULINO, C. A.; GUERRA, J. L.; PALERMO-NETO, J. Acute, subchronic and chronic 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) intoxication in rats. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 38, n. 5, p. 352, 1996.

PEREIRA, A. P. C.; STABILLE, S. R. Efeitos da ingestão do herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético sobre os neurônios mioentéricos do duodeno de ratos (*Rattus norvegicus*): análises morfométrica e quantitativa. **Revista UNINGÁ**, v. 9, p. 127-142, 2006.

PHILLIPS, R. J.; KIEFFER, E. J.; POWLEY, T. L. Aging of the myenteric plexus: neuronal loss is specific to cholinergic neurons. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 106, n. 2, p. 69-83, 2003.

SANTER, R. M. Survival of the population of the NADPH-diaphorase stained myenteric neurons in the small intestine of aged rats. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 49, p. 115-121, 1994.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

DENSIDADE DOS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DO JEJUNO DE RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR DURANTE O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

Danieli Scotta
Aline Aparecida Ribeiro
Lainy Leiny de Lima
Nathália Alves Diamante
Guilherme Vechiatto
Ricardo de Melo Germano

Universidade Paranaense, Unidade de Paranavaí. Laboratório de Morfofisiologia do Aparelho Digestório, Av. Huberto Brüning, nº 360, Jardim Santos Dumont, Paranavaí (PR), CEP: 87706-140. e-mail: dany_scotta@hotmail.com

Introdução

O envelhecimento é um processo fisiológico progressivo e irreversível que acarreta alterações funcionais, aumentando a incidência de processos patológicos, podendo ou não estar associado a doenças, fatores ambientais ou estilo de vida (Holloszy e Fontana, 2007).

Formas alternativas para aumentar a longevidade e a qualidade de vida da população têm sido estudadas, dentre elas a atividade física e a restrição calórica (Cutler e Mattson, 2006). A restrição alimentar, além de restringir o conteúdo calórico, também diminui a oferta de outros componentes, como aminoácidos, proteínas e minerais (Mari, 2009), contribuindo para uma diminuição dos danos oxidativos que, segundo Bernhardt (2005), diminui os efeitos neurodegenerativos, aumentam a produção de fatores neurotróficos, estimulam a plasticidade neuronal e a capacidade de auto-reparação em células nervosas. Sendo assim a restrição alimentar parece exercer ação protetora frente às ações causadas pelo processo de envelhecimento (Prolla e Mattson, 2001).

Considerando a busca pelo envelhecimento com melhor qualidade de vida, o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da restrição alimentar sobre os aspectos quantitativos dos neurônios mioentéricos do jejuno de ratos, podendo assim verificar possíveis efeitos benéficos da restrição alimentar na preservação destes neurônios.

Materiais e Métodos

Quinze ratos machos de seis meses da linhagem *Wistar* foram distribuídos em três grupos (n=5/grupo): grupo controle I (GCI), animais de seis meses que foram eutanasiados no primeiro dia de experimento, grupo controle II (GCII), que até completarem 12 meses de idade não sofreram restrição alimentar e receberam água *ad libitum* e o grupo experimental (GE), grupo que a partir dos seis meses foram submetidos a restrição alimentar de 30% e receberam água a vontade. Ao final deste período todos os animais foram eutanasiados por superexposição ao anestésico inalatório Isoflurano – (Vetflurano®), o jejuno foi coletado microdissecado para obtenção de preparados de membrana e processado para a técnica de Giemsa. Em microscopia de luz e analisador de imagens foram quantificados neurônios presentes em 80 campos microscópios.

A normalidade dos dados foi testada usando o teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram expressos usando a média de desvio padrão, e comparados usando o teste T de (dados com distribuição livre). O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

A densidade neuronal no grupo GCI foi superior ($p < 0,05$) à densidade neuronal do grupo GCII. No entanto, ao compararmos o GCI com o GE, não houve diferença significativa. (Tabela 1).

Tabela 1: Média e desvio padrão da densidade neuronal (neurônios/7,68 mm² de jejuno e neurônios/mm² de jejuno) de neurônios mioentéricos do jejuno dos animais do grupo controle I(GCI), grupo controle II e grupo experimental (GE).

Grupos	Densidade neuronal (7,68mm ²)	Densidade neuronal (mm ²)
GCI (n= 5)	915,2 ± 27,18*	119,16 ± 3,54*
GCII (n=5)	721,4 ± 106,0 *	93,93 ± 13,80*
GE (n=5)	815,8 ± 43,17	106,22 ± 5,62

Valores marcados por asterisco (*) na mesma coluna diferem ($p < 0,05$) entre os grupos

Vários fatores são responsabilizados pela perda neuronal que acompanha envelhecimento. A morte de neurônios com a idade pode ser atribuída ao aumento de espécies reativas ao oxigênio, desencadeando desordens neurodegenerativas no sistema nervoso central (Raha e Robinson, 2000; Merry, 2002).

Cowen et al. (2000) também relataram diminuição não significativa na densidade de neurônios mioentéricos em animais submetidos a restrição alimentar ao longo do envelhecimento em relação a animais de mesma idade alimentados com dieta normal. Na literatura os trabalhos sugerem que a restrição alimentar parece exercer ação protetora do sistema nervoso central frente às alterações causadas pelo envelhecimento (Prolla e Mattson, 2011).

Conclusão

Podemos inferir que a restrição alimentar de 30%, durante seis meses, promoveu manutenção das características quantitativas dos neurônios mioentéricos, demonstrando um possível efeito neuroprotetor nesta população neuronal.

Referências Bibliográficas

BERNHARDI, M. R. Envejecimiento: cambios bioquímicos y funcionales del sistema nervioso central. **Revista Chilena de Neuro-Psiquiatria**, v. 43, n. 4, p. 297-304, 2005.

COWEN, T.; JOHNSON, R. J. R.; SOUBEYRE, V.; SANTER, R. M. Restricted diet rescues rat enteric motor neurons from age related cell death. **Gut.**, v. 47, p. 653-660, 2000.

CUTLER, R. G.; MATTSON, M.P. Introduction: The adversities of aging. **Ageing Research Reviews**, v. 5, p. 221-238, 2006.

HOLLOSZY, J. O.; FONTONA, L. Caloric restriction in humans. **Experimenta Gerontology**, v. 42, p. 709-712, 2007.

MARI, R. B. **Efeitos da alimentação com diferentes níveis calóricos nos neurônios mioentéricos do cólon de ratos *Wistar* durante o processo de envelhecimento.** Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MERRY, B. J. Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity. **Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 34, p. 1340-1354, 2002.

PROLLA, T. A.; MATTSON, M P. Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: Lessons from dietary restriction. **Trends Neuroscience**, v. 24, p. S21–S31, 2001.

RAHA, S.; Robinson, B. H. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. **Trends Biochemical Science**, v. 25, n. 10, p. 502-508, 2000.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).