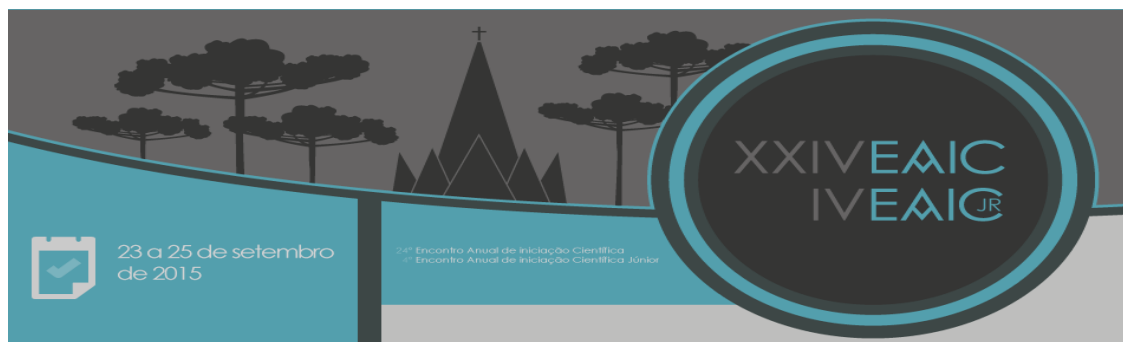




ANÁLISE DAS CÉLULAS ENTEROCROMAFINS EM RATOS DIABÉTICOS SOB ADMINISTRAÇÃO DE *Trichilia catigua*

Francielle Veiga Ramalho (PIBIC/CNPq/Uem), Jacqueline Nelisis Zanoni, Cynthia Priscilla do Nascimento Bonato Panizzon, Juliana Vanessa Colombo Martins Perles, e-mail: jjvcm77@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Morfologia e Histologia.

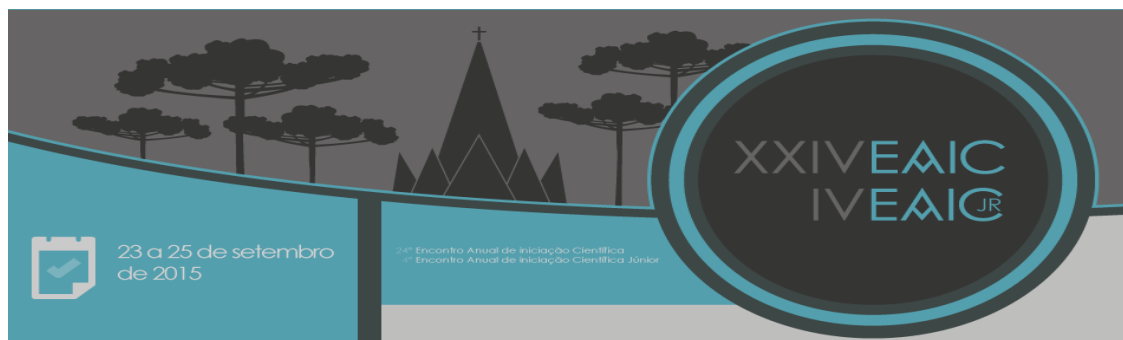
Palavras-chave: Diabetes Mellitus, serotonina, *Trichilia catigua*.

Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar quantitativamente células imunorreativas a serotonina (5-HT-IR) da mucosa do jejuno de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina (ratos-STZ, 35mg/kg, ev.) e o efeito da suplementação com a *Trichilia catigua* (200mg/kg, vo.) nestes animais. Neste trabalho é apresentado o resultado de análise descritiva de células 5-HT-IR presentes em vilos, cripta e lâmina própria no jejuno de 4 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) 1 normoglicêmico (N), 1 normoglicêmico administrados com *T. catigua* (NTC) 1 diabético (D) e 1 diabético administrados com *T. catigua* (DTC). Os resultados mostraram um aumento nas vilosidades e diminuição da cripta no número de células 5-HT-IR do jejuno de ratos-STZ. O tratamento com *T. catigua* não alterou o padrão de resposta no animal diabético (DTC), entretanto no animal normoglicêmico houve aumento dessas células tanto nos vilos quanto nas criptas. Na lâmina própria o resultado obtido para os animais NTC e DTC, apresentaram um aumento em células 5-HT em relação ao N e ao rato D. Esse resultado é considerado positivo, pois é descrito na literatura a presença de mastócitos contendo 5-HT na lâmina própria de camundongos, e o aumento dessas células pode influenciar de forma positiva a homeostase da barreira intestinal. Estes resultados sugerem que o tratamento com *T. catigua* (200mg/kg), podem melhorar a função da barreira intestinal de ratos normoglicêmico e diabético.

Introdução

A maior parte da serotonina (5-hidroxitriptamina - 5HT) corporal (95%) é produzida no intestino, e pode ser encontrada em células enterocromafins (EC), nos neurônios entéricos nos plexos submucosos e mioentérico do



sistema nervoso entérico (SNE), e em mastócitos na lâmina própria da mucosa de ratos (KARAKI et al., 2006). Tem sido descrito na literatura que a neurotransmissão serotoninérgica do intestino, apresenta-se prejudicada no diabetes (TAKAHARA et al., 2001).

Estudos têm sido realizados, utilizando a suplementação com antioxidantes com o intuito de verificar a ação desses na proteção dos neurônios entéricos prejudicados no diabetes (LOPES et al., 2012). A *Trichilia catigua*, tem demonstrado atividade antioxidante, *in vitro*, em diferentes modelos biológicos e químicos (KAMDEM et al., 2012). O objetivo deste projeto foi estudar o efeito da administração da *T. catigua* sobre as células imunorreativas a serotonina na mucosa do jejuno de ratos diabéticos.

Materiais e métodos

Foram utilizados 4 ratos: 1 normoglicêmico (N), 1 normoglicêmico administrado com *T. catigua* (NTC, 200mg/kg, vo.), 1 diabético (D) e 1 diabético administrados com *T. catigua* (DTC, 200mg/kg, vo). Os animais D e DTC, tiveram o diabetes induzido por estreptozotocina (STZ, 35 mg/Kg, ev). Após 60 dias de protocolo experimental, os animais foram mortos sobre aproveitamento do tiopental (45mg/kg, ip) e os jejunos coletados foram fixados, submetidos a crioproteção, imersos em meio para congelamento, congelados em nitrogênio líquido e armazenadas em um freezer a -80°C.

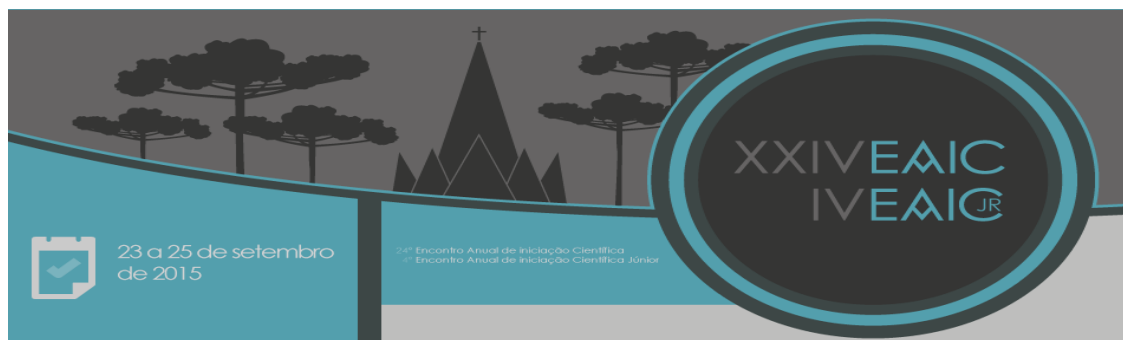
A partir do material congelado foram feitos cortes semi-seriados transversais de 10µm em criostato e dispostos em lâminas preparadas com adesivo de 10% Poli-L-Lisina, posteriormente foram submetidos a técnica de imunohistoquímica em câmara úmida, para evidênciação de células imunorreativas a serotonina (5-HT-IR). As imagens dos cortes preparados foram capturadas com câmara de alta resolução, acoplado a um microscópio de fluorescência transferido para um computador.

O número de células 5-HT-IR foram quantificadas em vilos, criptas e lâmina própria de cortes histológicos do jejuno por meio de imagens capturadas com aumento de 10X. O valor final foi obtido a partir de 10 unidades de vilosidades ou criptas, ou lâmina própria da mucosa por corte, sendo que cada lâmina analisada tinha 5 cortes por animal, totalizando 50 unidades de vilosidades ou cripta ou lâmina própria da mucosa por animal.

Até o momento essa quantificação foi feita em apenas 1 animal de cada grupo, dessa forma a análise realizada é apenas descritiva e não quantitativa.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que, no animal do grupo D as células 5-HT-IR da vilosidade aumentaram 35,29%, enquanto que na cripta houve uma redução de 52,09%. O animal do grupo DTC as células 5-HT-IR do vilo e



cripta apresentaram comportamento semelhante ao animal do grupo D, dessa forma a *T. catigua* não preveniu alterações provocadas pelo diabetes em células 5-HT dos vilos e criptas do animal diabético. Dados sobre a densidade de ECs ou conteúdo de serotonina no tecido intestinal têm sido inconsistentes. A densidade celular de EC foi diminuída no duodeno de camundongos STZ- tratados (PORTELA-GOMES et al, 1990), mas não foi alterada no duodeno de camundongos db/db (PINTO H.C. et al, 1995). Em ratos STZ (ALDEGUNDE, 1994), foi relatado um aumento de EC, (RICHTER, 1986) sem alteração no teor de serotonina no intestino delgado.

O animal do grupo NTC apresentou aumento no número de células 5-HT-IR de 41,17% no vilo e 31,77% na cripta. Ainda são inexistentes dados na literatura a respeito da atuação da *T. catigua* em células da mucosa intestinal.

Na Lâmina própria foi observado aumento no número de células 5-HT-IR de 46,34%, 6,16% e 15,49% nos animais dos grupos NTC, D e DTC, respectivamente, em relação ao controle.

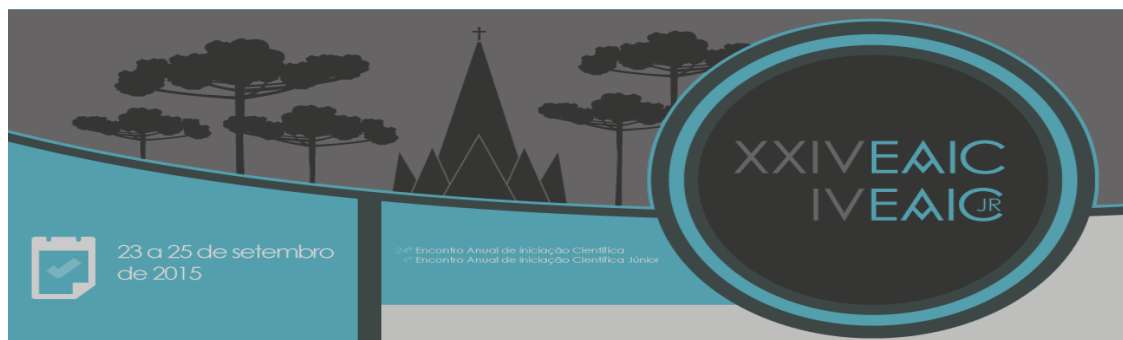
A literatura tem demonstrado a presença de mastócito na lâmina própria de roedores (WEITZMAN, 1985) e a migração celular do epitélio intestinal ea função de barreira são homeostaticamente reguladas por essas células. De acordo com Groschwitz et al. 2009, camundongos deficientes em mastócitos tem alterações na estrutura e função da barreira intestinal, com redução da migração do epitélio intestinal e permeabilidade, e as alterações na arquitetura intestinal. Dessa forma a *T. catigua* por ter aumentado essas células tanto nos animais normoglicêmico quanto diabético pode ter melhorado a função da barreira desse segmento intestinal.

Tabela 1: Quantificação das células 5-HT-IR presentes no vilo, cripta e lâmina própria da mucosa de animais Normoglicêmico (N), Normoglicêmico administrado com *T. catigua* (NTC), Diabético (D) e Diabético administrado com *T. catigua* (DTC).

Grupos	Nº de células 5-HT/50 unidades de vilo	Nº de células 5-HT/50 unidades de cripta	Nº de células 5-HT/50 unidades de vilo/cripta
N	34	192	697
NTC	48	253	1020
D	46	92	740
DTC	44	90	805

Conclusões

O tratamento com a *T. catigua* (200mg/kg) aumentou o número de células 5-HT-IR na lâmina própria do jejuno dos ratos normoglicêmico e diabético, esse é considerado um resultado positivo pois essas células provavelmente sejam mastócitos que irão regular de forma positiva a homeostase da barreira intestinal desses animais. Entretanto será realizada a quantificação



de mais animais de cada grupo analisado para a realização de análise estatística quantitativa para confirmar esse resultado.

Agradecimentos

CNPq e Fundação Araucária de Apoio à Pesquisa do Estado do Paraná.

Referências

ALDEGUNDE M, ATIENZA G. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on serotonin measures of peripheral tissues in rats. **Life sciences**, v.56, p 51-59, 1994

GROSCHWITZ K.R., et al. Mast cells regulate homeostatic intestinal epithelial migration and barrier function by a chymase/Mcpt4-dependent mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.106: p. 22381-22386, 2009.

KAMDEM, J.P.; et al. *In vitro* antioxidant activity of stem bark of *Trichilia catigua* Adr. Juss. **Acta Pharm**, v.62, p.371–382, 2012.

KARAKI, S. et al. Short-chain fatty acid receptor, GPR43, is expressed by enteroendocrine cells and mucosal mast cells in rat intestine. **Cell and tissue research**, v. 324, n. 3, p.353-360, 2006.

LOPES, C.R; et al. Neuroprotective effect of quercetin on the duodenum enteric nervous system of streptozotocin-induced diabetic rats. **Digestive diseases and sciences**, v. 57, n.12, p.3106-15. 2012

PINTO H.C., et al. The distribution of endocrine cell types of the gastrointestinal mucosa in genetically diabetic (db/db) mice. **Gastroenterology**, v.108: p.967-974, 1995.

PORTELA-GOMES G, et al. The enterochromaffin cells in the mouse gastrointestinal tract after streptozotocin treatment. **Pathology-Research and Practice**, v.186, p.260-264,1990.

RICHTER G, BALLMANN M, CONLON J. Effect of streptozotocin administration upon the serotonin content of the pancreas and small intestine of the rat. **Hormone and metabolic research**, v.18, p.663-665, 1986.

TAKAHARA H, et al. Changes in serotonin levels and 5-HT receptor activity in duodenum of streptozotocin-diabetic rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, v.281, p.G798-G808, 2001.

WEITZMAN G, GALLI S, DVORAK A, HAMMEL I. Cloned Mouse Mast Cells and Normal Mouse Peritoneal Mast Cells. **International Archives of Allergy and Immunology**, v.77, p.189-191,1985.