



## **AVALIAÇÃO PRELIMINAR DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE CAJAL NO JEJUNO DE RATOS SUPLEMENTADOS COM *Trichilia catiguá*.**

Bianca Silva Cardoso (PIBIC/CNPq-UEM), Flávia Cristina Vieira Frez (Doutoranda/PCF), Jacqueline Nelisis Zanoni (Orientadora), e-mail: [jnzanoni@uem.br](mailto:jnzanoni@uem.br).

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Ciências Morfológicas

**Área e subárea:** Morfologia- Histologia

**Palavras-chave:** catuaba, intestino delgado, ANO-1.

### **Resumo:**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a densidade das células intersticiais de Cajal (CIC) em ratos suplementados com *Trichilia catiguá*, catuaba. Foram utilizados 12 ratos machos Wistar, divididos em 2 grupos: controle (C), normoglicêmico suplementado com *Trichilia catiguá* (NC). Após 120 dias os animais foram mortos e o jejuno foi cortado em criocortes e submetido à técnica de imunohistoquímica para marcador ANO-1 para evidenciação das CIC. Para cada animal foram quantificadas todas as CIC presentes em 30 imagens, capturadas em objetiva de 40X. Imagens foram analisadas em computador através do programa Image-Pro Plus. Os resultados foram expressos como  $M \pm EP$ . No grupo N foi observado  $582 \pm 11$  e no grupo NC:  $790 \pm 19$  CIC,  $p < 0,0001$ . Os resultados demonstraram que a suplementação com catuaba promoveu uma proliferação das CIC no jejuno dos animais normoglicêmicos.

### **Introdução**

O sistema nervoso entérico (SNE) é constituído por uma rede de gânglios inseridos na parede do tubo digestório e interconectados por fibras nervosas, exercem um importante papel no controle da motilidade, proliferação celular, transporte de íons pela mucosa e liberação de hormônios gastrintestinais (FURNESS; COSTA, 1987). A motilidade gastrintestinal além da inervação entérica também é regulada por células marca-passo específica conhecida como Células Intersticiais de Cajal (CIC), que desempenham como função a geração e propagação de ondas elétricas lentas (SANDERS, 1996) e também como mediadoras de neurotransmissores de neurônios entéricos atuando sobre as células musculares lisas (SANDERS, 1996). Estudos feito



por Tang et al., (2007) conseguiram verificar uma forte atividade antioxidante de *Trichilia catiguá*, e isso se faz promissor na prevenção do desenvolvimento da neuropatia entérica de ratos. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito da suplementação com *Trichilia catiguá* sobre as células imunoreativas a ANO1 marcador imunohistoquímico para CIC.

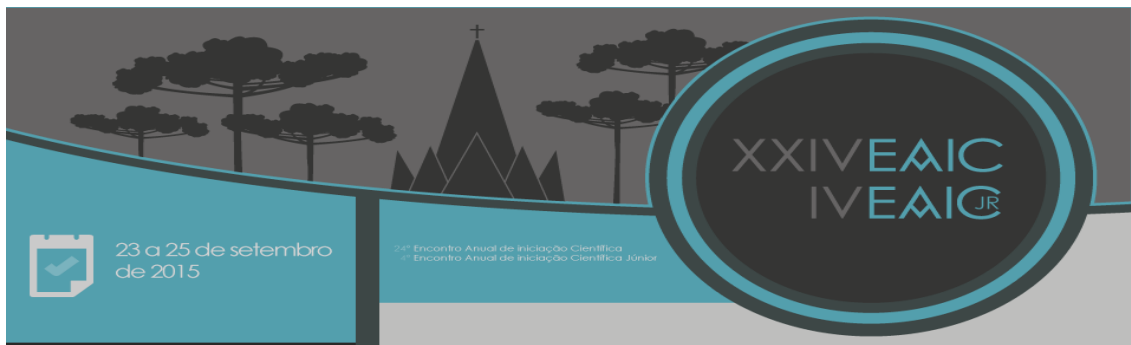
## **Materiais e métodos**

Foi utilizado neste estudo 12 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade; *albinus*) adultos machos, divididos em dois grupos experimentais, com 6 animais em cada grupo: normoglicêmicos (N), normoglicêmico suplementado com *Trichilia catiguá* (NC). No dia do sacrifício, os segmentos de jejuno foram fixados em base de cortiça com auxílio de espinhos e foram fixados em ácido acético e etanol por 20 minutos. A crioproteção foi feita em uma solução de 18% de sacarose em 0,1M PBS durante 24h. Na sequência foram imersos em meio para congelamento OCT e congelados em nitrogênio líquido e armazenadas em um freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, foram feitos cortes semi-seriados de  $7\mu\text{m}$  de espessura em micrótomo de congelamento. As lâminas com os cortes histológicos dos jejunos foram submetidos à imunohistoquímica com anticorpo primário específico para a CIC (ANO1 obtido de coelho) 1:200 e anticorpo secundário Alexafluor 567 e montados com meio contendo DAPI para marcação dos núcleos. As imagens foram capturadas em microscópio de fluorescência e a análise das imagens foi realizada em computador através do programa Image-Pro Plus. Para cada animal foram quantificadas todas as células imunoreativas a Ano1 na túnica muscular (CIC-MY) presentes em 30 imagens, capturadas em objetiva de 40X. Os resultados obtidos foram submetidos a tratamento estatístico com nível de significância de 5%.

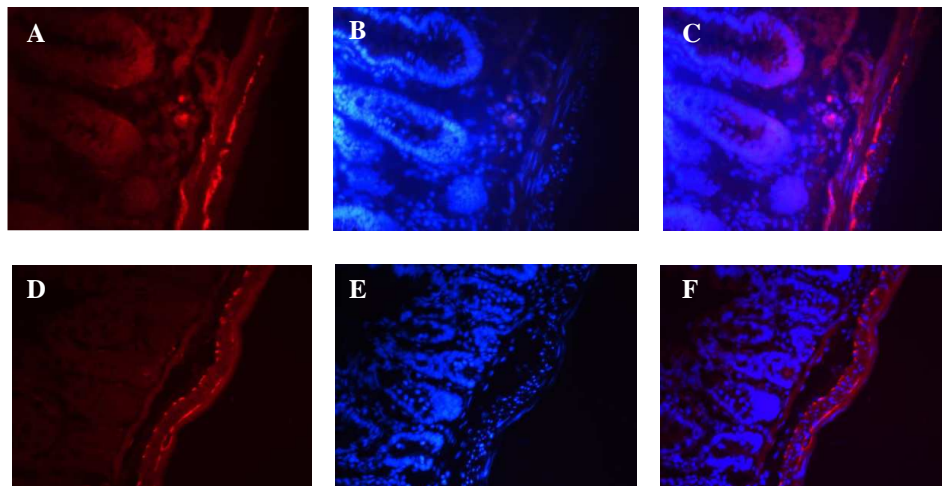
## **Resultados e Discussão**

Através das imagens da Figura 1, é possível evidenciar que as CIC do grupo N são maiores e mais volumosas e as CIC-MY do grupo NC são menores e em maior número. De acordo com os resultados apresentados através da quantificação das CIC-MY (Figura 2), pode-se observar que a *Trichilia catiguá* promoveu a proliferação das CIC-MY no jejuno dos ratos normoglicêmicos. O número de CIC-MY no grupo NC foi significativamente maior que o grupo N ( $p < 0,001$ ). Sendo um indicativo que a *Trichilia catiguá* apresentou atividade protetora sobre a densidade de CIC-MY em animais normoglicêmicos.

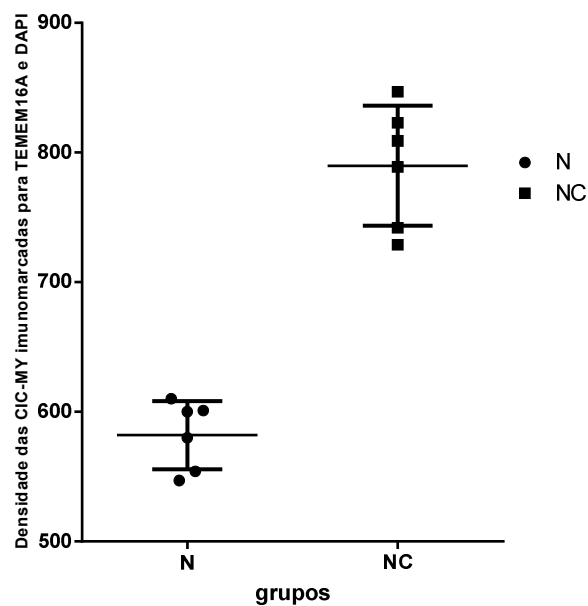
Gibbons *et al.* (2009) em experimentos realizados com colo de humanos saudáveis, verificaram que as CIC morrem por mecanismos apoptóticos,



mas as mesmas podem continuamente se regenerar mantendo suas redes intactas.



**Figura 1** - Fotomicrografias demonstrando as CIC-MY em corte histológico através da imunomarcagem da proteína ANO1 (A e D), núcleos marcados por DAPI (B e E) e a sobreposição (C e F) no jejunum de ratos normoglicêmicos (A, B e C) e normoglicêmicos suplementados com *Trichilia catiguá* (D, E e F).



**Figura 2** . Densidade das CIC-MY nos grupos N=controle e NC= controle tratado com *Trichilia catiguá*. Resultados expressos como média ± erro padrão. \*  $p < 0,0001$  quando comparado a N. n = 6 ratos por grupo.



Alguns fatores podem estar relacionados a morte das CIC, um deles seria o estresse oxidativo que está presente mesmo durante o envelhecimento. As CIC são susceptíveis aos efeitos deletérios da elevada produção de espécies reativas de oxigênio e a *Trichilia catiguá* através de sua propriedade antioxidante provavelmente protegeu e promoveu proliferação das CIC-MY.

### Conclusões

Através da realização desse trabalho pode-se concluir que a suplementação com *Trichilia catiguá*, a catuaba, promoveu alterações significativas nas CIC aumentando a densidade quando comparadas a animais normoglicêmicos não suplementados.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de iniciação científica e financiamento do projeto.

### Referências

FURNESS, J.B.; COSTA, M. **The enteric nervous system**. New York: Churchill Livingstone; 1987.

GIBBONS, S.J.; STREGE, P.R.; SHA, L.; ROEDER, J.L.; MAZZONE, A.; RICH, A.; FARRUGIA, G. The  $\alpha_1H$   $Ca^{2+}$  channel subunit is expressed in mouse jejunal interstitial cells of Cajal and myocytes. **Journal Cell Molecular Medicine**, v. 13, p. 422-443 . 2009

SANDERS, K. M. A Case for Interstitial Cells of Cajal as Pacemakers and Mediators of Neurotransmission in the Gastrointestinal Tract. **Gastroenterological**, v. 111, p. 492-515, 1996.

TANG, W. et al. Antioxidant Phenylpropanoid-Substituted Epicatechins from *Trichilia catiguá*. **Journal of Nature Products**, v. 70, p. 2010–2013, 2007.