



## **ANÁLISE DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE CAJAL DO JEJUNO DE RATOS DIABÉTICOS ADMINISTRADOS COM QUERCETINA MICROENCAPSULADA**

Rafael Campos do Nascimento (PIC/CNPq/FA/UEM), Tania Regina dos Santos Soares (Orientador), e-mail: trdssoares@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Ciências Morfológicas.

### **Morfologia e Histologia.**

**Palavras-chave:** Quercetina microencapsulada, Diabetes, células intersticiais de Cajal.

### **Resumo:**

O presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito da quercetina microencapsulada (QM, 100mg/Kg, vo) sobre as células intersticiais de Cajal (CIC) do jejuno de ratos diabéticos com streptozotocina (35mg/k). 24 Ratos machos Wistar foram distribuídos em 4 grupos (n=6): Controle (C); Controle administrado com QM (CQM); Diabético (D) e diabético administrado com QM (DQM). Após 60 dias de protocolo experimental, os ratos (150 dias de idade) foram mortos e o jejuno coletado e processado para a realização das técnicas de imunohistoquímica para CIC (marcador ANO 1-TMEM16A). Foi possível observar uma diminuição significativa da densidade celular de plexo muscular profundo (DMP) e plexo mioentérico (MY) ( $p < 0.05$ ) no grupo D, CQM e DQM em relação a C. O diabetes mellitus reduziu a densidade das CICs DMP e MY imunorreativas a proteína ANO-1, no jejuno de ratos, e a administração com QM (100mg/Kg) não foi capaz de prevenir essa alteração apresentando um possível efeito pro-oxidante.

### **Introdução**

A hiperglicemia crônica e persistente, presente no diabetes mellitus, leva a um estresse oxidativo ocasionado pela redução da atividade de enzimas antioxidantes e aumento na produção de radicais livres que podem inclusive induzir a apoptose das células intersticiais de Cajal (CIC), responsáveis pela contração coordenada das células musculares lisas do intestino por atuarem na conexão entre as células musculares e os neurônios entéricos (KOSTITSKA et al, 2013; HUIZINGA et al, 2009). Dessa maneira, a





utilização de uma terapia antioxidante poderia ter um efeito promissor em atenuar os efeitos da produção descontrolada de radicais livres em pacientes com diabetes crônico. A quercetina têm sido estudada nas últimas décadas com um relevante potencial antioxidante, e em nanopartículas de polímero, a quercetina apresentou melhora na inibição de radicais livres e nas propriedades quelantes de metais de transição (POOL et al, 2012). Sendo assim o objetivo desse trabalho foi analisar os efeitos da quercetina microencapsulada (100mg/Kg VO) sobre as CIC do jejuno de ratos diabéticos.

### **Materiais e métodos**

Foram utilizados 24 ratos machos Wistar que iniciaram o experimento com 90 dias de idade. Os animais foram distribuídos em 4 grupos com 6 animais cada: Controle (C); Controle administrado com quercetina microencapsulada (100mg/Kg, vo) (CQM); Diabético (D) e diabético administrado com quercetina microencapsulada (100mg/Kg, vo) (DQM). O diabetes foi induzido por estreptozotocina (35 mg/ Kg endovenoso) e após 4 dias iniciou-se o período experimental de tratamento que durou 60 dias onde administrou-se o flavonoide por gavagem. Após o período, os ratos foram anestesiados com tiopental (40mg/Kg) e mortos, o jejuno foi coletado sendo fixados em solução de ácido acético (25%) e etanol (75%) e dissecados para obtenção de preparado total da camada muscular longitudinal (CIC-MY), foram mortos e o jejuno coletado e processado para a realização das técnicas de imunohistoquímica para CIC (marcador ANO 1-TMEM16A), na sequência foi feita a captura das imagens em objetiva de 40x, seguida de quantificação no programa Image Pro Plus 4. Todos os resultados foram submetidos à ANOVA seguida do teste de Tukey. O nível de significância será de 5%.

### **Resultados e Discussão**

Após o experimento foi possível observar uma diminuição significativa densidade celular de CIC-DMP e MY ( $p < 0,05$ ) no jejuno de ratos do grupo D, CQM e DQM em relação a C, e a administração com quercetina (100mg/Kg) em animais diabéticos (DQM) acentuou ainda mais essa redução ( $p < 0,05$ ) nas CIC-DMP, quando comparado ao grupo D.

**Tabela 1-** Resultados de quantificação de CIC/cm<sup>2</sup> nos preparados totais DMP e MY dos grupos: C (controle), D (diabéticos), CQM (controle tratados com quercetina) e DQM (diabéticos tratados com quercetina). Resultados expressos em média  $\pm$  erro padrão (n = 6).





GRUPOS	C	D	CQM	DQM
DMP	33269±632,5 <sup>a</sup>	23065 ±441,7 <sup>b</sup>	24860± 424,2 <sup>c</sup>	20676 ±357,8 <sup>d</sup>
MY	44110±856,6 <sup>a</sup>	23430±536,8 <sup>b</sup>	32770±598,4 <sup>c</sup>	22336 ±536,0 <sup>b</sup>

Médias seguidas por letras diferentes sobrescritas na mesma linha são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

A redução no número de CIC imunorreativas a ANO 1 tanto DMP quanto MY, nos animais diabéticos, era um fenômeno esperado uma vez que a literatura demonstra que diabetes mellitus aumenta o estresse oxidativo levando a apoptose dessas células (Kostitska et al, 2013). Já a redução do número de CIC em animais saudáveis após administração com quercetina não era esperada, o resultado encontrado sugere um possível efeito tóxico pró-oxidante. Estudos mostram que os efeitos pró-oxidantes da quercetina são diretamente proporcionais a concentração da droga, de radicais livres e do número de hidroxilas na molécula, e da conversão da mesma em o-quinona, levando a formação de superóxidos e peróxido de hidrogênio (METODIEWA et al, 1998) levando a uma toxicidade por aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial, levando a sua disfunção além de causar a inibição da cadeia respiratória, reduzindo o níveis de ATP induzindo necrose, além de expor fosfatidil serina e estimular a atividade das caspases-9 e -3 induzindo apoptose (DORTA et al, 2008). Seguindo esse raciocínio, a redução das CIC nos ratos diabéticos administrados com quercetina pode ser resultado desses mesmos mecanismos. Convém avaliar doses menores para que seja detectada a atividade antioxidante efetiva no mesmo modelo utilizado neste estudo.

### Conclusões

O diabetes mellitus por um período experimental de 60 dias reduziu a densidade das CIC-DMP e MY imunorreativas a proteína ANO-1, no jejuno de ratos diabéticos, induzida por estreptozotocina, e a administração com quercetina microencapsulada (100mg/Kg) não foi capaz de prevenir essa alteração, demonstrando uma ausência de efeito protetor sobre essas células e um possível efeito tóxico, pró-oxidativo.

### Agradecimentos





Agradecimentos a Fundação Araucária e a CAPES pelo auxílio financeiro, ao Prof. Dr. Waldiceir A. Verri Jr do Departamento de Ciências da UEL, por fornecer a quercetina microencapsulada utilizada no experimento e a Profa. Dra. Jacqueline Nelisis Zanoni por todo o apoio científico.

### Referências

DORTA, D. J.; PIGOSO, A. A.; MINGATTO, F. E.; RODRIGUES, T.; PESTANA, C. R.; UYEMURA, S. A.; SANTOS, A. C.; CURTI, CARLOS. Antioxidant activity of flavonoids in isolated mitochondria. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 9, p. 1213-1218, 2008.

HUIZINGA, J. D.; ZARATE, N.; FARRUGIA, G. Physiology, injury and recovery of interstitial cells of Cajal: basic and clinical science. **Gastroenterology**, v. 137, n. 5, p. 1548, 2009.

KOSTITSKA, I. O.; MANKOVSKY, B. M.; ZHURAKIVSKA, O. Y.; PERTSOVYCH, V. M. Morphological Aspects of Diabetic Gastroparesis. **Galician Medical Journal**, v. 22, n. 4, p. 8-12, 2015.

METODIEWA, D.; JAISWAL, A. K.; CENAS, N.; DICKANCAITÉ, E.; SEGURA-AGUILAR, J. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 1, p. 107-116, 1999.

POOL, H.; QUINTANAR, D.; FIGUEROA, J. DE D.; MANO, C. M.; BECHARA, J. E. H.; GODÍNEZ, L. A.; MENDONZA, S. Antioxidant effects of quercetin and catechin encapsulated into PLGA nanoparticles. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, p. 86, 2012.

