# EFEITO DA INSULINOTERAPIA SOBRE O CORAÇÃO DE CAMUNDONGOS SWISS: ANÁLISE ESTEREOLÓGICA.

Carla Liz Crekoni Berti (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Victor Roncaglia Pereira, Karen Saar Vedovelli, Maria Montserrat Pedrosa, Célia Regina de Godoy Gomes (Orientador), email: crggomes@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Ciências Morfológicas e Fisiológicas/Maringá, PR.

**Área e subárea: Ciências Biológicas - Morfologia**

**Palavras-chave:** insulina, coração, estereologia.

**Resumo:**

Este estudo teve o objetivo de verificar o efeito da administração crônica de insulina sobre o coração em camundongos swiss não diabéticos e treinados, e relacionar o peso dos animais com o peso do coração e a densidade de volume dos cardiomiócitos, colágeno e vasos com a insulinoterapia e o treinamento físico. Utilizamos para isso 20 animais adultos, divididos em 4 grupos (sedentário e treinado, ambos com e sem o uso de insulina), com protocolo de treinamento que durou 8 semanas. Após o período de treinamento os animais passaram pela eutanásia e seus corações foram analisados histologicamente e os dados obtidos passaram pela análise de significância (ANOVA), com teste de comparação múltipla estabelecido em 95% ($p<0,05$). Após a análise comparativa foi possível estabelecer que o uso da insulina associado ao treinamento resistido não foi significativo para aumentar os efeitos de proteção para o miocárdio oferecido apenas pelo treinamento. Não observamos resultados significativos entre os grupos tratados com insulina ou salina, seja na densidade volumétrica de cardiomiócitos, vasos, ou peso corporal e relativo do coração. Os dados significativos encontrados foram apenas relacionados ao treinamento físico e não a associação de insulina ao treinamento.

## Introdução

A insulina apresenta um papel primordial na função vascular normal. Por aumentar o fluxo sanguíneo e o volume sanguíneo para o tecido muscular, comprovou-se que ela apresenta um efeito benéfico para indivíduos com doenças coronarianas e histórico de infarto agudo do miocárdio (SUNDELL; KNUUTI, 2002). O acúmulo de colágeno é comprovadamente um fator de falha do miocárdio, enquanto que a angiogênese e a cardiomiogênese são fatores de proteção (KWAAK, 2013). Sabe-se que o exercício físico, além de

aumentar a sensibilidade à insulina (MORVAN et al., 2013), também reduz o percentual de colágeno presente no coração e induz a geração de novos cardiomiócitos (VUJIC et al., 2018), mas não há consenso ainda sobre o efeito isolado do hormônio sobre essas variáveis e estudos controlados sobre a ação da insulina associada a exercício físico em modelos animais não-diabéticos são muito raros.
O objetivo desta pesquisa foi observar o efeito da insulina sobre a densidade de colágeno, miócitos e vasos no miocárdio de camundongos sedentários e treinados, e analisar se ela sozinha, apresenta efeitos significativos de proteção para o miocárdio.

**Materiais e métodos**

O uso de animais para esta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA - 8548200616 em 08/07/2016). Foram utilizados 20 camundongos swiss adultos, divididos em 4 grupos: sedentário salina (SS), 5 animais não submetidos a treinamento resistido e recebendo injeção de salina; sedentário insulina (SI), 5 animais não submetidos a treinamento resistido e recebendo injeção de insulina; treinado salina (TS), 5 animais submetidos a treinamento resistido e recebendo injeção de salina; treinado insulina (TI), 5 animais submetidos a treinamento resistido e recebendo injeção de insulina. O protocolo de treinamento consistiu em 8 semanas, com 3 sessões semanais, nas quais o animal realizou de 3 a 9 circuitos completos, com 75% e 90% da carga máxima. A administração de insulina (0,3 U/Kg, insulina regular humana) foi realizada 5 dias por semanas, durante 8 semanas, via intraperitoneal nos grupos TI e SI, enquanto que os grupos SS e TS receberam injeções de salina intraperitoneal, para que o estresse fosse presente em todos os grupos. Após o período de treinamento, os animais foram eutanasiados, seus corações foram coletados e pesados e passaram pela rotina histológica e análise microscópica e estereológica (Vv – densidade de volume do cardiomiócitos, colágeno e vasos). Os resultados passaram pela análise de variância (ANOVA) com teste de comparação múltipla com nível de significância 95% ($p<0,05$).

**Resultados e Discussão**

Observamos que os camundongos mais pesados foram os do grupo SI (47,58 ± 2,354) e os mais leves no grupo TI (43 ± 8,322), mas nenhum dado apresentou significância entre si (Tabela 1). O mesmo aconteceu na análise do peso relativo do coração, em que o maior peso relativo foi observado no grupo SI (0,06 ± 0,009) e o menor no grupo TS (0,055 ± 0,004), e nenhum dado apresentou significância entre si (Tabela 1).

**Tabela 1** – Média e desvio padrão do peso corporal e peso relativo do coração de camundongos

| GRUPOS | PESO CORPORAL (g) | PESO RELATIVO DO CORAÇÃO (g) |
|---|---|---|
| SS | 44,7 ± 3,581 | 0,056 ± 0,002 |
| SI | 47,58 ± 2,354 | 0,06 ± 0,009 |
| TS | 44,42 ± 3,57 | 0,055 ± 0,004 |
| TI | 43 ± 8,322 | 0,058 ± 0,01 |

Nenhum dado apresentou significância entre si.

Já na análise da densidade de volume (Vv) dos miócitos, vasos e colágeno verificamos diversos dados significativos (Tabela 2). A maior densidade de miócitos foi encontrada no grupo TS (0,903 ± 0,045) e a menor no grupo SS (0,826 ± 0,028), esses dados foram significativos entre si, e o grupo SI (0,841 ± 0,035) também apresentou variação significativa com o grupo TS, enquanto que o grupo TI não apresentou variação significativa com nenhum grupo. Em relação aos vasos, observamos o mesmo padrão de significância. Os grupos SS (0,084 ± 0,016) e TS (0,037 ± 0,023), respectivamente o maior e menor valor de densidade, foram significativos entre si, e observamos significância entre o grupo SI (0,067 ± 0,018) e TS. Novamente, o grupo TI não apresentou significância com nenhum outro. A densidade de colágeno apresentou o maior número de variações significativas. O grupo de maior densidade (SS) (0,091 ± 0,017) apresentou variação significativa com o grupo de menor densidade (TI) (0,043 ± 0,055) e com o grupo TS (0,044 ± 0,011). Também observamos significância entre o grupo TI e o grupo SI (0,077 ± 0,026), e entre o grupo TS e SI.

**Tabela 2** – Média e desvio padrão da densidade de volume dos miócitos, vasos e colágeno do coração de camundongos

| GRUPOS | Vv% Miócitos | Vv% Vasos | Vv% Colágeno |
|---|---|---|---|
| SS | 0,826 ± 0,028 [a] | 0,084 ± 0,016 [a] | 0,091 ± 0,017 [a b] |
| SI | 0,841 ± 0,035 [b] | 0,067 ± 0,018 [b] | 0,077 ± 0,026 [c d] |
| TS | 0,903 ± 0,045 [a b] | 0,037 ± 0,023 [a b] | 0,044 ± 0,011 [a c] |
| TI | 0,885 ± 0,014 | 0,057 ± 0,013 | 0,043 ± 0,055 [b d] |

Letras iguais indicam significância entre a mesma variável.

A partir da análise de significância entre os grupos, observamos que o tratamento com insulina não foi o fator primordial de alteração da histologia dos corações destes animais, nem apresentou alteração considerável sobre o peso corporal e peso relativo dos corações, mas o treinamento resistido a qual eles foram submetidos apresentou diversas variações significativas na avaliação histológica, porém nenhuma alteração considerável sobre o peso corporal e relativo do coração.

## Conclusões

A partir da análise dos dados estatísticos e das variações significativas entre os grupos concluímos que a aplicação da insulina não apresentou efeitos de

proteção consideráveis sobre o miocárdio dos camundongos. Enquanto que o treinamento resistido aumentou consideravelmente a densidade dos cardiomiócitos em relação aos grupos sedentários, o grupo TI não apresentou aumento significativo sobre nenhum grupo. A única variável onde o grupo TI apresentou resultados significantes sobre o grupo SS foi na densidade de colágeno, porém o grupo TS também apresentou significância com o grupo SS, então concluímos que a insulina não foi primordial para essa significância, e sim o treinamento associado a ela.

## Agradecimentos

Agradeço a Fundação Araucária pelo fornecimento da bolsa e pelo financiamento da pesquisa, a minha orientadora, Profª Drª Célia, que sempre se mostrou extremamente prestativa e pronta para sanar dúvidas e ajudar nas mais diversas dificuldades que enfrentei durante o andamento da pesquisa.

## Referências

KWAK, H-B. Aging, exercise, and extracellular matrix in the heart. **Journal of Exercise Rehabilitation**, Coreia, v. 9, n. 3, p. 338-347, 2013.

MORVAN, E. *et al.* Metabolic, hemodynamic and structural adjustments to low intensity exercise training in a metabolic syndrome model. **Cardiovascular Diabetology**, São Paulo, 2013. Disponível em <**https://doi.org/10.1186/1475-2840-12-89**>. Acesso em: 24 jul. 2018.

SUNDELL, J.; KNUUTI, J. Insulin and myocardial blood flow. **European Society of Cardiology; Cardiovascular Research,** França, 2002. v. 57, p. 312-319.

VUJIC, A. *et al.* Exercise induces new cardiomyocyte generation in the adult mammalian heart. **Nature Communications,** Massachusetts, 2018. Disponível em <**https://www.nature.com/articles/s41467-018-04083-1**> Acesso em: 24 jul. 2018.