ANÁLISE DE PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS INTESTINAIS EM RATOS TRATADOS COM INSULINA ORAL

Aline Pacheco (PIBIC/UEPG), Marcos Ricardo da Silva Rodrigues (orientador), e-mail: marcosrsr75@gmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Medicina

Medicina. Cirurgia

Palavras-chave: insulina oral, intestino, diabetes, obesidade, metabolismo.

Resumo

Diversos estudos têm sido realizados para esclarecer a fisiopatologia do diabetes mellitus e o papel do intestino tem ganhado destaque. Sabe-se que indivíduos diabéticos com padrão alimentar hipercalórico desenvolvem hiperplasia intestinal, que promove o aumento da absorção de monossacarídeos. Atualmente têm-se pesquisado o papel da insulina oral na inibição da proliferação celular intestinal e redução da capacidade absortiva em intestinos diabéticos. Nesse estudo, procurou-se avaliar o impacto que a insulina oral possui na alteração do peso intestinal. Foram utilizados ratos Wistar machos, divididos em 4 grupos. Os grupos 1 e 2 receberam ração comercial, e os grupos 3 e 4, ração hipercalórica. Além disso, os grupos 2 e 4 receberam via gavagem 20 UI de insulina oral diariamente por 60 dias. Após isso, foram eutanasiados para coleta de intestino delgado que foi pesado. Os animais dos grupos 3 e 4 apresentaram um ganho de peso das porções intestinais menor quando comparado aos grupos 1 e 2. Concluiu-se que em ratos tratados com dieta hipercalórica, a suplementação com insulina oral reduz o peso nas porções duodeno e jejuno do intestino delgado, quando comparado à ratos tratados com dieta padrão.

Introdução

Dentre as doenças que atingem à população no mundo, configura grande importância na atualidade àquelas relacionadas ao desenvolvimento crônico, sendo o diabetes uma das maiores preocupações, pelo fato de estar em aumento progressivo. Isso contribui para o aumento das taxas de mortalidade, sendo que, em 2014 a estimativa foi de 1 morte à cada 7 segundos, além de causar grandes complicações para o indivíduo (MACEDO, et.al., 2012). Com base nisso diversos estudos têm sido realizados na tentativa de esclarecer a patogenia da doença, e há muitas evidências de que haja uma associação entre o trato gastrointestinal e o diabetes. Sugere-se que a dieta padrão da população, caracterizada pelo seu alto teor calórico, induz o crescimento da mucosa intestinal, com consequente aumento do seu peso e da capacidade absortiva, e também inibe a morte celular por apoptose. (SANTORO, 2008; NODA, et. al., 2001; SUKHOTNIK, et. al., 2011). Sabe-se que o intestino é um órgão endócrino que contribui de forma significativa para o controle da glicemia através dos entero-hormônios que promovem a secreção de insulina pelo pâncreas. Como descrito por DeFronzo (2009) a ingestão de glicose via oral provoca uma resposta de insulina bem maior do que ocorre com uma infusão intravenosa de glicose, demonstrando o efeito importante das incretinas através do estímulo da passagem de carboidratos pelo trato digestório. No indivíduo diabético a

secreção de GLP-1, pelas células do intestino delgado distal, é deficiente. Esse efeito pode ser explicado pelo aumento da capacidade absortiva da porção proximal do intestino em decorrência do processo de hipertrofia e hiperplasia celular. A justificativa para a hiperplasia deve-se à maior expressão de transportadores de monossacarídeos (SGLT1, GLUT 5, GLUT 2) na mucosa intestinal (DYER, et. al., 2002). Como conseqüência do déficit de GLP-1 a supressão da liberação de glucagon fica prejudicada e os níveis glicêmicos desviam-se do equilíbrio fisiológico. (DeFronzo, 2009; VILSBOLL, et. al., 2001).
Em pesquisas realizadas por Sukhotnik et al. (2011) foi demonstrado a capacidade de reversão da hiperplasia, em ratos, tratados com insulina oral, provavelmente devido à um mecanismo de regulação por *feedback* negativo de receptores insulínicos no epitélio intestinal. Sabe-se que a insulina administrada via oral não é completamente absorvida na sua forma ativa, pois passa por um processo de destruição pela acidez estomacal. Entretanto, possui capacidade de promover alterações morfológicas na mucosa intestinal.
Com base nessas informações, tivemos o objetivo de avaliar se há alteração do peso intestinal em ratos tratados com insulina oral, porque há grandes evidencias de associação entre o trato gastrointestinal e o desenvolvimento de distúrbios metabólicos, como o diabetes, além de haver a demonstração da importância do esclarecimento dos efeitos da utilização da insulina oral.

Materiais e Métodos

O trabalho foi executado na Universidade Estadual de Ponta Grossa. Foram utilizados 48 ratos Wistar machos com peso entre 300-350g, divididos em 4 grupos (n=12). Os animais dos grupos 1 (n=12) e 2 (n=12) receberam ração comercial e água padrão, e os animais do grupo 3 (n=12) e 4 (n=12) receberam ração hipercalórica e água glicosada à 20%. A ração hipercalórica foi preparada na composição: 600 gramas de ração padrão + 200 gramas de farelo de soja + 200 gramas de banha + 180 gramas de leite condensado. A mistura foi peletizada e deixada na geladeira. Os grupos 1 e 3 foram gavados com 0,2 ml de água e os grupos 2 e 4 receberam insulina regular 20U diariamente. As rações foram repostas à cada 4 dias na porção 100 gramas/animal, nesse mesmo período houve registro do consumo através da pesagem da ração que restou. A água foi reposta à cada 2 dias na porção 100 ml/animal, e o consumo também foi registrado através da verificação do volume restante. Semanalmente os animais foram pesados. Esse tratamento durou 30 dias e então realizou-se teste oral de tolerância à glicose. Nos dias seguintes foi retirado o açúcar da água e todos passaram a receber água padrão. Os animais permaneceram por sessenta dias recebendo os tratamentos e, após, foram eutanasiados conforme normas de bem estar animal. Após a eutanásia foi coletado o intestino delgado e pesado o intestino total e as porções duodeno, jejuno e íleo em balança de precisão.
Para análise estatística foi realizado ANOVA com pós teste de Tukey através do IBM SPSS Statistics – Version 20.

Resultados e Discussão

Conforme demonstrado na tabela 1, os animais de todos os grupos tiveram o mesmo peso intestinal total, não denotando diferença significativa. Os animais do grupo 4, que receberam insulina oral, apresentaram diferença significativa de peso

do duodeno com relação aos animais do grupo 2 que receberam insulina oral, contudo não receberam dieta hipercalórica, estes tiveram um peso duodenal maior. O aumento de peso no jejuno foi significativamente maior no grupo controle (1) com relação aos grupos 3 e 4, alimentados com dieta hipercalórica. Da mesma forma, o grupo 2 obteve maior ganho de peso nessa porção do intestino quando comparado ao grupo 3.

Tabela 1 - Média dos pesos do intestino delgado total e suas porções duodeno, jejuno e íleo

Grupo de animais	Intestino Delgado Total (g)	Duodeno (g)	Jejuno (g)	Íleo (g)
1	1,367 ± (0,139) ^{A}	0,325 ± (0,047) ^{AB}	0,281 ± (0,058) ^{A}	0,294 ± (0,051) ^{A}
2	1,409 ± (0,126) ^{A}	0,335 ± (0,049) ^{A}	0,254 ± (0,040) ^{AD}	0,245 ± (0,022) ^{A}
3	1,358 ± (0,108) ^{A}	0,285 ± (0,040) ^{AB}	0,208 ± (0,010) ^{B}	0,220 ± (0,069) ^{A}
4	1,303 ± (0,138) ^{A}	0,281 ± (0,036) ^{B}	0,229 ± (0,032) ^{BD}	0,251 ± (0,047) ^{A}

Letras iguais nas colunas não denotam diferença significativa.
Letras diferentes nas colunas denotam diferença significativa ($p<0,05$).

Como pode-se observar os animais dos grupos 3 e 4 apresentaram um ganho de peso das porções intestinais menor quando comparado aos grupos 1 e 2. Esse fato pode estar relacionado à dieta diferenciada rica em gordura à qual foram submetidos. Como demonstrado por Lipinski, et al. (2017), o alto teor de gordura de uma dieta associado ao baixo teor de carboidratos influenciam na redução do peso intestinal em todos os segmentos, visto que, para que haja crescimento da mucosa intestinal faz-se necessário um estímulo a partir de carboidratos. A suplementação de insulina oral também pode estar relacionada à causa deste efeito de redução ponderal, considerando o fator de reversão de hipertrofia celular da mucosa promovido por essa substância (SUKHOTNIK, et. al., 2011).
Neste experimento não obtivemos um aumento de peso intestinal, promovido pela insulina oral, significativo no íleo como no estudo realizado anteriormente por Lipinski, et al. (2017). Portanto, faz-se necessário buscar maiores evidências para justificar esse fato.

Conclusões

Em ratos tratados com dieta hipercalórica, a suplementação com insulina oral reduz o peso nas porções duodeno e jejuno do intestino delgado, quando comparado à ratos tratados com dieta padrão. Considera-se como fator influenciador desse efeito tanto a insulina oral, quanto a concentração de gorduras e carboidratos da dieta alimentar.

Agradecimentos

Agradeço à Deus, que é Aquele que me concede todas as oportunidades de obter novas experiências e abre as portas para meu crescimento e desenvolvimento em todas as áreas da minha vida, inclusive como acadêmica e futura profissional. Também sou grata à minha família, pelo apoio e incentivo em todas as circunstâncias. Aos meus amigos e colegas da universidade e que participaram do projeto. Aos professores Marcos Ricardo e Leandro Lipinski por todo conhecimento compartilhado e pela parceria ao longo do desenvolvimento do projeto. Aos

doutorandos e mestrandos do laboratório. E agradeço também à UEPG pela oportunidade e pelo apoio financeiro.

Referências

DeFronzo, Ralph. A. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. **Diabetes Journals**, v. 58, p. 773-95, 2009.

LIPINSKI, L. C.; RODRIGUES, M. R. S.; et al. Oral insulin improves metabolic parameters in high fat diet fed rats. **An. Acad. Bras. Ciênc**, v.89, n.3, p.1699-1705, 2017.

DACHI, T.; MORI, C.; SAKURAI, K.; SHIHARA, N.; TSUDA, K.; YASUDA,K. Morphological changes and increased sucrose and isomaltase activity in small intestines of insulin- deficient and type 2 diabetic rats. **Endocrinology Journal**, v. 50, n.3, p.271-9, 2003.

DRUKER, DJ. Incretin-based therapy and the quest for sustained improvements in beta cell health. **Diabetes care**, v.34, p.2133-35, 2011.

DYER, J.; WOOD, IS.; PALEJWALA, A.; ELLIS, A.; SHIRAZI BEECHEY, SP. Expression of monosaccharide transporters in intestine of diabetic humans**. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v.282, p.241–48, 2002.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *IDF Diabetes Atlas update poster, 6th edn.* Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2014.

NODA, T.; IWAKIRI, R.; FUJIMOTO, K.; YOSHIDA, T.; UTSUMI, H.; SAKATA, H.; HISATOMI, A.; AW, TY. Suppression of apoptosis is responsible for increased thickness of intestinal mucosa in streptozotocin – induced diabetic rats. **Metabolism**, v.50, n.3, p.259-64, 2001.

SANTORO, S. Is the Metabolic syndrome a disease of the foregut? Yes, excessive foregut. **Ann Surg**, v.247, p.1074-1075, 2008.

SJÖSTRÖM, L.; LINDROOS, A.K.; PELTONEN, M et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery.N. **Engl. J. Med**, v.351, p.2683, 2004.

SUKHOTNIK, I.; SHAMIR, R.; BASHENKO, Y.; MOGILNER, JG., CHEMODANOV, E.; SHAOUL, R.; CORAN, AG.; SHEHADEH, N. Effect of oral insulin on diabetes-induced intestinal mucosal growth in rats. **Dig Dis Sci**, v.56, p.2566-74, 2011.

VISBLSBØLL, T.; KRARUP, T.; DEACON, CF.; MADSBAD, S.; HOLST, JJ. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. **Diabetes**, v.50, p.609-13, 2001.