



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

ISBN 978-85-459-0773-2

ANÁLISE MORFOQUANTITATIVA DO INTESTINO DELGADO DE RATOS SUBMETIDOS À DIETA PADRÃO DE MOÇAMBIQUE

Aline Rosa Marosti¹; Lídia dos Santos Rocha Cruz²; Joice Naiara Bertaglia Pereira³; Edson Aparecido Liberti⁴

¹ Professora do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Unicesumar, Doutora, pesquisadora.
aline.marosti@unicesumar.edu.br

² Professora da Universidade Paulista (UNIP, SP), mestre, pesquisadora.

³ Doutora do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
Professor titular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

RESUMO

Admite-se que mais de 40% das crianças são acometidas pela subnutrição crônica em Moçambique (África Oriental). A doença pode estar relacionada à qualidade da dieta oferecida à população, que é deficiente em ferro, gordura e, principalmente, proteína animal em sua composição. Na presente pesquisa foi reproduzida em laboratório, a dieta básica da população de Moçambique (DM), com o objetivo de avaliar quantitativamente seus efeitos nos componentes da parede intestinal e na mucosa dos segmentos do intestino delgado de ratos Wistar. Para isso, os animais foram divididos nos grupos Controle, com dieta AIN-93G com adição de 20% de caseína (NN21 e NN42); Dieta de Moçambique (DM21 e DM42) e Dieta Moçambique suplementada, acrescida de 20% de caseína (NM21 e NM42); e grupo Renutrido (RM42), composto por animais DM21 que foram suplementados com dieta NM até atingirem 42 dias de vida. Os segmentos foram coletados e submetidos às técnicas histológicas (HE) para avaliação da parede intestinal e mucosa. Na análise quantitativa, a mucosa apresentou uma menor área no grupo DM21 com recuperação em DM42, com diminuição da altura das vilosidades nos dois grupos. Assim, conclui-se que a dieta vegetal de Moçambique levou à alterações na morfologia da mucosa, como uma forma de adaptação à dieta imposta.

PALAVRAS-CHAVE: Intestino Delgado; Mucosa Intestinal, Proteína vegetal; Subnutrição; Vilosidades Intestinais.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com publicação oficial a subnutrição crônica, na República de Moçambique, se manifesta pela falha no crescimento nos primeiros anos de vida, e é responsável por um terço das mortes em crianças menores de cinco anos. Além disso, pode trazer danos irreversíveis à saúde durante todo o ciclo de vida, tais como a baixa estatura, que acarreta a fraca capacidade produtiva e física; diminuição da função cognitiva, resultando num menor rendimento escolar, e maiores riscos de doenças degenerativas como a diabetes e a obesidade (BLACK et al., 2008). Estima-se que em Moçambique, a DC afete mais de 40% das crianças. A qualidade da dieta constitui um problema nesse país, onde a ingestão de micronutrientes é bastante precária.

A subnutrição é considerada como um estado de deficiência de nutrientes, que pode ser resultado de sua ingestão inadequada, incapacidade de absorção ou de sua utilização (KONDRUP et al., 2002; STRATTON, 2005).

Portanto, a ingestão adequada de nutrientes é essencial para a prevenção da subnutrição. Dentre os macronutrientes, as proteínas são as mais importantes para prevenção dos principais tipos de desnutrição infantil, pois além de serem utilizadas em vários processos catabólicos do organismo, e fazem parte da constituição de vários tecidos. As proteínas podem ser adquiridas de uma grande variedade alimentos, de origem vegetal e animal, assim como suplementos alimentares industrializados. No entanto, essas fontes proteicas apresentam qualidade e digestibilidade diferentes entre si. As proteínas animais são consideradas completas, pois apresentam todos os aminoácidos essenciais, assim como maiores índices de digestibilidade. Já as vegetais são incompletas, por possuir um aminoácido em sua composição, e sua digestibilidade ser menor comparada à fonte animal (HOFFMAN; FALVO, 2004).



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

ISBN 978-85-459-0773-2

Reduções no nível proteico da dieta resultam em diminuição da ingestão de aminoácidos e nitrogênio, limitando assim a síntese de novas proteínas, o que prejudica a função digestiva (ORLANDO et al., 2007; PORTEJOIE et al., 2004; ZOLLITSCH-STELZL 1992; WANG et al. 2012; WU et al., 2014), podendo levar a danos no organismo, uma vez que o sistema digestório é o principal responsável pela digestão e absorção terminal de nutrientes (WU, 2013).

Considerando-se a importância do estado nutricional para o desenvolvimento e a higidez dos diferentes órgãos e tecidos, e os efeitos deletérios da desnutrição em Moçambique, justifica-se a presente pesquisa que, ao reproduzir em laboratório a dieta básica consumida pela população de Moçambique, visa avaliar as suas repercussões na morfologia da parede do intestino delgado, um importante órgão responsável pela absorção dos nutrientes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos e fêmeas, com aproximadamente 60 dias de vida, obtidos do Biotério do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da USP. No Biotério, os animais foram acondicionados em gaiolas de polipropileno, com temperatura controlada entre 23 e 25°C, e em ciclo de claro/escuro de 12 horas.

Foram utilizadas como ração nutrida (N) ou controle, a AIN-93G com adição de 20% de caseína; a ração Dieta de Moçambique (DM), cuja composição foi baseada nos alimentos mais consumidos pela população daquele País, constituída de farinha de milho, farinha de amendoim torrado, couve liofilizada, suplementada com mix mineral AIN-93G e mix vitamínico AIN-93; e a ração de Moçambique suplementada (NM), ou seja, a ração DM acrescida de 20% de caseína. Após o acasalamento (sistema poligâmico), as fêmeas foram separadas de acordo com as respectivas dietas durante a gestação e após o nascimento dos filhotes. Decorrido o tempo de amamentação (21º dia), os filhotes formaram, de acordo com as dietas, os grupos experimentais N21, DM21 e NM21, os animais nutridos a partir do 22º dia de vida, constituíram, respectivamente os grupos N42, DM42 e NM42 e animais do grupo DM nutridos com NMa partir do 42º dia, constituíram o grupo RM42.

Os animais de todos os grupos foram eutanasiados em câmara de dióxido de carbono (CO₂). Em seguida a uma laparotomia mediana, foi retirado o intestino delgado e lavado com PBS (0,1 M). Fragmentos de cerca de 2 cm das partes oral (jejuno) e aboral (íleo) do intestino delgado dos animais de cada grupo foram lavados em PBS, e mantidos em solução fixadora de formol a 10%, por um período de 24 horas. Depois, os espécimes foram desidratados, diafanizados em xilol, e incluídos em Paraplast (Sigma). Em seguida, cortes transversais de 5 µm de espessura foram corados pelo método da Hematoxilina-Eosina (HE).

As imagens histológicas foram capturadas de uma lupa estereoscópica Zeiss Stemi com um software AxioVision 4.6.3. Para a determinação dos parâmetros sobre as imagens de 15 cortes de cada segmento (oral e aboral) corados com HE obtidas de cada animal de todos os grupos (150 cortes/grupo) projetadas na tela do computador, foi sobreposto um sistema-teste de 300 pontos. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA, com 3 fatores (grupo, idade e região do intestino delgado), com pós-teste de Tukey, com nível de significância $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados relativos ao peso e ao comprimento dos animais, bem como o comprimento e a área do intestino no momento da eutanásia são apresentados na Tabela 1. Os animais



apresentaram diferenças, com relação ao peso e ao comprimento naso-anal, em decorrência do tipo de dieta imposta.

Tabela 1: Parâmetros gerais: peso, comprimento do rato e área do intestino dos ratos dos diferentes grupos experimentais

Grupo	Peso (g)	Comprimento rato (cm)	Área Intestino (cm) ²
NN21	56,2 ± 5,5	12,0 ± 0,6	29,3 ± 2,0
NM21	47,5 ± 4,7 ^a	11,6 ± 0,4 ^a	26,0 ± 2,4
DM21	33,6 ± 2,8 ^{a, b}	10,4 ± 0,4 ^{a, b}	23,1 ± 3,9
NN42	186,6 ± 5,1	17,0 ± 0,4	60,7 ± 5,6
NM42	142,2 ± 15,2 ^a	17,5 ± 0,5	58,2 ± 8,7
DM42	78,4 ± 7,2 ^{a, b}	14,6 ± 0,4 ^d	52,7 ± 7,0
RM42	126,1 ± 14,9 ^c	16,7 ± 0,5 ^e	53,6 ± 5,1

Dados expressos em Média ± desvio padrão; ^a $p < 0,05$ comparado ao NN; ^b $p < 0,05$ comparado ao NM; ^c $p < 0,05$ comparado a todos os grupos; ^d $p < 0,05$ comparado a todos os grupos de 42 dias; ^e $p < 0,05$ comparado ao NM42;

Com relação à área do intestino, embora o crescimento dos órgãos do sistema digestório possa ser afetado até a época do desmame, Weaver et al. (1998) demonstraram que, a longo prazo, o comprimento do intestino não se altera em relação ao tamanho do corpo em animais maduros com dieta contendo 8% de caseína, sugerindo que o órgão parece ser protegido da restrição proteica. Pelo exposto, pode-se admitir que a dieta de Moçambique, embora contenha baixa qualidade proteica por ser estritamente vegetal, não alterou a área do intestino delgado, como observado em dietas restritiva de proteína animal.

De maneira geral, em todos os grupos analisados, a área da mucosa da região aboral apresentou-se menor do que a da região oral (Tabela 2). Diferenças entre as idades também foram observadas, com os animais dos grupos de 21 dias exibindo uma área menor do que aquela dos grupos de 42 dias. Quando analisados os animais de 21 dias, o grupo DM21 apresentou uma diminuição da área da mucosa quando comparados ao grupo NM21. No entanto, entre os grupos de 42 dias, não houve diferenças significativas entre área da mucosa nos grupos tratados.

Tabela 2: Área da mucosa e altura das vilosidades das regiões oral e aboral do intestino delgado de ratos Wistar

Grupos	Área da Mucosa (mm ²)		Altura das vilosidades (µm)	
	Oral	Aboral	Oral	Aboral
NN21	1,46 ± 0,25	0,97 ± 0,20	570,9 ± 69,8	353,8 ± 78,0
NM21	1,51 ± 0,25	1,16 ± 0,24	561,7 ± 20,4	380,0 ± 61,7
DM21	1,15 ± 0,36 ^a	0,76 ± 0,23 ^a	418,1 ± 104,7 ^b	278,7 ± 63,5 ^b
NN42	2,78 ± 0,82	2,18 ± 0,84	590,0 ± 131,0	554,0 ± 61,9
NM42	2,70 ± 0,46	1,59 ± 0,40	616,7 ± 106,6	381,7 ± 81,6
DM42	2,86 ± 0,61	1,75 ± 0,57	569,2 ± 180,1 ^b	317,4 ± 56,6 ^b
RM42	2,61 ± 0,60	1,92 ± 0,24	567,8 ± 59,4	425,6 ± 102,4

Dados expressos em Média ± desvio padrão; Os animais de 21 dias diferem de 42 dias ($p < 0,05$); os segmentos oral e aboral diferem ($p < 0,001$); os segmentos ^a $p < 0,05$ comparado ao NM21; ^b $p < 0,05$ comparado ao N.

O intestino é único entre os órgãos, que pode renovar sua estrutura celular (os enterócitos) entre 48 a 72 horas (MILLER et al., 1977). No entanto, alteração no estado nutricional pode alterar essa taxa de renovação e afetar a mucosa intestinal (WINESETT et al., 1995). A diminuição da área



da mucosa verificada nos animais do grupo DM de 21 dias corrobora essa afirmação, e ainda com aquela encontrada em animais também de 21 dias com restrição proteica de 8% de caseína, que apresentaram uma diminuição de até 28% no peso da mucosa (WEAVER et al., 1998). Segundo esse autor, aos 42 dias essas diferenças foram menos acentuadas, e já não existiam mais nos animais com 1 ano de idade, o que pode ser confirmado no grupo DM de 42 dias, onde não se detectou alteração significativa relativa à área intestinal.

Com relação à altura das vilosidades, nos dois períodos avaliados (21 e 42 dias) quando analisadas as regiões oral e aboral, foi observado que as vilosidades da região oral foram maiores do que as da região aboral (Tabela 2). No geral, os animais de 42 dias também apresentaram maiores valores para esse parâmetro do que os ratos de 21 dias. Com relação ao tratamento, quando comparados com os respectivos grupos controle (N21 e N42) os animais dos grupos DM21 e DM42 foram os que apresentaram os menores tamanhos de vilosidades.

Considerando-se que o estado nutricional pode induzir a alterações na mucosa; que o trato gastrointestinal exibe uma grande capacidade de adaptação (KLEIN; MCKENZIE, 1993), provavelmente o aumento na espessura das vilosidades evidente nesse grupo tenha atuado como um fator capaz de compensar a menor altura dessas estruturas.

4 CONCLUSÃO

Dessa forma, apesar da área da mucosa ter diminuído nos animais DM21, com uma recuperação aos 42 dias, a altura das vilosidades foi menor nos dois grupos, talvez devido à adaptação dessas estruturas frente ao tipo de dieta. Assim, pode-se inferir que a dieta de Moçambique, baseada em proteína vegetal, determinam adaptações na morfologia da parede intestinal, frente as necessidades proteicas.

REFERÊNCIAS

BLACK RE, ALLEN LH, BHUTTA ZA, CAULFIELD LE, DE ONIS M, EZZATI M. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. **Lancet** 2008; 371:243–260.

HOFFMAN JR, FALVO MJ. Protein – Which is Best? **J Sports Sci Med**. 2004; 3(3):118-130.

KLEIN RM, MCKENZIE JC. The role of cell renewal in the ontogeny of the intestine: 1. Cell proliferation patterns in adult, fetal, and neonatal intestine. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 1993; 2:10-43.

KONDRUP J, ALLISON SP, ELIA M, VELLAS B, PLAUTH, M. Espen guidelines for nutrition screening 2002. **Clin Nutr**. 2003; 22(4): 415–421.

MILLER DL, HANSON W, SCHEDL HP, OSBORNE JW. Proliferation rate and transit time of mucosal cells in small intestine of the diabetic rat. **Gastroenterol**. 1977; 73:1326 –32.

ORLANDO UAD, DE OLIVEIRA RFM, DONZELE JL, SILVA FCD, GENEROSO RAR, DE SIQUEIRA JC. Dietary crude protein levels and amino acid supplementation for gilts from 30 to 60 kg maintained in a high environmental temperature. **Rev Bras Zootecn**. 2007; 36:1573–1578.



X
EPCC

Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

ISBN 978-85-459-0773-2

PORTEJOIE S, DOURMAD JY, MARTINEZ J, LEBRETON Y Effect of lowering dietary crude protein on nitrogen excretion, manure composition and ammonia emission from fattening pigs. **Livest Prod Sci.** 2004; 91:45–55.

STRATTON RJ. “Elucidating effective ways to identify and treat malnutrition”. **Proc Nutr Soc** 2005; 64 (3): 305–311.

WANG YF, ZHANG YZ, FENG ZM, ZHANG YG, LI TJ, HUANG RL Measurement of protein and amino acid digestibility for swine diet formulation. **J Food Agric Environ.** 2012; 10:650–654.

WEAVER LT, DESAI M, AUSTIN S, ARTHUR H M, LUCAS A, HALES CN. Effects of protein restriction in early life on growth and function of the gastrointestinal tract of the rat. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.** 1998; 27(5): 553-559.

WINESETT DE, ULSHEN MH, HOYT EC, MOHAPATRA NK, FULLER CR, LUND PK. Regulation and localization of the insulin-like growth factor system in small bowel during altered nutrient status. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** 1995; 268: 631– 40.

WU G, BAZER FW, DAI ZL, LI DF, WANG JJ, WU ZL. Amino acid nutrition in animals: Protein synthesis and beyond. **Annu Rev Anim Biosci .** 2014; 2:387–417.

WU G. *Amino Acids: Biochemistry and Nutrition*. CRC Press, Boca Raton: Florida. 2013.

ZOLLITSCHSTELZL J. Effects of reduced protein-content on performance and N-excretion in pig fattening. **Bodenkultur.** 1992; 43:353–362.