

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 25/02/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
Instituto de Biociências de Botucatu  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA E  
BIOTECNOLOGIA (PPG-FARMATEC)

---

**Título: Distúrbios na motilidade gastrointestinal  
associados a alterações morfológicas de neurônios  
entéricos em modelos experimentais de *Diabetes  
mellitus***

**Juliana Fernandes de Matos**

Orientador: **Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda**

Coorientadora: **Prof. Dra. Madileine Francely Américo**

Tese apresentada ao Instituto de  
Biociências, Universidade Estadual  
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,  
Campus de Botucatu para obtenção  
do título de Doutora no Programa de  
Pós-Graduação em Farmacologia e  
Biotecnologia, Área de  
concentração *Biologia Celular  
Estrutural e Funcional*.

**Botucatu  
2019**

**Juliana Fernandes de Matos**

**Distúrbios na motilidade gastrointestinal associados a alterações morfométricas de neurônios entéricos em modelos experimentais de *Diabetes mellitus***

Orientador: **Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda**

Coorientadora: **Prof. Dra. Madileine Francely Américo**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia, Área de concentração *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Matos, Juliana Fernandes de.

Distúrbios na motilidade gastrintestinal associados a alterações morfológicas de neurônios entéricos em modelos experimentais de *Diabetes mellitus* / Juliana Fernandes de Matos. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Coorientador: Madileine Francely Américo

Capes: 21000000

1. Biosusceptometria de Corrente Alternada. 2. Estômago. 3. Sistema gastrointestinal - Motilidade. 4. Neurônios. 5. Ratos.

Palavras-chave: Biosusceptometria AC; Estômago; Motilidade; Neurônios; Ratos.

*Dedicatória*

---

Ao Professor Doutor José Ricardo de Arruda Miranda, por me orientar e compartilhar os seus conhecimentos científicos;

À Professora Doutora Madileine francely Americo, por me auxiliar e me ensinar a fazer pesquisa e desenvolver experimentos;

À Professora Doutora Patrícia Castelucci, por colaborações essenciais para o desenvolvimento do trabalho;

À Professora Doutora Maeli Dal Pai, pelo apoio e colaboração essencial em diversas partes do trabalho;

Aos amigos do laboratório de Biomagnetismo, pelo suporte e companheirismo em todos esses anos;

Minha profunda gratidão a todos que, direta ou indiretamente, ajudaram na elaboração deste trabalho.

*"A tarefa essencial do professor é despertar a alegria de trabalhar e de conhecer."*

*(Albert Einstein)*

# *Agradecimientos*

---

Agradeço a Deus por me conceder muita fé e perseverança para continuar lutando, vencendo todos os obstáculos e ter chegado até onde cheguei.

Agradeço ao apoio da minha família, sem essa base eu não seria a pessoa que sou hoje. Ao meu Pai, que sempre acreditou em mim, me apoiando e investindo na minha formação. A minha Mãe, que não está mais presente em minha vida, mas deve estar feliz por eu ter realizado um sonho. As minhas irmãs, que sempre me aconselharam e me guiaram para eu alcançar meus almejos. Ao meu companheiro Willians, que com muita paciência e carinho sempre esteve ao meu lado.

Agradeço a todos meus amigos que me acompanharam todos esses anos, me apoiando e dando todo o suporte que eu necessitava. Obrigada por todas as conversas, conselhos e companheirismo, a amizade de todos me fez crescer muito como pessoa.

Agradeço ao meu Professor, Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda, e aos meus colegas de laboratório, que me acolheram com muito carinho e que me passaram muito conhecimento.

Agradeço às agências de fomento CAPES e Fundação de Amparo à pesquisa (FAPESP processo nº 2015/05045-8), com o apoio financeiro concedido foi possível realizar o projeto proposto.

Obrigado a todas as pessoas que contribuíram para meu sucesso e para meu crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.



*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de  
água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”  
(Madre Teresa de Calcutá)*

## **Financiamento**

### **Bolsa CAPES de doutorado**

Vigência da bolsa: 01/03/2015 à 01/10/2015.



## **Bolsa FAPESP de doutorado**

**Agradecimento à agência de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), nº do processo 2015/05045-8**

Vigência da bolsa: 01/11/2015 à 01/03/2019 (36 meses regular + 4 meses de renovação).



## **Resumo**

O estado hiperglicêmico está relacionado com alterações fisiológicas em todo o organismo no diabetes. É conhecido a recorrência de distúrbios gastrintestinais em indivíduos diabéticos. Estudos sobre alterações da motilidade gastrintestinal em diabéticos mostram danos em neurônios entéricos e na parede gástrica. Há uma lacuna no conhecimento sobre a relação entre níveis glicêmicos, motilidade gastrintestinal e neurônios entéricos. Portanto o objetivo foi analisar a atividade de contração, esvaziamento gástrico e trânsito oro-cecal em ratos com modelos de diabetes grave e moderado e avaliar a integridade da parede gástrica e dos neurônios entéricos. Os animais foram induzidos ao diabetes com Streptozotocin (STZ) (diabetes moderado: 100mg/kg; glicemia de jejum 6,6-16,5 mmol/L) e (diabetes grave: 50mg/kg glicemia de jejum > 16,5mmol/L). A Biosusceptometria AC (BAC) aferiu a contratilidade gástrica, quantificados por frequência e meia-largura da banda em ciclos por minuto. Assim como o esvaziamento gástrico (EG) e o trânsito oro-cecal (TOC), analisados por tempo médio de EG e tempo médio de chegada ao ceco, respectivamente. A atividade elétrica gástrica foi aferida por eletrogastrograma (EGG). A histologia da parede gástrica foi realizada por hematoxilina-eosina e mensurada a espessura da mucosa e das musculares longitudinal e circular, do corpo do estômago. Os neurônios colinérgicos (ChAT) e nitrérgicos (nNOS) do plexo mioentérico do corpo do estômago foram marcados por imuno-histoquímica, analisadas a densidade de neurônios por gânglio e perfil da área neural. Animais induzidos por STZ apresentaram glicemia de jejum elevada e perda de peso corporal. Ocorreu uma diminuição da frequência de contração e aumento da meia-largura da banda, para BAC e EGG, nos modelos de diabetes comparados ao controle. O esvaziamento gástrico e o trânsito oro-cecal se tornaram lentificados em relação ao controle. A camada muscular circular e mucosa apresentaram espessamento nos grupos diabéticos. Os neurônios ChAT e nNOS não apresentaram diferença na densidade de neurônios, mas a área neuronal diminuiu nos diabéticos. Em conclusão, alterações na motilidade parecem estar associadas a mudanças na parede gástrica e à diminuição da área neuronal de neurônios nitrérgicos e colinérgicos, que foram intensificados pela exposição prolongada a condições hiperglicêmicas, mesmo que moderadas no diabetes.

**Palavras-chave:** Biosusceptometria AC, Estômago, Motilidade, Neurônios entéricos, Ratos.

## **Abstract**

The hyperglycemic state is related to physiological changes throughout the body in diabetes. Recurrence of gastrointestinal disorders in diabetic individuals is known. Studies on changes in gastrointestinal motility in diabetics show damage to enteric neurons and the gastric wall. Few are the knowledge about the relationship among glycemic levels, gastrointestinal motility and enteric neurons. Therefore, the aim was to analyze the activity of contraction, gastric emptying and oro-cecal transit in rats with mild and severe diabetes models and to evaluate the integrity of the gastric wall and the enteric neurons. The animals were diabetic with Streptozotocin (STZ) (moderate diabetes: 100mg/kg; fasting blood glucose 6.6-16.5 mmol/L) and (severe diabetes: 50mg/kg fasting blood glucose >16.5mmol/L). AC biosusceptometry (ACB) measured gastric contractility, quantified per frequency and half-band width in cycles per minute. As well as gastric emptying (EG) and oro-cecal transit, analyzed by mean time of EG and mean time of arrival to the cecum, respectively. Gastric electrical activity was measured by electrogastrogram (EGG). The histology of the gastric wall was performed by hematoxylin-eosin and measured the thickness of the mucosa and the longitudinal and circular muscles of the stomach body. The cholinergic (ChAT) and nitrenergic (nNOS) neurons of the myenteric plexus of the stomach body were marked by immunohistochemistry, the density of neurons per ganglion and neural area profile were analyzed. STZ-induced animals had elevated fasting blood glucose and loss of body weight. There was a decrease in the contraction frequency and increase of the band half-width, for BAC and EGG, in the diabetes models compared to control. Gastric emptying and oro-cecal transit became slowed in relation to control. The circular muscular layer and mucosa presented thickening in the diabetic groups. ChAT and nNOS neurons showed no difference in neuron density, but neuronal area decreased in diabetics. In conclusion, alterations in motility seems to be associated with changes in the gastric wall and the decrease in the neuronal area of nitrenergic and cholinergic neurons that were intensified by long term exposure to hyperglycemic conditions, even that moderate in the diabetes.

**Keywords:** Biosusceptometry AC, Stomach, Motility, Enteric neurons, Rats.

# Lista de Abreviaturas

**DM** - *Diabetes mellitus*

**DM1** - *Diabetes mellitus* tipo 1

**DM2** - *Diabetes mellitus* tipo 2

**DM1W** - *Diabetes mellitus* 1 semana

**DM1M** - *Diabetes mellitus* 1 Mês

**DM mild** - *Diabetes mellitus* moderado/mild

**CT** - Controle

**BAC/ACB** - Biousceptometria de Corrente Alternada

**EGG** - Eletrogastrograma

**STZ** - Streptozotocin

**ChAT** – Neurotransmissor Acetiltransferase colina

**NOS** – Enzima óxido nítrico sintetase

**nNOS** – Neurônio óxido nítrico sintetase

**NO** - Óxido nítrico

**HuC/D** - Anticorpo pan-neuronal

**DAPI** - 4,6 diamino 2-phenylindole dihydrochride

**TRIS**- hidroximetil aminometano

**EDTA** - ácido etilenodiaminotetracético

**PBS** - Tampão fosfato salino

**TGI/GIT** - Trato gastrintestinal

**CPM** - Ciclos por minuto

**AG/GA** - Atividade gástrica

**MGET** - Tempo médio de esvaziamento gástrico

**EG/GE** - Esvaziamento gástrico

**OCT** - Trânsito oro-cecal

**MCAT** - Tempo médio de chegada ao ceco

**HE** - Hematoxilina e Eosina

**SNE/ENS** - Sistema nervoso entérico

**SNC/CNS** - Sistema nervoso central

**FFT** - Transformada rápida de Fourier

**AUC** - Área sob a curva

**AGEs** - Prdutos finais da glicação avançada

**ROS/EROs** - Espécies reativas do oxigênio

# Sumário

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introdução .....                                                           | 1  |
| 2. Capítulo 1 .....                                                           | 8  |
| INTRODUCTION .....                                                            | 12 |
| MATERIALS AND METHODS.....                                                    | 14 |
| Animal models .....                                                           | 14 |
| Induction of Diabetes mellitus models.....                                    | 14 |
| Gastric activity (GA).....                                                    | 15 |
| Mean Gastric Emptying Time (MGET) and Mean Cecum Arrival Time (MCAT)<br>..... | 15 |
| Histological analysis .....                                                   | 16 |
| Immunohistochemistry .....                                                    | 16 |
| Data analysis .....                                                           | 17 |
| Statistical analysis .....                                                    | 18 |
| RESULTS.....                                                                  | 18 |
| Fasting blood glucose determination and body weight measurement .....         | 18 |
| Gastric activity (GA).....                                                    | 18 |
| Mean Gastric Emptying Time (MGET) and Mean Cecum Arrival Time (MCAT)<br>..... | 19 |
| Histological analysis .....                                                   | 19 |
| Immunohistochemistry .....                                                    | 20 |
| DISCUSSION .....                                                              | 20 |
| REFERENCES.....                                                               | 25 |
| 3. Conclusões.....                                                            | 38 |
| 4. Referências .....                                                          | 40 |
| 5. Apêndice A .....                                                           | 46 |
| 6. Apêndice B .....                                                           | 48 |



# Lista de Ilustrações

|                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 1</b> ANALYSIS OF GASTROINTESTINAL MOTILITY AND MORPHOMETRY OF THE STOMACH AND ENTERIC NEURONS OF DIABETIC AND CONTROL RATS .....                              | 32 |
| <b>FIGURA 2</b> PROFILE OF GASTRIC MOTILITY SIGNALS MEASURED BY BAC AND ANALYZED BY MATLAB.....                                                                          | 33 |
| <b>FIGURA 3</b> ANALYSIS OF THE MUSCULAR LAYERS OF THE STOMACH OF GROUPS USING HE STAINING .....                                                                         | 34 |
| <b>FIGURA 4</b> COLOCALIZATION OF HUC/D IMMUNOREACTIVITY WITH CHAT IMMUNOREACTIVITY IN NEURONS OF THE STOMACH MYENTERIC PLEXUS IN THE DIABETIC AND CONTROL ANIMALS ..... | 35 |
| <b>FIGURA 5</b> COLOCALIZATION OF HUC/D IMMUNOREACTIVITY WITH NOS IMMUNOREACTIVITY IN NEURONS OF THE STOMACH MYENTERIC PLEXUS IN THE DIABETIC AND CONTROL ANIMALS .....  | 36 |

# *Introdução*

---

## 1. Introdução

A epidemia global de diabetes afeta atualmente mais de 440 milhões de pessoas no mundo (CHAN, 2014; MA, 2018). O *Diabetes mellitus* (DM) compreende um grupo de distúrbios metabólicos caracterizados por hiperglicemia crônica resultante de defeitos na ação da insulina e/ou na sua secreção (DORSEY; BECKER; AL., 2018; RIDDLE et al., 2018). Existem principalmente 2 tipos de DM: tipo 1 e o 2. O DM1 está relacionado à destruição de células beta pancreáticas, usualmente levando a uma dependência absoluta de insulina. Enquanto o DM2 decorre de um defeito progressivo da secreção de insulina levando a uma resistência insulínica (RIDDLE et al., 2018). Algumas formas de DM1 não têm etiologias conhecidas, mas é definido que há pelo menos um marcador celular autoimune indicando a destruição de células beta pancreáticas. Os pacientes apresentam insulinopenia permanente e são propensos a cetoacidose (RIDDLE et al., 2018). Indivíduos com DM2 tem resistência à insulina e normalmente uma relativa deficiência desse hormônio, porém a maioria dos pacientes não necessita de tratamento com insulina para sobreviver. A etiologia do DM2 é desconhecida, mas sabe-se que o risco de a desenvolver aumenta com a obesidade, avanço da idade e a falta de atividade física (RIDDLE et al., 2018).

Em indivíduos saudáveis, a concentração de glicose plasmática é fortemente regulada e mantida dentro de uma faixa estreita (KELLEY et al., 1988). Em contrapartida, pacientes diabéticos são expostos a longos períodos de hiperglicemia e apresentam disfunções em todo o organismo (DORSEY; BECKER; AL., 2018).

Anormalidades na motilidade gástrica ocorrem em 30-50 % dos pacientes com longo histórico de diabetes (DE BLOCK et al., 2006; NILSSON, 1996). Estudos de frequência de sintomas gastrintestinais em pacientes com DM1 e DM2 mostraram que 68% apresentam pelo menos um sintoma (JEBBINK et al., 1994; SPÅNGÉUS et al., 1999). O DM1 afeta todo o trato gastrintestinal (TGI) e isso acarreta uma maior preocupação na investigação dessas alterações e na busca de uma melhora na qualidade de vida dos pacientes, visando reduzir a morbidade causada pelo diabetes. As alterações mais comuns encontradas no diabetes são no esvaziamento gástrico, como lentificação (MARD et al., 2016; SAMSOM et al., 1997; WOERLE et al., 2008) ou esvaziamento acelerado (BHARUCHA et al., 2015; CHOI et al., 2007; HAUSCHILDT et al., 2018). Presença de arritmias gástricas e anormalidade nas atividades motora e elétrica gástrica são reportadas em modelos experimentais de diabetes a longo termo (HAUSCHILDT et al., 2018; MARQUES et al., 2014).

Indivíduos com DM1 apresentam uma retenção gástrica significativa dos conteúdos ingeridos em resposta à hiperglicemia quando comparados a indivíduos saudáveis, sugerindo uma adaptação inadequada ao aumento da glicemia (MARATHE et al., 2013). Consequentemente, com o esvaziamento gástrico atrasado há uma dificuldade em manter o controle glicêmico, sendo esse um mecanismo de retroalimentação (WOERLE et al., 2008). O retardo no esvaziamento gástrico em momentos de hiperglicemia é uma resposta fisiológica pós-prandial, mecanismo este que auxilia na absorção dos nutrientes ingeridos. Porém em pacientes com DM1, esse mecanismo favorece a manutenção de altos índices glicêmicos e distúrbios na motilidade gastrointestinal (WOERLE et al., 2008).

Há trabalhos que enfatizam a importância do controle glicêmico no diabetes, e enfatiza as alterações provocadas pela glicemia na motilidade gastrointestinal (MARATHE et al., 2013; SOGABE et al., 2005). Um estudo ressalta que a hiperglicemia induz um relaxamento na região fúndica do estômago causando um fluxo pilórico retrógrado, que por sua vez, pode levar a uma retenção do bolo alimentar (EBERT, 2005).

Com relação aos indivíduos com DM2 os estudos são inconclusivos, em razão de diferenças nas metodologias adotadas e pouco controle das variáveis ambientais sobre o esvaziamento gástrico. Foi demonstrado que indivíduos com DM2 sem controle glicêmico quando tratados com insulina, não apresentaram diferença no esvaziamento gástrico, e que há pacientes com DM2 que tem esvaziamento gástrico acelerado e outros retardado (BHARUCHA et al., 2015).

A motilidade gastrintestinal é a contração e relaxamento do músculo liso necessário para transportar e processar os alimentos, sob estrito controle (CUMMINGS; OVERDUIN, 2007; JOHNSON, 2014). A contração do estômago é necessária para triturar o alimento, misturar com o suco gástrico e propelir em direção ao piloro. O controle da frequência e amplitude dessas contrações são essenciais para absorção dos nutrientes (JANSSEN et al., 2011). Assim como o esvaziamento gástrico é controlado por peptídeos gastrintestinais (GLP-1, GIP, VIP), pela taxa glicêmica, insulina, composição do bolo alimentar e controle neural. Todos esses controles são necessário para regular a taxa de esvaziamento e promover a absorção correta pelo intestino. Alterações em qualquer uma dessas vias desencadeia diversos distúrbios gastrintestinais, como dores e desconfortos abdominais (BOECKXSTAENS et al., 2016; CAMILLERI; BROWN; MALAGELADA, 1986; CUMMINGS; OVERDUIN, 2007;

MARATHE et al., 2013; WU et al., 2013).

O diabetes afeta o TGI comprometendo a motilidade, além de possivelmente alterar a parede gastrintestinal, assim como os neurônios entéricos responsáveis pelo controle das funções do TGI. A inter-relação entre biomecânica gastrintestinal e neurônios entéricos é relevante e deve ser melhor esclarecida. Essas alterações morfofuncionais são fatores que podem contribuir com a dor abdominal, saciedade precoce, náuseas, vômitos, e constipação em pacientes com DM (EBERT, 2005; FURNESS, 2012; MARATHE et al., 2013; ZHAO; NAKAGUCHI; GREGERSEN, 2009).

O sistema nervoso entérico (SNE) está presente em todo o TGI e é responsável por regular funções motoras, sensoriais e secretoras, além de integrar e ser modulado pela sinalização do sistema nervoso central (SNC) e periférico (FURNESS, 2000). É dividido em plexo submucoso que está presente na camada submucosa e apresenta funções secretoras. O plexo mioentérico está presente entre as camadas musculares circular e longitudinal, e tem funções sobre a motilidade do TGI. Os principais neurônios envolvidos no controle da motilidade são os excitatórios colina acetiltransferase (ChAT) e os inibitórios óxido nítrico sintetase (nNOS) (FURNESS, 2012).

A neuropatia diabética é um evento presente em pacientes com longo histórico de diabetes e pode estar correlacionada com gastroparesia e distúrbios gastrintestinais (CAMILLERI, 2007; CAMILLERI; BHARUCHA; FARRUGIA, 2011; CHANDRASEKHARAN; SRINIVASAN, 2007; NESHATIAN; GIBBONS; FARRUGIA, 2015). A perda de células de Cajal e diminuição do neurotransmissor óxido nítrico (NO) podem estar diretamente relacionados com disfunções na motilidade gástrica nesse tipo de pacientes diabéticos (CELLEK et

al., 2004; DU et al., 2009; WANG et al., 2009; WATKINS et al., 2000; WOOD, 2016). Trabalhos evidenciam fases da degeneração neuronal em indivíduos diabéticos, apresentando eventos reversíveis com o controle glicêmico, em momentos precoces da doença (CELLEK et al., 2004; CELLEK; FOXWELL; MONCADA, 2003). Isso evidencia a necessidade de um diagnóstico preciso e precoce para se evitar danos irreversíveis aos indivíduos com DM.

Além disso, indivíduos com DM1 são mais susceptíveis a lesões gástricas malignas, primárias de gastrite autoimune, presente em 15-20% desses pacientes (DE BLOCK et al., 2003). Ou seja, quanto mais conhecimento sobre os mecanismos desses distúrbios gastrintestinais mais rápido seria o diagnóstico, aperfeiçoando os esquemas terapêuticos e a qualidade de vida de indivíduos diabéticos.

Como ferramenta experimental, utilizam-se modelos animais portadores de diabetes para um melhor entendimento da fisiopatologia dessa síndrome. Mimetizando a hiperglicemia do DM1, há o modelo experimental de diabetes grave (glicemia > 300mg/dL), induzida por uma dose de Streptozotocin-STZ (droga com efeito citotóxico sobre as células beta pancreáticas) intraperitoneal na vida adulta (FREGONESI et al., 2001). Para mimetizar a glicemia do DM2, utiliza-se o modelo experimental de diabetes moderado (glicemia entre 120 e 300mg/dL), induzida por administração subcutânea de STZ no período neonatal (DAMASCENO et al., 2013, 2014; I.L. et al., 2010).

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica simples, barata e sensível, reproduzível em diversas áreas da pesquisa. Com a utilização dessa técnica é possível registrar a atividade mecânica e funcional de órgãos contráteis. Essa técnica já foi validada para várias áreas, como para avaliação

do esvaziamento gástrico e trânsito oro-cecal em ratos(QUINI et al., 2012). Estudos *in vivo* e *in vitro* validaram a BAC como uma técnica biomagnética capaz de aferir atividade de contração gástrica (AMÉRICO et al., 2010). Em modelo de diabetes a longo tempo induzido por Aloxana, os sinais de contratilidade e esvaziamento gastrintestinal, aferidos por BAC, estavam comprometidos (MARQUES et al., 2014). Estudos recentes com a BAC, em modelos de hiperglicemia moderada a longo tempo, revelam distúrbios gástricos como esvaziamento acelerado e amplitudes da contração gástrica mais vigorosas (HAUSCHILDT et al., 2018).

Em estudos que analisam características motoras do TGI, a aquisição da atividade elétrica é fundamental para o entendimento da eletrofisiologia do tecido estudado. O eletrogastrograma (EGG) é uma técnica bastante simples, minimamente invasiva e utilizada principalmente em pesquisas da atividade elétrica gástrica. O entendimento das funções motoras e elétricas do TGI são essenciais nas pesquisas sobre comorbidades relacionadas aos distúrbios gastrintestinais (CHEN et al., 1996).

A relação entre distúrbios gastrintestinais no diabetes e o tempo de instalação das condições hiperglicêmicas ainda é pouco compreendido. Além disto, uma avaliação das atividades elétricas, mecânicas e funcionais do TGI contribuirão fortemente para um melhor entendimento de mecanismos deletérios da instalação de doenças metabólicas. Portanto o objetivo foi analisar a atividade de contração, esvaziamento gástrico e trânsito oro-cecal em ratos com modelos de diabetes grave e moderado e avaliar a integridade da parede gástrica e dos neurônios entéricos.



## *Conclusões*

---

### **3. Conclusões**

Nossos resultados apresentaram diminuição da contratilidade gástrica, aumento do índice de arritmias, lentificação do esvaziamento e trânsito oro-cecal. Assim como foi encontrado espessamento das camadas da parede gástrica, diminuição da área ( $\mu\text{m}^2$ ) do corpo celular de neurônios nitrérgicos e colinérgicos. Sugerindo que em modelos de diabetes grave e moderado ocorrem mudanças morfométricas relacionadas ao tempo de exposição a condições hiperglicêmicas. Essas mudanças neuronais e histológicas podem indicar uma futura degeneração, morte celular e perda de função do tecido innervado, porém já foi possível diagnosticar distúrbios da motilidade gastrointestinal. Em conclusão, alterações na motilidade parecem estar associadas a mudanças na parede gástrica e à diminuição da área neuronal de neurônios nitrérgicos e colinérgicos, que foram intensificados pela exposição prolongada a condições hiperglicêmicas, mesmo que moderadas no diabetes.

# *Referências*

#### 4. Referências

- AMÉRICO, M. F.; OLIVEIRA, R. B.; CORÁ, L. a; MARQUES, R. G.; ROMEIRO, F. G.; ANDREIS, U.; MIRANDA, J. R. a. The ACB technique: a biomagnetic tool for monitoring gastrointestinal contraction directly from smooth muscle in dogs. **Physiological measurement**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 159–69, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20009185>>
- BHARUCHA, A. E.; KUDVA, Y.; BASU, A.; CAMILLERI, M.; LOW, P. A.; VELLA, A.; ZINSMEISTER, A. R. Relationship between glycemic control and gastric emptying in poorly controlled type 2 diabetes. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 466–476, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2014.06.034>>
- BOECKXSTAENS, G.; CAMILLERI, M.; SIFRIM, D.; HOUGHTON, L. A.; ELSENBURCH, S.; LINDBERG, G.; AZPIROZ, F.; PARKMAN, H. P. Fundamentals of neurogastroenterology: Physiology/motility - Sensation. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 150, n. 6, p. 1292–1304e2, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.030>>
- CAMILLERI, M. Diabetic Gastroparesis. [s. l.], v. 8, 2007.
- CAMILLERI, M.; BHARUCHA, A. E.; FARRUGIA, G. Epidemiology, Mechanisms, and Management of Diabetic Gastroparesis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 5–12, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2010.09.022>>
- CAMILLERI, M.; BROWN, M. L.; MALAGELADA, J. R. Relationship between impaired gastric emptying and abnormal gastrointestinal motility. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 91, n. 1, p. 94–99, 1986.
- CELLEK, S.; FOXWELL, N. A.; MONCADA, S. Two phases of nitroergic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes**, [s. l.], v. 52, n. 9, p. 2353–2362, 2003.
- CELLEK, S.; QU, W.; SCHMIDT, A. M.; MONCADA, S. Synergistic action of advanced glycation and products and endogenous nitric oxide leads to neuronal apoptosis in vitro: A new insight into selective nitroergic neuropathy in diabetes. **Diabetologia**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 331–339, 2004.
- CHAN, M. Global report on diabetes. **World Health Organization**, [s. l.], v. 58, n. 12, p. 1–88, 2014. Disponível em: <[http://www.who.int/about/licensing/copyright\\_form/index.html](http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/index.html)>.%0AThe>
- CHANDRASEKHARAN, B.; SRINIVASAN, S. Diabetes and the enteric nervous system. **Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society**, [s. l.], v. 19, n. 12, p. 951–60, 2007. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3711013&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>

CHEN, J. D.; LIN, Z.; PAN, J.; MCCALLUM, R. W. Abnormal gastric myoelectrical activity and delayed gastric emptying in patients with symptoms suggestive of gastroparesis. **Digestive diseases and sciences**, [s. l.], v. 41, n. 8, p. 1538–1545, 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8769276>>

CHOI, K. M.; ZHU, J.; STOLTZ, G. J.; VERNINO, S.; CAMILLERI, M.; SZURSZEWSKI, J. H.; GIBBONS, S. J.; FARRUGIA, G. Determination of gastric emptying in nonobese diabetic mice. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, [s. l.], v. 293, n. 5, p. G1039-45, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17884976>>

CUMMINGS, D. E.; OVERDUIN, J. Review series Gastrointestinal regulation of food intake. **The Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 117, n. 1, p. 13–23, 2007. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1716217&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>

DAMASCENO, D. C.; NETTO, A. O.; IESSI, I. L.; GALLEGGO, F. Q.; CORVINO, S. B.; DALLAQUA, B.; SINZATO, Y. K.; BUENO, A.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Streptozotocin-induced diabetes models: Pathophysiological mechanisms and fetal outcomes. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2014, 2014.

DAMASCENO, D. C.; SINZATO, Y. K.; BUENO, A.; NETTO, A. O.; DALLAQUA, B.; GALLEGGO, F. Q.; IESSI, I. L.; CORVINO, S. B.; SERRANO, R. G.; MARINI, G.; PICULO, F.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Mild diabetes models and their maternal-fetal repercussions. **Journal of Diabetes Research**, [s. l.], v. 2013, 2013.

DE BLOCK, C. E. M.; DE LEEUW, I. H.; BOGERS, J. J. P. M.; PELCKMANS, P. a.; IEVEN, M. M.; VAN MARCK, E. a. E.; VAN ACKER, K. L.; VAN GAAL, L. F. Autoimmune Gastropathy in Type 1 Diabetic Patients With Parietal Cell Antibodies. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 82–88, 2003. Disponível em: <<http://care.diabetesjournals.org/content/26/1/82.abstract%5Cnhttp://care.diabetesjournals.org/content/26/1/82.full.pdf>>

DE BLOCK, C. E. M.; DE LEEUW, I. H.; PELCKMANS, P. A.; VAN GAAL, L. F. Current concepts in gastric motility in diabetes mellitus. **Current Diabetes Reviews**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 113–130, 2006.

DORSEY, J. L.; BECKER, M. H.; AL., E. Standards of Medical Care in Diabetes—2018. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 41, n. Supplement 1, p. S55–S64, 2018. Disponível em: <<http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dc18-S006>>

DU, F.; WANG, L.; QIAN, W.; LIU, S. Loss of enteric neurons accompanied by decreased expression of GDNF and PI3K/Akt pathway in diabetic rats. **Neurogastroenterology and Motility**, [s. l.], v. 21, n. 11, p. 1229–1235, 2009.

EBERT, E. C. Gastrointestinal complications of diabetes mellitus. **Disease-a-Month**, [s. l.], v. 51, n. 12, p. 620–663, 2005.

FREGONESI, C. E. P. T.; DE MIRANDA-NETO, M. H.; MOLINARI, S. L.; ZANONI, J. N. Quantitative study of the myenteric plexus of the stomach of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 50–53, 2001.

FURNESS, J. B. Types of neurons in the enteric nervous system. **Journal of the Autonomic Nervous System**, [s. l.], v. 81, n. 1–3, p. 87–96, 2000.

FURNESS, J. B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 286–294, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2012.32>>

HAUSCHILDT, A. T.; CORÁ, L. A.; VOLPATO, G. T.; SINZATO, Y. K.; DAMASCENO, D. C.; AMÉRICO, M. F. Mild diabetes: Long-term effects on gastric motility evaluated in rats. **International Journal of Experimental Pathology**, [s. l.], 2018.

I.L., I.; A., B.; Y.K., S.; K.N., T.; M.V., R.; D.C., D. Evaluation of neonatally-induced mild diabetes in rats: Maternal and fetal repercussions.

**Diabetology and Metabolic Syndrome**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 1–8, 2010.

Disponível em:

<<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L359207542%0Ahttp://dx.doi.org/10.1186/1758-5996-2-37>>

JANSSEN, P.; VANDEN BERGHE, P.; VERSCHUEREN, S.; LEHMANN, A.; DEPOORTERE, I.; TACK, J. Review article: The role of gastric motility in the control of food intake. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, [s. l.], v. 33, n. 8, p. 880–894, 2011.

JEBBINK, H. J.; BRUIJS, P. P.; BRAVENBOER, B.; AKKERMANS, L. M.; VANBERGE-HENEGOUWEN, G. P.; SMOUT, A. J. Gastric myoelectrical activity in patients with type I diabetes mellitus and autonomic neuropathy. **Digestive diseases and sciences**, [s. l.], v. 39, n. 11, p. 2376–2383, 1994.

JOHNSON, L. **Gastrointestinal Physiology**. 8th. ed. [s.l: s.n.].

KELLEY, D.; MITRAKOU, A.; MARSH, H.; SCHWENK, F.; BENN, J.; SONNENBERG, G.; ARCANGELI, M.; AOKI, T.; SORENSEN, J.; BERGER, M.; SONKSEN, P.; GERICH, J. Skeletal muscle glycolysis, oxidation, and storage of an oral glucose load. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 81, n. 5, p. 1563–1571, 1988.

MA, R. C. W. Epidemiology of diabetes and diabetic complications in China. **Diabetologia**, [s. l.], v. 61, n. 6, p. 1249–1260, 2018.

MARATHE, C. S.; RAYNER, C. K.; JONES, K. L.; HOROWITZ, M. Relationships between gastric emptying, postprandial glycemia, and incretin hormones. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 36, n. 5, p. 1396–1405, 2013.

MARD, S. A.; AHMADI, I.; AHANGARPOUR, A.; GHARIB-NASERI, M. K.;

BADAVI, M. Delayed gastric emptying in diabetic rats caused by decreased expression of cystathionine gamma lyase and H<sub>2</sub>S synthesis: in vitro and in vivo studies. **Neurogastroenterology and Motility**, [s. l.], v. 28, n. 11, p. 1677–1689, 2016.

MARQUES, R. G.; AMERICO, M. F.; SPADELLA, C. T.; CORÁ, L. a; OLIVEIRA, R. B.; MIRANDA, J. R. a. Different patterns between mechanical and electrical activities: an approach to investigate gastric motility in a model of long-term diabetic rats. **Physiological measurement**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 69–81, 2014. Disponível em: <[http://iopscience.iop.org/0967-3334/35/1/69/pdf/0967-3334\\_35\\_1\\_69.pdf](http://iopscience.iop.org/0967-3334/35/1/69/pdf/0967-3334_35_1_69.pdf)>

NESHATIAN, L.; GIBBONS, S. J.; FARRUGIA, G. Macrophages in diabetic gastroparesis - The missing link? **Neurogastroenterology and Motility**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 7–18, 2015.

NILSSON, P. H. Diabetic gastroparesis: A review. **Journal of Diabetes and its Complications**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 113–122, 1996.

QUINI, C. C.; AMÉRICO, M. F.; CORÁ, L. A.; CALABRESI, M. F. F.; ALVAREZ, M.; OLIVEIRA, R. B.; MIRANDA, J. R. A. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. **Journal of Biological Engineering**, [s. l.], v. 6, p. 1–7, 2012.

RIDDLE, M. C. et al. **Standard medical care in diabetes 2018**. [s.l: s.n.]. v. 41 Disponível em: <<http://diabetesed.net/wp-content/uploads/2017/12/2018-ADA-Standards-of-Care.pdf>>

SAMSOM, M.; AKKERMANS, L. M. A.; JEBBINK, R. J. A.; ISSELT, H. Van; VAN ISSELT, H.; VANBERGE-HENEGOUWEN, G. P.; SMOUT, A. J. Gastrointestinal motor mechanisms in hyperglycaemia induced delayed gastric emptying in type I diabetes mellitus. **Gut**, [s. l.], v. 40, n. 5, p. 641–6, 1997. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1027168&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>  
SOGABE, M.; OKAHISA, T.; TSUJIGAMI, K.; OKITA, Y.; HAYASHI, H.; TANIKI, T.; HUKUNO, H.; NAKASONO, M.; MUGURUMA, N.; OKAMURA, S.; ITO, S. Ultrasonographic assessment of gastric motility in diabetic gastroparesis before and after attaining glycemic control. **Journal of Gastroenterology**, [s. l.], v. 40, n. 6, p. 583–590, 2005.

SPÅNGÉUS, A.; EL-SALHY, M.; SUHR, O.; ERIKSSON, J.; LITHNER, F.; EL-SALHY, M. Prevalence of Gastrointestinal Symptoms in Young and Middle-Aged Diabetic Patients Prevalence of Gastrointestinal Symptoms in Young and Middle-Aged Diabetic Patients. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, [s. l.], v. 3412, p. 1196–1202, 1999. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=igas20> %5Cnhttp://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=igas20>

WANG, X. Y.; HUIZINGA, J. D.; DIAMOND, J.; LIU, L. W. C. Loss of intramuscular and submuscular interstitial cells of Cajal and associated

enteric nerves is related to decreased gastric emptying in streptozotocin-induced diabetes. **Neurogastroenterology and Motility**, [s. l.], v. 21, n. 10, p. 1095–1107, 2009.

WATKINS, C. C.; SAWA, A.; JAFFREY, S.; BLACKSHAW, S.; BARROW, R. K.; SNYDER, S. H.; FERRIS, C. D. Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression and function that is lost in diabetic gastropathy. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 106, n. 3, p. 373–384, 2000.

WOERLE, H. J.; ALBRECHT, M.; LINKE, R.; ZSCHAU, S.; NEUMANN, C.; NICOLAUS, M.; GERICH, J. E.; GÖKE, B.; SCHIRRA, J. Impaired hyperglycemia-induced delay in gastric emptying in patients with type 1 diabetes deficient for islet amyloid polypeptide. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 31, n. 12, p. 2325–2331, 2008.

WOOD, J. D. Enteric Nervous System: Neuropathic Gastrointestinal Motility. **Digestive Diseases and Sciences**, [s. l.], v. 61, n. 7, p. 1803–1816, 2016.

WU, T.; RAYNER, C. K.; YOUNG, R. L.; HOROWITZ, M. Gut motility and enteroendocrine secretion. **Current Opinion in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 928–934, 2013. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471489213001628>>.

Acesso em: 7 jun. 2017.

ZHAO, J.; NAKAGUCHI, T.; GREGERSEN, H. Biomechanical and histomorphometric colon remodelling in STZ-Induced diabetic rats. **Digestive Diseases and Sciences**, [s. l.], v. 54, n. 8, p. 1636–1642, 2009.