

Brazilian Journal of Development

Efeitos do extrato de *Allium cepa* L. na morfologia da mucosa duodenal de ratos diabéticos

Effects of *Allium cepa* L. on the morphology of duodenal mucous of diabetic rats

DOI:10.34117/bjdv6n3-043

Recebimento dos originais: 29/02/2020

Aceitação para publicação: 03/03/2020

Valéria Milena Dantas de Castro

Mestre em Biologia estrutural e funcional – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
59072-970, Natal - RN, Brasil.
E-mail: castromilenabio@gmail.com

Karina Carla de Paula Medeiros

Professora adjunta do Departamento de Morfologia – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
59072-970, Natal - RN, Brasil.
E-mail: karinapm@yahoo.com

Licyanne Ingrid Carvalho de Lemos

Mestre em Nutrição – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
59072-970, Natal - RN, Brasil.
E-mail: licyannelemos@outlook.com

Tatiane de Oliveira Teixeira

Professora adjunta do departamento de biorregulação – Universidade Federal da Bahia
41100-110, Salvador - BA, Brasil.
E-mail: tati-oliveira@hotmail.com

Thaís Gomes de Carvalho

Mestre em Ciências da Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Norte
59072-970, Natal - RN, Brasil.
E-mail: thaishbida2011@hotmail.com

Fernando Vagner Lobo Ladd

Professor adjunto do Departamento de Morfologia - Universidade Federal do Rio Grande do Norte
59072-970, Natal - RN, Brasil.
E-mail: fernandoladd@gmail.com

Brazilian Journal of Development

Bento João Abreu

Professor associado do Departamento de Morfologia - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

59072-970, Natal - RN, Brasil.

E-mail: abreubj@gmail.com

Naisandra Bezerra da Silva Farias

Professora adjunta do Departamento de Morfologia - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

59072-970, Natal - RN, Brasil.

E-mail: naisandra@hotmail.com

RESUMO

O Diabetes Mellitus (DM) é uma desordem metabólica que tem como característica principal a hiperglicemia persistente. Essa doença vem sendo considerada como uma epidemia mundial com estimativas de grande aumento no número de casos nos próximos anos. O DM pode ocorrer de diversas formas clínicas incluindo o Diabetes Mellitus tipo I (DM1) que geralmente está associado ao desenvolvimento de diversas complicações em órgãos e tecidos, afetando negativamente a qualidade de vida do paciente. Assim, sabendo da propriedade hipoglicemiante do *Allium cepa* L.- cebola comum, produto natural, objetiva-se com este estudo avaliar os efeitos do seu extrato na morfologia do duodeno de ratos com diabetes induzidos por estreptozotocina. Para isto utilizou-se 24 ratos machos da linhagem wistar, a amostra foi dividida em 3 grupos cada um com 8 animais, sendo um grupo controle composto por animais normoglicêmicos (C), grupo diabético sem tratamento (D) e um grupo diabético tratado com extrato de *Allium cepa* L. (DAC). Foi realizada a indução química do diabetes e após confirmação do quadro hiperglicêmico se iniciou o tratamento administrando diariamente o extrato de *Allium cepa* L. via gavagem em uma concentração de 400mg/kg por um período de 30 dias. Passado esse tempo, com uma dose letal de isoflurano os animais foram eutanasiados para retirada das amostras duodenais. As espécimes seguiram o processamento histológico de rotina com coloração em Hematoxilina-Eosina HE. As seções histológicas foram fotografadas e as imagens foram usadas para quantificações de volume absoluto de subcamadas do duodeno e comprimento de vilos e cripta da mucosa intestinal. A partir dessas quantificações os dados mostraram que o extrato de *Allium cepa* L. atuou positivamente atenuando não só a glicemia mais também as alterações causadas pelo diabetes na morfologia intestinal.

Palavras-chave: Estreptozotocina, morfometria, intestino delgado, produtos naturais, cebola.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disorder whose main characteristic is persistent hyperglycemia. This disease has been considered as a worldwide epidemic with a large increase in the number of cases in the coming years. DM can present several clinical forms, including Diabetes Mellitus type I (DM1), which is usually associated with the development of several complications in organs and tissues, negatively affecting the patient's quality of life. Thus, learning the hypoglycemic property of *Allium cepa* L. - common onion, a natural product, aims to evaluate the effects of its extract on the duodenum morphology of rats with diabetes induced by streptozotocin. To use 24 male wistar rats, a sample was divided into 3 groups with 8 animals, a control group consisting of normoglycemic animals (C), an

Brazilian Journal of Development

untreated diabetic group (D) and a diabetic group treated with *Allium cepa* extract. L. (DAC). Chemical induction of diabetes was carried out and after confirmation of a hyperglycemic condition, starting the treatment administered daily or extracted from *Allium cepa* L. via gavage at a concentration of 400mg / kg for a period of 30 days. After that time, with a lethal dose of isoflurane or animals that were euthanized to remove the duodenal colors. As examples follow or process routine history with Hematoxylin-Eosin HE staining. As histological sections were photographed and images were used for quantifications of absolute volume of duodenal sublayers and length of villus and crypt of the intestinal mucosa. From these quantifications or data displayed as an extract of *Allium cepa* L., it acted positively, attenuating not the glycemia, but also as changes caused by diabetes in the intestinal morphology.

Keywords: Streptozotocin, morphometry, small intestine, natural products, onion.

1. INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus, caracterizada por apresentar um quadro de hiperglicemia persistente, essa doença pode ocorrer de três principais formas incluindo Diabetes Mellitus Tipo I (DM1), Diabetes Mellitus Tipo II (DM2) e Diabetes Gestacional, sendo o DM1 nosso foco de estudo (“SBD - 2019). O DM tem sido considerado uma epidemia mundial com estimativas de um aumento de 48% de novos casos até 2045 atingindo 629 milhões de pessoas (“Federação Internacional de Diabetes - 2019).

O diabetes continua sendo um problema de saúde pública tendo em vista o modo como essa doença afeta a qualidade de vida do paciente e requer altos investimentos anualmente para tratamento da mesma. Isso ocorre pelo fato da mesma ser acompanhada pelo desenvolvimento de complicações associadas em diversos tecidos e órgãos causando: retinopatia, neuropatia periférica, nefropatia e problemas por todo o sistema digestório (MORADI et al., 2018; WOLOSIN et al., 2000).

Muitos estudos vêm buscando por novas terapias que melhorem esse quadro, como é o caso do uso de fitoterápicos. Dentre a diversidade de plantas com potenciais hipoglicemiantes temos o *Allium cepa* L.- cebola, rica em diversos fitocompostos como antocianinas, flavonoides e organosulfurados que confere a esta planta uma gama de atividades biológicas (TESHIKA et al., 2018).

A partir disto objetivamos com este estudo avaliar se o extrato de *Allium cepa* L. atua reduzindo não só a glicemia, mas também nas possíveis alterações que o DM1 causa na morfologia do duodeno de ratos diabéticos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. ANIMAIS

Para este estudo foi utilizado como modelo experimental o *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar. Os animais foram fornecidos pelo Biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, após aprovação prévia pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA-UFRN sob o protocolo 018/2017. O experimento foi realizado no biotério experimental do Departamento de Morfologia/UFRN com a utilização de um total de 24 ratos machos com 90 dias de idade e pesando cerca de 250-300 g.

Os ratos permaneceram alojados em caixas de polipropileno providas de bebedouro e comedouro durante todo o período experimental. As condições de temperatura ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$), iluminação (ciclo de 12 horas claro/ 12 horas escuro) foram controladas e receberam ração e água *ad libitum*.

2.2. EXTRATO DE *Allium cepa* L.

Foi utilizado um extrato metanólico de *Allium cepa* L., fornecido pelo Laboratório de Pesquisa em Matéria Médica (LAPEMM) do Departamento de Medicamentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia - UFBA. A dose utilizada foi de 400 mg/kg baseado nos resultado de Akash et al (2014).

2.3. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

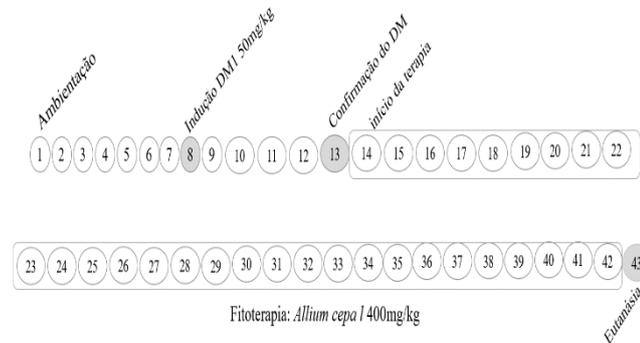
A amostra foi dividida em 3 grupos cada um contendo 8 animais, sendo um grupo controle composto por animais normoglicêmicos (C), grupo diabético sem tratamento (D) e grupo diabético tratado com extrato de *Allium cepa* L. (DAC). Os animais passaram por um período de ambientação de uma semana, no sétimo dia foi realizado o processo de indução química de DM1, por via intraperitoneal, com a utilização da estreptozotocina (STZ, 50mg/kg) dissolvida a 10 mmol/L solução citrato de sódio (pH 4,5) (Figura1).

Após 5 dias da indução do diabetes, a glicemia de todos os animais experimentais foi mensurada por meio de um glicosímetro portátil e os animais que exibiram glicemia ≥ 250 mg/dl foram considerados diabéticos. Posteriormente a confirmação hiperglicêmica se iniciou o tratamento que teve duração de 30 dias onde administrou-se diariamente uma dose de 400mg/kg do extrato via gavagem (AKASH; REHMAN; CHEN, 2014). Terminado o período

Brazilian Journal of Development

experimental foi realizado a eutanásia com uma dose letal de isoflurano. No período experimental foi avaliado glicemia (Figura 1).

Figura 1 - Esquema representativo experimental



2.4. HISTOMORFOMETRIA

Após o processo de eutanásia foi retirada as amostras duodenais e lavadas com soro fisiológico e imersas em paraformoldeído a 4% para serem fixadas. As espécimes foram processadas seguindo as etapas de desidratação, diafanização, inclusão em parafina, microtomia em espessura de 5 μ e coloração em hematoxilina Eosina – HE.

Após a confecção das lâminas histológicas foram realizadas fotografias com auxílio de um microscópio com câmera acoplada no Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte DMOR-UFRN. Foram realizadas dois tipos de análises a primeira foi de volume absoluto por subcamadas conforme o principio estereológico (GUNDERSEN *et al.*, 2013) e a segunda foi de morfometria para mensurar o comprimento de cripta e vilo conforme (ATIQU *et al.*, 2019).

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada com auxílio do Software Minitab 2018, onde foi realizado um teste de normalidade e como todos os dados apresentaram uma distribuição normal foram submetidos a análise de variância de uma via ANOVA ONE WAY seguida de post hoc teste de Tukey. Diferenças entre grupos foram consideradas significativas quando ($p \leq 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados glicêmicos dos animais estão representados na Tabela 1. Conforme mostra a tabela os animais permaneceram hiperglicêmicos até o fim do período experimental assim como nos demais estudos com o mesmo modelo experimental (DE OLIVEIRA *et al.*, 2019). O grupo DAC teve a glicemia reduzida significativamente versus o grupo D, mostrando o potencial hipoglicemiante desta planta (LEE *et al.*, 2013).

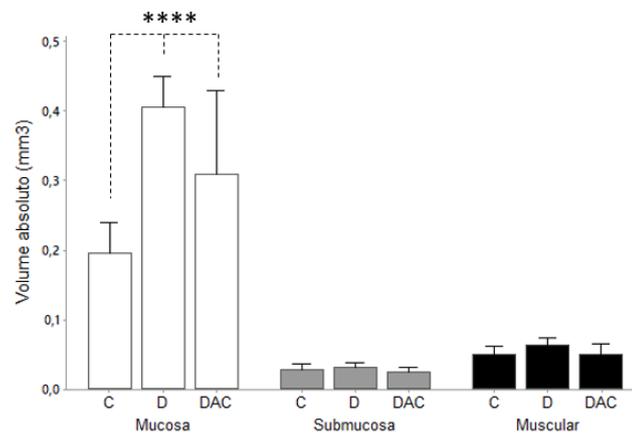
Tabela 1 – Glicemia final. Fonte: Arquivo pessoal

	C	D	DAC
Glicemia (d/mg)	120,63	700,4*	566,2 *#

Legenda: Grupo controle (C), grupo diabético sem tratamento (D) e grupo diabético tratado com extrato de *Allium cepa L.* (DAC). Diferença estatística significativa * D versus C, # DAC versus D.

Quanto aos dados apresentados no volume absoluto de subcamadas (mucosa, submucosa e muscular) observou-se que ocorreu um aumento significativo da mucosa intestinal nos grupos D e DAC em relação ao grupo C (Figura 3)(DA ROSA *et al.*, 2015). No entanto o grupo tratado com o extrato esse aumento foi menor quando comparado ao grupo diabético sem tratamento.

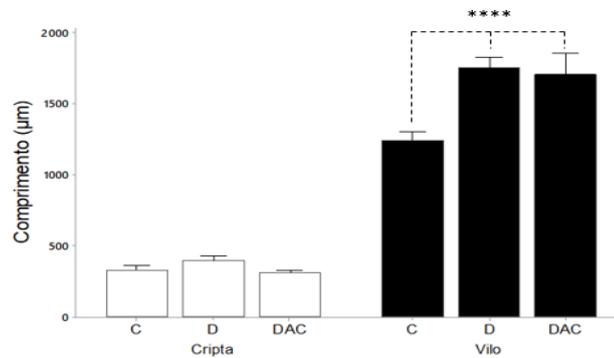
Figura 2 - Gráfico contendo o volume absoluto em mm³. Grupo controle (C), grupo diabético não tratado (D) e Grupo diabético tratado com *Allium cepa L.* (DAC). **** P= 0,000.



Enquanto isso nas subcamadas de submucosa e muscular não houve diferença significativa entre os grupos. C

Brazilian Journal of Development

Figura 3 - Gráfico contendo o comprimento de cripta e vilos em (μ) da mucosa duodenal. Grupo controle (C), grupo diabético não tratado (D) e Grupo diabético tratado com *Allium cepa L.* (DAC). **** $P= 0,000$.



Alguns pesquisadores vêm tentando explicar essas alterações de volume que ocorre no intestino de animais diabéticos. Uma hipótese já levantada é que no DM por haver uma dificuldade na captação de glicose mediante a falta de insulina, a mucosa intestinal aumenta sua área de absorção de nutrientes de forma compensatória a falta de glicose nos tecidos (MAYHEW; CARSON, 1989).

Além disso, outros mecanismos que ocorrem na fisiologia celular vêm sendo apontados como possíveis causas das alterações morfológicas dos tecidos no estado hiperglicêmico. Ativação de vias de estresse oxidativo, inflamação de baixo grau estão ligadas as complicações morfológicas teciduais (BHOR *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2013).

O extrato de *Allium cepa L.* atenuou levemente as alterações morfométricas de cripta e vilos e de volume absoluto das subcamadas. Esse efeito pode ter ocorrido pelo fato de que a cebola contém em sua composição organosulfurados com o s-metilcisteína que atua reduzindo o estresse oxidativo, processo este apontado como preditor danos associados ao diabetes (THOMAS *et al.*, 2015).

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados observou-se que a estreptozotocina foi capaz de induzir o diabetes de forma eficaz, onde os animais permaneceram com a glicemia elevada até o fim do experimento. A hiperglicemia levou ao desenvolvimento de alterações de volume na parede intestinal. O aumento de mucosa visto no volume absoluto foi proveniente do aumento significativo das vilosidades intestinais.

O tratamento com o extrato de *Allium cepa L.* apresentou além da capacidade de reduzir a glicemia, atenuou também as alterações morfológicas de volume duodenais. Tais benefícios

Brazilian Journal of Development

observados do extrato podem servir como ponto de partida para novos estudos, de modo a explorar mais seus efeitos e talvez até consolida-la como uma terapia alternativa ou coadjuvante as demais utilizadas atualmente.

REFERÊNCIAS

AKASH, M. S. H.; REHMAN, K.; CHEN, S. Spice plant *Allium cepa*: Dietary supplement for treatment of type 2 diabetes mellitus. **Nutrition**, v. 30, n. 10, p. 1128–1137, 2014.

ATIQ, A.; SHAL, B.; NAVEED, M.; et al. Diadzein ameliorates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis by suppressing oxidative stress and inflammatory mediators in rodents. **European Journal of Pharmacology**, v. 843, n. December 2018, p. 292–306, 2019.

BHOR, V. M.; RAGHURAM, N.; SIVAKAMI, S. Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 36, n. 1, p. 89–97, jan. 2004.

DA ROSA, C. V. D.; AZEVEDO, S. C. S. F.; BAZOTTE, R.B et al. Supplementation with L-glutamine and l-alanyl- l-glutamine changes biochemical parameters and jejunum morphophysiology in type 1 diabetic wistar rats. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, p. 1–16, 2015.

DE OLIVEIRA, A. R.; SILVA, F. S.; BORTOLIN, R. H. et al. Effect of photobiomodulation and exercise on early remodeling of the Achilles tendon in streptozotocin-induced diabetic rats. **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0211643, 4 fev. 2019.

Federação Internacional de Diabetes - Home. Disponível em: <<https://www.idf.org/>>. Acesso em: 27 maio. 2019.

GUNDERSEN, H. J. G.; MIRABILE, R.; BROWN, D. et al. **Stereological Principles and Sampling Procedures for Toxicologic Pathologists**. Third Edit ed. [s.l.] Elsevier, 2013.

LEE, C. W; LEE, H; SHA, Y. et al. In vivo investigation of anti-diabetic properties of ripe onion juice in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 18, n. 3, p. 169–174, 2013.

MAYHEW, T. M.; CARSON, F. L. Mechanisms of adaptation in rat small intestine: regional differences in quantitative morphology during normal growth and experimental hypertrophy. **Journal of anatomy**, v. 164, p. 189–200, 1989.

MORADI, B; ABBASZADEH, S.; SHAHSAVARI, S. et al. The most useful medicinal herbs to treat diabetes. **Biomedical Research and Therapy**, v. 5, n. 8, p. 2538–2551, 2018.

SBD - Sociedade Brasileira de Diabetes - Notícias e Tratamentos para Diabetes. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/publico/>>. Acesso em: 16 maio. 2019.

TESHIKA, J. D.; ZAKARIYYAH, A.M.; TOORABALLY, Z. et al. Traditional and modern uses of onion bulb (*Allium cepa* L.): a systematic review . **Critical Reviews in Food Science**

Brazilian Journal of Development

and Nutrition, v. 0, n. 0, p. 1–32, 2018.

THOMAS, S.; SENTHILKUMAR, P.; SIVARAMAN, K et al. Effect of s-methyl-L-cysteine on oxidative stress, inflammation and insulin resistance in male wistar rats fed with high fructose diet. **Iranian journal of medical sciences**, v. 40, n. 1, p. 45–50, jan. 2015.

WANG, Y. LI, Y.; YIN, J et al. Autophagy regulates inflammation following oxidative injury in diabetes. **Autophagy**, v. 9, n. 3, p. 272–277, 7 mar. 2013.

WOLOSIN, J. D; FACP M. D; EDELMAN, S. V. Diabetes e Tracto gastrointestinal. **Diabetes clinicas**, v. 18, 2000.

ZHAO, J.; SHA, H.; ZHOU, S et al. Remodelling of zero-stress state of small intestine in streptozotocin-induced diabetic rats. Effect of gliclazide. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, n. 10, p. 707–716, 2002.

ZHAO, J.; YANG, J.; GREGERSEN, H. Biomechanical and morphometric intestinal remodelling during experimental diabetes in rats. **Diabetologia**, v. 46, n. 12, p. 1688–1697, 2003.