

EFEITOS DA SOBRECARGA DE FRUTOSE E ATIVIDADE FÍSICA SOBRE A PAREDE INTESTINAL DO CÓLON ASCENDENTE E PLEXO MIENTÉRICO DE RATOS

Caroline Mantonvani da Luz¹
Evelyn Camila Lampugnani²
Kheldy Wechwerth²
Jessica Dallagnol Dalleaste²
Suellen Quevedo²
Viviane Regina Pereira²
Mayara Meurer Dore²
Sonia Aparecida Mello Correio³

LUZ, C. M. da; LAMPUGNANI, E. C.; WECHWERTH, K.; DALLEASTE, J. D.; QUEVEDO, S.; PEREIRA, V. R.; DORE, M. M.; CORREIO, S. A. M. Efeitos da sobrecarga de frutose e atividade física sobre a parede intestinal do cólon ascendente e plexo mientérico de ratos. *Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR*, Umuarama, v. 17, n. 2, p. 77-84, maio/ago. 2013.

RESUMO: O presente estudo avalia os feitos da sobrecarga de frutose na dieta e exercícios físicos, no peso corporal, nível glicêmico e de triglicerídeos, na histologia do cólon ascendente e morfometria dos neurônios mientéricos do jejuno de ratos. Foram utilizados 30 ratos (Wistar), divididos em sedentários (S) e exercitados (E), sendo que GS e GE receberam água; GS10 e GE10 água acrescida de 10% de frutose; GS20 e GE20 água acrescida de 20% de frutose. Os animais exercitados foram submetidos à atividade física (natação). Após tratamento verificou-se que, os animais do GE tiveram peso 18,8% menor que GS, e GE10 14,5% menor que GS10. Comparados com GS, a sobrecarga de frutose resultou em nível glicêmico (mg/dL) elevado em todos os grupos, indicando quadro diabotogênico (GS:106,2; GS10: 216,2; GS20: 205,8; GE: 189; GE10: 204,4; GE20: 259,2) mesmo nos animais exercitados. O nível de triglicerídeos no sangue foi superior em todos os grupos quando comparados ao GS. A análise morfométrica do pericário dos neurônios mientéricos do jejuno mostrou redução significativa nos grupos GS20, GE10 e GE20. As mudanças metabólicas provocadas pela sobrecarga de frutose, associada ou não a atividade física, favoreceram para elevar os níveis glicêmicos e de lipídios no sangue, diminuindo a necessidade de reserva nas células, contribuindo para redução na área do citosol nos neurônios mientéricos. Constatou-se também, redução na profundidade das criptas em todos os grupos comparados ao GS. Acredita-se que quanto maior a oferta de nutrientes menor é a necessidade das células intestinais de se desenvolverem, conduzindo a processos de adaptação celular, como atrofia.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade física; Frutose; Sistema nervoso entérico; Área do pericário.

EFFECTS OF FRUCTOSE OVERLOAD ON THE INTESTINAL WALL OF ASCENDING COLON AND MYENTERIC PLEXUS OF RATS

ABSTRACT: This study evaluates the achievements of fructose overload on diet and exercise, on body weight, blood glucose and triglyceride levels, on the ascending colon histology and morphometry of myenteric neurons of rat jejunums. For such, 30 Wistar rats were divided into sedentary (S) and exercised (E) groups, where GS and GE received water; GS10 and GE10 received water added of 10% fructose; GS20 and GE20 were given water plus 20% fructose. Animals in the exercised group were submitted to physical activity (swimming). After treatment, it was observed that the animals in GE had weight 18.8% lower than those in GS, and those in GE10 weighed 14.5% lower than the ones in GS10. Compared to GS, the fructose overload resulted in elevated blood glucose levels (mg/dL) in all groups, indicating diabetogenic status (GS:106.2; GS10:216.2; GS20:205.8; GE:189; GE10:204.4; GE20:259.2) even in the exercised animals. The triglycerides level in blood was higher in all groups when compared to the GS. The morphometric analysis of the soma of myenteric neurons in the jejunum was significantly reduced in groups GS20, GE10 and GE20. Metabolic changes induced by fructose overload, with or without physical activity, favored an elevation in blood glucose and blood lipid levels, reducing the need for storage in cells, contributing to a reduction in the cytosol area in myenteric neurons. A reduction in crypt depth was also found in all groups when compared to GS. It is believed that the higher the nutrient supply, the lower the need for development of intestinal cells, leading to cellular adaptation processes, such as atrophy.

KEYWORDS: Physical activity; Fructose; Enteric nervous system; Perikaryon area.

Introdução

A ingestão excessiva de carboidratos e gorduras dispõe o organismo ao desenvolvimento de várias doenças, gerando o aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade (MOTA; MELLO, 2006). Para Lopes, Prado e Colombo, (2010), as atuais mudanças no estilo de vida da população vêm causando um rápido aumento nos índices mundiais de sobrepeso e obesidade o que pode favorecer o surgimento de doenças metabólicas. Esta mudança de hábitos inclui a participação da frutose (C₆H₁₂O₆) na dieta das populações em

todo o mundo, por milhares de anos as pessoas consumiam 16 a 20 gramas de frutose por dia. Recentemente, nas dietas ocidentais houve um aumento no consumo de frutose, passando para 85-100 gramas por dia (BASCIANO; FEDERICO; ADELI, 2005).

A frutose é rapidamente absorvida e metabolizada pelo fígado, e tem relação direta com a rápida estimulação da lipogênese e acúmulo de triglicerídeos, contribuindo para redução na sensibilidade a insulina, resistência a insulina hepática e intolerância a glicose (BASCIANO; FEDERICO; ADELI, 2005), sintomas característicos da Síndrome

¹Biomédica, aluna de Programa de Iniciação Científica. Universidade Paranaense, Unidade Cascavel.

²Bióloga, Aluna de Programa de Iniciação Científica. - Universidade Paranaense, Unidade Cascavel

³Docente do Departamento de ciências Biológicas, área Biologia Celular e Molecular. - Universidade Paranaense, unidade Cascavel. - samello@unipar.br

Metabólica (SM). O metabolismo da frutose difere do metabolismo da glicose, por não necessitar de insulina para ser absorvida pelas células (TRAN et al., 2009), ao contrário da glicose a frutose não estimula a secreção de insulina e leptina, mas sim de hormônios ligados a estimulação do apetite, sugerindo sua relação com o ganho de peso e obesidade (TEFF et al., 2004).

A sobrecarga de frutose em ratos e camundongos tem sido realizada na ração ou na água de beber, provocando vários dos sintomas da SM. As alterações metabólicas observadas em animais tratados com frutose variam muito de acordo com os modelos experimentais adotados, já que não existe uma padronização quanto ao tempo de exposição e a forma de administração na dieta (SUZUKI et al., 1997; ELLIOTT, et al., 2002; YOSHIDA et al., 2003; FARAH et al., 2006). Evidências apontam que a exposição à dieta de frutose por um período de 18 semanas também têm sido eficaz na indução dos distúrbios metabólicos que compõe o espectro da SM em ratos Wistar (SILVA et al., 2011).

Os efeitos negativos da ingestão excessiva de carboidratos podem ser suprimidos com a prática de exercício físico, considerado um componente importante na prevenção e no tratamento da síndrome metabólica, foi demonstrado que o nível de capacidade aeróbia apresenta relação inversa com o risco de desenvolver essa doença (BRIEN; JANSSEN; KATZMARZYK, 2007). Adicionalmente, a atividade física pode atenuar a gravidade do diabetes tipo 2 e melhorar a tolerância à glicose (LAKKA; LAAKSONEN, 2007). O balanço energético positivo, que ocorre quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto, é importante contribuidor para o desenvolvimento das doenças decorrentes de sobrepeso. Sendo assim, o sedentarismo e os hábitos nutricionais parecem representar o principal fator de risco no desenvolvimento da obesidade mundial (AZEVEDO et al., 2007; REICHERT et al., 2009). A prática regular de atividade física moderada promove alterações na atuação de algumas enzimas-chave do metabolismo, estas alterações têm a capacidade de prevenir os efeitos da síndrome metabólica (HITTEL et al., 2005).

Os efeitos prejudiciais da sobrecarga de frutose na dieta já estão confirmados em alguns tecidos, há evidências que demonstram a relação entre o consumo excessivo de frutose e o desenvolvimento de doença hepática gordurosa não alcoólica (SCHULTZ et al., 2013), e fibrose hepática resultante do acúmulo de gordura no fígado (ABDELMALEK et al., 2010). Um estudo com camundongos que receberam dieta rica em frutose demonstrou que, independente de ocasionar obesidade, essa alimentação pode provocar efeitos deletérios no fígado com a presença de resistência à insulina, dislipidemias e doença hepática gordurosa não alcoólica, inclusive com áreas de necroinflamação (SCHULTZ et al., 2013). Além do fígado outros tecidos tem contato com a frutose, como o intestino.

O epitélio intestinal é o responsável pela absorção da frutose ingerida, o sistema digestório é dinâmico e se adapta à mudanças na dieta impostas pelo organismo, no entanto, isso não significa que não sofrerá alterações decorrentes do processo adaptativo. O intestino é o local onde o alimento permanece por mais tempo para que os processos de absorção ocorram de modo eficiente (MAIORKA et al., 2000). A mucosa do intestino tem crescimento contínuo e é afetada não apenas por hormônios metabólicos (fatores en-

dógenos), como insulina, hormônio do crescimento, tiroxina e glicocorticóides, mas também por fatores relacionados com o alimento (exógenos), tais como características físicas e químicas dos nutrientes e microbiota intestinal (MAIORKA et al., 2000; HALPERN; RODRIGUES; DA COSTA, 2004).

A parede intestinal apresenta camadas histológicas bem definidas, do lúmen para a cavidade peritoneal, observa-se a mucosa, muscular da mucosa, submucosa, camadas musculares circular e longitudinal e serosa (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Em meio a estas camadas musculares, encontra-se o Sistema Nervoso Entérico (SNE), que é de grande importância na coordenação de todos os processos digestivos. Esse apresenta grande complexidade anatômica, bioquímica e funcional, sendo caracterizado por ser um sistema independente e integrativo, que se difere em estrutura e função do Sistema Nervoso Simpático e Parassimpático (MOREIRA et al., 2008). O SNE desempenha importante função na homeostase, por controlar a tonicidade dos vasos sanguíneos do tubo digestório, sua motilidade, o transporte de líquidos e as secreções das células endócrinas intrínsecas (ZANIN et al., 2003). Diversos estudos demonstram que alterações nutricionais afetam os neurônios que compõe o plexo mientérico, nas diferentes regiões do intestino (NATALI et al., 2000; ARAÚJO et al., 2003; ZANIN et al., 2003; MELLO et al., 2004; SANT'ANA et al., 2006).

O intestino grosso tem a capacidade de misturar, armazenar e propulsionar fezes, bem como absorver fluidos. É composto por ceco, cólon ascendente, cólon descendente e reto (TAKAHASHI; OWYANG, 1998; NASSRI et al., 2008). No cólon ascendente as fezes são temporariamente armazenadas, favorecendo a absorção do excesso de fluido e consequentemente os nutrientes disponíveis nesse. O mesmo é sensível a alterações ambientais, podendo inclusive ter sua histologia modificada em decorrência de mudanças na dieta, além disso, o sobrepeso e a obesidade estão relacionados ao aumento na incidência de câncer nesta região (GÓIS et al., 2011), o que torna indispensável a realização de estudos para melhor entender os mecanismos de adaptação deste órgão em decorrência das alterações na alimentação.

Deste modo, o presente estudo busca verificar se há relação entre a sobrecarga de frutose na dieta, associada ou não com atividade física, nos parâmetros corporais de peso, glicemia e nível de triglicerídeos no sangue. Investigamos também os efeitos na histologia da parede do cólon ascendente bem como as possíveis variações na morfometria dos neurônios mientéricos do jejuno de ratos.

Material e Método

Os procedimentos colocados em prática neste estudo estão de acordo com o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA) da Universidade Paranaense (Protocolo nº 19601/2010).

Foram utilizados 30 ratos machos, Wistar, com 21 dias, pesando aproximadamente 150g. Estes animais passaram por um período de adaptação de 3 semanas, onde foram separados randomicamente e mantidos em caixas metabólicas. Três vezes por semana os animais eram colocados em tanques individuais contendo baixo nível de água aquecida para adaptação, aumentando o nível de água a cada semana até atingir a quantidade desejada, onde os animais não

conseguiram tocar o fundo do tanque com a cauda. Todos os animais receberam ração padrão para roedores e dieta líquida *ad libitum*. A sobrecarga de frutose foi atingida utilizando 100g de D-frutose diluída em 1 litro de água (concentração de 10%) e 200g D-frutose de frutose diluída em 1 litro de água (concentração de 20%) e oferecida aos animais a partir de 45 dias de vida (peso médio de 180g). Os animais foram divididos randomicamente em 6 grupos (n=5), conforme o desenho de estudo abaixo.

SEDENTÁRIOS			EXERCITADOS		
Água GS	10% de frutose GS10	20% de frutose GS20	Água GE	10% de frutose GE10	20% de frutose GE20

Os 30 animais ficaram em gaiolas metabólicas individuais, em recinto com controle de temperatura (+/- 25°C) e do ciclo claro/escuro (12/12 horas). Os grupos exercitados foram submetidos ao exercício físico aeróbio crônico moderado (natação), de acordo com o procedimento previamente padronizado por Dâmaso (1996), com uma frequência de 3 vezes por semana em dias alternados, em tanques individuais (50 cm de altura x 30 de diâmetro), com água aquecida $32 \pm 2^\circ\text{C}$, e duração de 25 minutos. Os animais sedentários eram manipulados nos mesmos dias e horários dos animais do grupo exercitado, porém não realizavam atividade física. O peso dos animais foi aferido semanalmente a partir do início do tratamento. Para análises bioquímicas os animais foram submetidos a 4 horas de jejum e foram coletadas gotas de sangue da veia caudal de cada animal. Para quantificação da glicemia de jejum foi utilizado glicosímetro (Accucheck, Roche), e para a quantificação dos níveis de triglicérides a análise foi realizada pelo aparelho Accutrend (GTC, Roche). Esses procedimentos foram realizados no início do tratamento, na 9ª semana e ao final de 18 semanas.

Após o período de 18 semanas os animais de cada grupo permaneceram em jejum de 12 horas, foram anestesiados com Quetamina (50 mg/kg) e Xilazina (10mg/kg), administrados por via intramuscular (WRIGHT, 1982), e em seguida foram submetidos à laparotomia vertical para coleta do cólon ascendente e jejuno.

As amostras do cólon ascendente de cada animal passaram por procedimento de lavagem em solução salina (NaCl 0,9%), posteriormente preenchidas e imersas em solução fixadora de formalina tamponada (1%). Estas amostras foram submetidas à rotina histológica e coloração com hematoxilina e eosina (HE).

A análise quantitativa das criptas do cólon ascen-

dente foi realizada por amostragem das regiões inicial, intermediária e final. Com auxílio de Microscópio Óptico Motic (B1 Séries) em objetiva de 40X, mediu-se o tamanho de cada cripta e quantificou-se o número total de criptas a cada 100µm por animal, de cada grupo.

As amostras do jejuno de cada animal foram coletadas e lavadas em solução salina (NaCl 0,9%), preenchidas e imersas em solução fixadora de formol acético por um período de 24 horas. Após esse período os segmentos foram cortados em anéis de aproximadamente 1 centímetro de comprimento e abertos na borda mesentérica. Os preparados de membrana foram confeccionados com o auxílio de um esteomicroscópio com transluminação, para a retirada da túnica mucosa e da tela submucosa e corada com Giemsa (BARBOSA, 1978) para evidenciar a população neuronal total do plexo mientérico. Posteriormente foram desidratados em uma série crescente de alcoóis e diafanizados em xilol para a realização da montagem entre lâmina e lamínula com Bálsamo do Canadá.

Na captura e mensuração das imagens utilizou-se o programa Motic Image Plus 2.0 em objetiva de 40X. Para a morfometria foram mensurados o pericário e o citosol de 100 neurônios de cada animal, sendo 50 de cada região intermediária e 50 na região antimesentérica.

Realizaram-se cálculos de estatística descritiva de parâmetros de tendência central e de dispersão para apresentação dos resultados da análise estatística. Para verificar diferença no peso dos animais foi realizado teste T, com nível de significância de 5%. Para detectar possíveis diferenças significativas na área do pericário dos neurônios mientéricos do jejuno e na morfometria da parede do colón entre os animais do grupo controle e experimental, empregou-se a análise de variância (ANOVA), com nível de significância de 5% e para comparação das médias o pós-teste de Tukey. Foi utilizado o software Graph Pad Prisma 5.0 para as análises.

Resultados

Ao analisar o ganho de peso dos animais ao longo do período de tratamento, verificamos que houve diferença significativa de peso entre os ratos dos grupos sedentários e exercitados, sem sobrecarga de frutose (GS x GE, $p = 0,007$) ou com sobrecarga de 10% de frutose (GS10 x GE10, $p = 0,03$). Sendo que houve uma redução de peso nos animais exercitados com relação aos animais sedentários, de 18,8% de GS para GE e de 14,5% de GS10 para GE10. Os animais do grupo GE20 apresentaram peso 2,5% menor que os animais do grupo GS20, no entanto esta diferença não foi estatisticamente significativa (tabela 1).

Tabela 1: Valores do parâmetro de peso corporal e glicemia de jejum de ratos que receberam água (GS), água acrescida de 10% de frutose (GS10), água acrescida de 20% de frutose (GS20), água e realizaram atividade física (GE), água acrescida de 10% de frutose e realizaram atividade física (GE10) e água acrescida de 20% de frutose e realizaram atividade física (GE20), por um período de 18 semanas.

GRUPOS	PESO CORPORAL (g)	GLICEMIA DE JEJUM mg/dL	TRIGLICERÍDEOS mg/dL
GS	548,3 ± 18,42*	106,2 ± 11,08	46,50 ± 19,33
GS10	544,2 ± 42,81**	216,2 ± 74,96	122,0 ± 47,0
GS20	476,4 ± 43,47	205,8 ± 119	114,3 ± 76,53
GE	461,7 ± 52,18*	189 ± 69,94	137,3 ± 73,61

GE10	475,3 ± 34,84**	204,4 ± 83,1	82,25 ± 28,15
GE20	464,8 ± 32,80	259,2 ± 29,17	156,0 ± 108,6

* e ** indicam diferenças significativas estatisticamente ($p > 0,05$).

Nas análises bioquímicas os valores encontrados para o GS foram considerados como normais para efeito de comparação com os demais grupos. Ao final do período os animais apresentaram níveis alterados de glicemia, indicando um quadro diabético (tabela 1). Comparando os níveis de glicose do grupo GS com os grupos GS10, GS20, verificamos elevação de 103,6% no GS10 e 93,8% no GS20. Nos animais que realizaram atividade física os níveis de glicose também foram elevados em relação ao GS (GE10 95% superior; GE20 144,1% superior), mesmo nos animais do GE que não receberam frutose, a glicose de jejum foi 78% maior quando comparada ao GS. Ao compararmos os animais exercitados e sedentários, considerando a mesma dieta, apenas o GE10 mostrou redução nos níveis de glicemia quando comparados com o GS10.

Os testes bioquímicos revelaram que houve um aumento dos níveis de triglicerídeos dos animais sedentários que receberam sobrecarga de frutose independente da concentração quando comparados com o GS. Nos animais exercitados os níveis de triglicerídeos também foram aumentados em relação ao GS, mesmo os animais do GE, que realizaram atividade física e não receberam sobrecarga de frutose na dieta, apresentaram valores 195,4% acima com relação aos animais do GS (tabela 1). Comparando animais exercitados e sedentários, (menos GS) apenas o grupo que recebeu 10% de frutose e realizou atividade física (GE10), teve os níveis de triglicerídeos reduzidos, porém ainda superior ao valor ob-

servado nos animais normoalimentados (GS).

Quanto a análise do plexo mientérico no jejuno, ao compararmos os animais sedentários com exercitados, considerando a mesma dieta, apenas entre os animais que receberam 10% de frutose houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0001$), sendo que a área média do pericário no GS10 foi $856,9\mu\text{m}^2$ e no GE10 foi $478,1\mu\text{m}^2$. Os animais sedentários que receberam 20% de frutose (GS20) apresentaram área do pericário menor em relação ao GS, GS10 e GE, sendo que esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,0004$). A dieta com concentração de frutose a 10% (GS10 e GE10) mostrou exercer menor efeito na área do pericário dos neurônios mientéricos que a dieta com concentração de 20% de frutose. A atividade física não mostrou efeito protetor na morfometria do pericário neuronal, pois o GE10 e GE20 que receberam dieta com frutose e realizaram atividade física apresentam média da área do pericário inferior ao grupo controle GE, que não recebeu frutose (tabela 2).

O grupo GS10 foi o que obteve maior área do pericário em relação aos demais grupos alimentados com água acrescida de frutose (GS20, GE10, GE20). A menor área do pericário foi observada no GS20.

A análise do número de criptas a cada $100\mu\text{m}$ de comprimento no cólon dos animais revelou que não houve diferença estatística na distribuição das criptas ao longo do comprimento do cólon ascendente (tabela 2).

Tabela 2: Valores da área (μm^2) do pericário de neurônios mientéricos do jejuno, número e altura das criptas no cólon ascendente a cada $100\mu\text{m}$ de comprimento em ratos com sobrecarga de frutose na dieta sedentários e que realizaram atividade física por um período de 18 semanas.

GRUPOS	ÁREA DO PERICÁRIO DO JEJUNO (μm^2)	NÚMERO DE CRIPTAS DO COLON	ALTURA DAS CRIPTAS (μm)
GS	727 ± 238,4**	3.4 criptas/100 μm	42,33 ± 4,76a
GS10	856,9 ± 132,7*/**	3.0 criptas/100 μm	34,54 ± 2,21b
GS20	370,5 ± 191,2**	3.4 criptas/100 μm	35,1 ± 5,02c
GE	702,5 ± 10,28**	3.2 criptas/100 μm	28,82 ± 0,30bcd
GE10	478,1 ± 33,99*	3.1 criptas/100 μm	25,46 ± 2,03d
GE20	437,0 ± 9,05	2.6 criptas/100 μm	23,52 ± 3,13d

Valores expressos como média ± desvio padrão; * diferença estatisticamente significativa entre GS10 e GE10 ($p=0,0001$) e **entre GS20 e GS, GS10 e GE ($p=0,0004$). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

A morfometria da altura das criptas do cólon ascendente dos animais mostrou que a ingestão de frutose com ou sem atividade física provocou redução estatisticamente significativa na altura das criptas quando comparadas ao GS ($p < 0,0001$). Mesmo os animais do GE, que não receberam frutose, mas realizaram atividade física apresentaram redução de 31,9% na altura das criptas em relação ao GS. Os animais sedentários que receberam frutose (GS10 e GS20) apresentaram criptas mais profundas que os animais que receberam a mesma dosagem de frutose, porém realizaram atividade física (GE10 e GE20) (tabela 2). Entre os animais exercitados não houve diferença significativa na altura das criptas.

Discussão

O intestino delgado é o responsável pela absorção de nutrientes, sais minerais, sais biliares e aminoácidos, por ser um órgão dinâmico tende a adaptar-se as dietas imposta pelo organismo, por exemplo, a ingestão exacerbada de alimentos como a frutose. O jejuno é a porção do intestino delgado localizada na região do mesogástrico (porção final do estômago), com aproximadamente dois metros e meio de comprimento em humanos, possui alça fixa, uma mucosa mais clara e mais pregueada, responsável pela absorção alimentar (GIAZZI et al., 2008). Estudo realizado por Johnson et al. (2009), mostraram que o alto consumo de frutose

está relacionado com o desenvolvimento da SM, responsável pelo surgimento de doenças cardíacas e o possível desenvolvimento de demência, ou seja, problemas de saúde mental como por exemplo o Alzheimer.

No presente estudo, a atividade física foi eficiente na redução do peso corporal dos animais normoalimentados e que receberam sobrecarga de frutose de 10% na dieta. A diminuição da massa e gordura corporal através da atividade física já foi demonstrada por Andersen et al. (1999) e Saris et al. (2003). É importante ressaltar que o exercício físico altera o gasto energético dos animais, e que o volume de energia despendida apresenta uma maior associação com a perda de peso do que a intensidade do exercício (IRWIN et al., 2003; SLENTZ et al., 2004). Na atividade física aquática o gasto energético é alto, o que pode ter contribuído para a redução de peso nos animais do GE e GE10. SLENTZ et al. (2004), mostram que o exercício físico é responsável por 20% do gasto energético em indivíduos sedentários e pode chegar a 40% em indivíduos treinados. Isso porque o exercício físico exige um contínuo fornecimento de energia para o trabalho muscular, o que aumenta intensamente a oxidação de glicose (TAPPY, 2010).

O esforço físico promove a liberação do hormônio do crescimento (GH) que inibe o consumo de glicose circulante e estimula a liberação de ácidos graxos livres (AGL) pelo fígado, além de atuar na secreção das catecolaminas cuja função é promover a glicogenólise hepática, elevando os níveis glicêmicos (POWERS; HOWLEY, 2000). De acordo com Thrall et al. (2006), em animais exercitados que produzam grande quantidade de catecolaminas, pode-se verificar quadro de hiperglicemia, corroborando nossos resultados.

Boden (2011) indica que existe uma relação direta entre o metabolismo dos ácidos graxos livres e o metabolismo da glicose, onde o aumento do primeiro no plasma resulta em um aumento de sua oxidação e na inibição da captação e oxidação da glicose nas células, elevando os níveis de glicose no sangue, conforme verificamos nos nossos resultados.

Embora os mecanismos fisiopatológicos ainda não estejam bem esclarecidos, Boden et al. (2011), sugerem que uma dieta habitual hiperglicídica seja um possível fator de risco para a dislipidemia, assim como ocorre em dietas hiperlipídicas, este efeito seria atribuído ao maior estímulo à lipogênese hepática, especialmente na síntese de triglicérides, assim como uma menor depuração do VLDL-colesterol (VLDL-c) através de uma maior oferta de glicose plasmática.

O consumo excessivo de frutose acarreta no aumento dos triglicérides hepáticos (BASCIANO; FEDERICO; ADELI, 2005; BARREIROS; BOSSOLAN; TRINDADE, 2005), no presente estudo verificou-se aumento dos níveis de triglicérides no plasma, segundo o primeiro autor, isso implica na alteração da sensibilidade à insulina, além de gerar aumento das concentrações de ácido úrico circulantes, hipercolesterolemia e dislipidemias.

Segundo Botzelli et al. (2010), possivelmente a maior disponibilidade de frutose no organismo pode elevar a atividade metabólica das células de modo geral, estimulando o aumento dos componentes citosólicos inclusive nos neurônios mientéricos. O aumento da área citosólica no pericário ocorreu apenas no grupo que recebeu 100g de frutose e não realizou atividade física (GS10), nos demais grupos que receberam frutose na dieta (GS20, GE10, GE20) a área

do pericário foi menor. Esta diferença, na área do pericário, pode estar relacionada com a prática de atividade física, que possibilitou a utilização de monossacarídeos disponíveis bem como a metabolização de triglicérides circulantes, evitando seu depósito nestas células e mantendo a área do citosol inalterada.

A atividade física não interferiu na área do pericário nos grupos, independente da concentração de frutose (GE10, GE20). De acordo com Chiyoda et al. (2009), o esforço físico promove a liberação do hormônio do crescimento (GH) em ratos, esse inibe o consumo de glicose circulante e estimula a liberação de ácidos graxos livres pelo fígado, além de atuar na secreção das catecolaminas, cuja função é promover a glicogenólise hepática, elevando os níveis glicêmicos (POWERS; HOWLEY, 2000). No entanto como os animais recebiam frutose na água, a disponibilidade do carboidrato é maior, diminuindo a necessidade de armazenamento citosólico ou até mesmo da ativação de vias de glicogenólise.

Estudos realizados por Beraldi et al. (2012), para avaliar os efeitos da dieta hiperlipídica em relação às alterações nos neurônios mientéricos do intestino grosso de camundongos, mostrou uma redução significativa na área neuronal do grupo obeso, porém os autores não submeteram os animais à atividade física. No presente trabalho não verificamos sobrepeso/obesidade nos animais, ainda assim houve uma redução na área do pericário nos grupos GS20, GE10 e GE20. A dieta rica em frutose aplicada neste estudo, semelhante à dieta hiperlipídica realizada pelos autores supra citados, promoveu redução da área do pericário nos animais, inclusive nos grupos que realizaram atividade física. Apenas no grupo GS10 houve manutenção da área do pericário, diferindo dos resultados de Beraldi et al. (2012), possivelmente devido à dieta hipercalórica ter sido realizada com frutose e as cobaias do presente estudo serem ratos.

Observando os grupos GS e GE, normoalimentados, percebemos que houve a manutenção da área do pericário, sendo que o exercício físico não exerceu alterações neste parâmetro nos animais do GE.

Comparando os animais do GS10 em relação ao GE10, que receberam a mesma dieta, porém o GE10 realizou atividade física, percebemos uma redução significativa na área neuronal no GE10. Estudos realizados por De Britto et al. (2008) e por Gagliardo (2006), mostraram que a atividade física não exerceu efeito sobre a morfometria dos neurônios mientéricos, no entanto estes autores analisaram o duodeno e cólon, respectivamente, e sem nenhuma alteração na dieta, diferindo do procedimento adotado no presente estudo. A redução na área dos neurônios observada nos grupos GS, GE10 e GE20 pode ter ocorrido devido a alterações metabólicas nas células, bem como a preservação na densidade populacional mientérica (GAGLIARDO, 2006).

O exercício físico moderado é capaz de impedir o desenvolvimento da obesidade e da deterioração do controle glicêmico ajudando o organismo a eliminar gordura (GOMES et al., 2012), e consequentemente diminuindo o armazenamento de compostos que possam ser usados como fonte de energia, como o glicogênio das células musculares e neuronais, o que pode ter contribuído para a redução da área do pericário dos grupos que receberam frutose e realizaram atividade física (GE10 e GE20).

Quanto à histologia do cólon ascendente, verificou-

-se a manutenção do número de criptas em um comprimento de 100µm, não sendo observadas modificações quantitativas significantes entre os grupos.

A análise morfométrica mostrou alteração no tamanho das criptas, sendo que os animais que receberam frutose na dieta apresentaram criptas com menor profundidade que os animais normoalimentados, independente de terem ou não realizado atividade física. Este resultado pode ser atribuído à capacidade plástica do intestino.

Em seu estudo, Jensen (2008), demonstrou que a histologia gastrointestinal está diretamente relacionada à composição da dieta, sendo assim, especula-se que quanto maior a oferta de nutrientes menor é a necessidade das células intestinais de se desenvolverem. O aumento da disponibilidade de frutose na dieta dos ratos tratados, com diferentes concentrações desse açúcar, pode ter proporcionado uma maior quantidade deste no fluido absorvido pelo cólon ascendente, com isso, as células do tecido gastrointestinal sofreriam processos de adaptação, como a atrofia, o que viria a explicar a diminuição no tamanho das criptas dos animais submetidos à dieta hipercalórica.

As alterações observadas nos animais dos grupos exercitados (GE, GE10 e GE20), mesmo os animais normoalimentados (GE), nos quais foram verificadas reduções ainda mais significantes no tamanho das criptas, podem ser relacionadas ainda ao estresse oxidativo. O aumento do consumo de oxigênio, assim como a ativação de vias metabólicas específicas durante ou após o exercício, resulta na formação de radicais livres de oxigênio (ROS). Estas moléculas estão aumentadas nos exercícios de alta intensidade e extenuantes e foram relacionadas a um grande número de doenças como enfisema pulmonar, doenças inflamatórias, aterosclerose, câncer e envelhecimento (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Os ROS são produzidos naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos e, muitas vezes, são de extrema utilidade. O termo estresse oxidativo é utilizado em circunstâncias nas quais o “desafio” por radicais livres resulta em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos. Pode-se dizer que um organismo encontra-se sob estresse oxidativo quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas prooxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes. Contudo, a complexidade desses eventos vai além do meio molecular, o que levou ao refinamento da definição de estresse oxidativo para uma desregulação da sinalização e do controle oxidante (JONES, 2006). Um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação, ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular. Além disso, o estresse oxidativo promove o envelhecimento precoce das células o que pode gerar danos às proteínas e ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e, portanto, tecidual (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004) o que pode ter contribuído para as diferenças de tamanho apresentadas nas criptas do cólon.

Conclusão

Neste trabalho verificamos que a realização de atividade física, 3 vezes por semana, em ratos que tiveram sobrecarga de frutose na água, auxiliou na redução do peso corporal, porém não foi eficiente em reduzir os níveis de triglicérides e glicemia durante o período em que foi realizada

as análises. Em relação à histologia do cólon ascendente, não houve diferenças no número de criptas, mas houve redução na altura das criptas dos grupos alimentados com frutose, nas concentrações de 10% e 20%, inclusive nos animais que realizaram atividade física. Esta alteração na profundidade das criptas indica a ocorrência de plasticidade histológica do órgão, se adaptando às alterações da dieta. Os resultados da morfometria dos neurônios sugerem que, a dieta com frutose nas concentrações de 10% e 20% interfere na dinâmica do citosol do pericário, promovendo alteração em seu volume, sendo que na concentração de 20% os efeitos são mais significativos, reduzindo a área do pericário dos neurônios mientéricos do jejuno. Esses efeitos não foram alterados com a realização de atividade física, uma vez que em ambas as concentrações, o pericário apresentou área menor em relação aos animais que não receberam o carboidrato na dieta e realizaram atividade física.

Referências

- ABDELMALEK, M. F. et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. **Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network Hepatology**, v. 51, n. 6, p. 1961-71, 2010.
- ANDERSEN, R. E. et al. Exercise, an active lifestyle, and obesity: making the exercise prescription work. **Phys Sportsmed**. v. 27, n. 10, p. 41-50, 1999.
- ARAÚJO, E. J. et al. Effect of protein and vitamin B deficiency on the morpho-quantitative aspects of the myenteric plexus of the descending colon of adult rats. **Arq Neuropsiquiatr**. v. 61, p. 226-233, 2003.
- AZEVEDO, M. R. et al. Tracking of physical activity from adolescence to adulthood: a population-based study. **Rev Saúde Pública**, v. 41, p. 69-75, 2007.
- BARBOSA, A. J. A. Técnica histológica para gânglios nervosos intramurais em preparados espessos. **Rev. Bras. Pesqui. Med. Biol**. v. 11, n. 2-3, p. 95-97, 1978.
- BARREIROS, R. C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C. E. P. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. **Rev. Nutr**. Campinas, v. 18, n. 3, p. 377-389, 2005.
- BASCIANO, H.; FEDERICO, L.; ADELI, K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. **Nutr Metab**. v. 1, n. 5, p. 21-22, 2005.
- BERALDI, E. J. et al. **D6-alterações na inervação mioentérica do intestino grosso de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica**. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas da UEM – Universidade Estadual de Maringá, Maringá 2012.
- BODEN, G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. **Curr. Opin. Endocrinol Diabetes Obes**. v. 2, p. 139-143,

2011.

BODEN, G. et al. Infusion of glucose and lipids at physiological rates causes acute endoplasmic reticulum stress in rat liver. **Obesity (Silver Spring)**. v. 7, p. 1366-1373, 2011.

BOTEZELLI, J. D.; et al. Consumo de frutose e exercício físico, impacto na síndrome metabólica. **Motriz**. v. 16, n. 1, p. 231-239, 2010.

BRIEN, S. E.; JANSSEN, I.; KATZMARZYK, P. T. Cardiorespiratory fitness and metabolic syndrome: us national health and nutrition examination survey 1999-2002. **Appl Physiol Nutr Metab**. v.32, p. 143-147, 2007.

CHIYODA, A. et al. Efeito da suplementação oral de arginina sobre a secreção de GH e metabolismo de lipídios em ratos Wistar treinados. **Motri**. v. 5, n. 4, 2009.

DÂMASO, A. R. **Efeitos do exercício agudo e crônico sobre o metabolismo lipídico e a celularidade adiposa de ratos durante a lactação e 48 horas após o desmame**. 1996. 120 f. Tese (Doutorado) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1996.

DE BRITTO, M. R. et al. Effects of exercise on the morphology of the myenteric neurons of the duodenum of Wistar rats during the ageing process. **Anat. Histol. Embryol**. v. 37, n. 4, p. 289-295, 2008.

ELLIOTT, S. S. et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **Am J Clin Nutr**. v. 76, n. 5, p. 911-22, 2002.

FARAH, V. et al. Nocturnal hypertension in mice consuming a high fructose diet. **Auton Neurosci**. v. 30, n. 130, p. 41-50, 2006.

GAGLIARDO, M. K. **Efeitos do exercício físico no envelhecimento inicial do plexo mioenterico do colo de ratos Wistar: Estudo quantitativo, morfométrico e ultra – estrutural**. 2006. Trabalho de conclusão de curso (Especialização) - Pós Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

GIAZZI, C. G. et al. Influência da irrigação de soluções nutricionais no colo excluído de trânsito intestinal. estudo experimental em ratos. **Rev bras Coloproct**. v. 28, n. 3, jul./set. 2008.

GÓIS, E. A. S. et al. Adenocarcinoma de cólon descendente ulcerado ao mesocólon. **Perspectivas Médicas**, v. 22, n. 1, p. 32-37, 2011.

GOMES, R. M. et al. Efeito de um programa de exercício físico moderado em ratos de diferentes modelos de obesidade. **Rev. Educ. Fis. UEM**, v. 23, n. 2, p. 285-294,

2012.

HALPERN, Z. S. C.; RODRIGUES, M. D. B.; DA COSTA, R. F. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite. **Rev. Psiq. Clin**. v. 31, n. 4, p. 150-153, 2004.

HITTEL, D. S. et al. Exercise training increases electron and substrate shuttling proteins in muscle of overweight men and women with the metabolic syndrome. **J Appl Physiol**. v. 98, p. 168-179, 2005.

IRWIN, M. L. et al. Effect of exercise on total and intra-abdominal body fat in postmenopausal women: a randomized controlled trial. **JAMA**, v. 15, p. 323-330, 2003.

JENSEN, M. D. Role of body fat distribution and the metabolic complications of obesity. **J. Clin. Endocrinol. Metab**. v. 93, n. 11, p. 557-563, 2008.

JOHNSON, R. K. et al. Dietary sugars intake and cardiovascular health: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation - Journal of American Heart Association**. v. 120, p. 1011-1020, 2009.

JONES D. P. Redefining oxidative stress. **Antioxidants & Redox signaling**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Basic histology: text & atlas, 11. ed. 2008.

LAKKA, T. A.; LAAKSONEN, D. E. Physical activity in prevention and treatment of the metabolic syndrome. **Appl Physiol Nutr Metab**. v. 32, p. 76-88, 2007.

LOPES, P. C. S.; PRADO, S. R. L. A.; COLOMBO, P. Fatores de risco associados à obesidade e sobrepeso em crianças em idade escolar. **Rev Bras Enferm**. v. 63, n. 1, 2010.

MAIORKA, A. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v. 52, n. 5, 2000.

MELLO, S. T. et al. Estudo morfoquantitativo do plexo mioenterico do duodeno de ratos submetidos a carência de proteínas e vitaminas do complexo B. **Acta Scient. Biol. Sci**. v. 26, p. 251-256, 2004.

MOREIRA, N. M. et al. Quantitative analysis of the neurons from the myenteric plexus in the ileum of rats submitted to severe protein deficiency. **Arq Neuropsiquiatr**. v. 66, n. 2, p. 242-245, 2008.

MOTA, C. S. A.; MELLO, M. A. R. Exercício e síndrome metabólica, **Motriz**, v. 12, n. 2, p. 185-193, 2006.

NASSRI, C. G. G. et al. Influência da irrigação de soluções nutricionais no colo excluído de trânsito intestinal: estudo experimental em ratos. **Rev bras Coloproct**, v. 28, n. 3,

- 2008.
- NATALI, M. R. et al. Ultrastructural features of myenteric ganglia of adult Wistar rats (*Rattus norvegicus*). **Anat Histol Embryol.** v. 29, n. 6, p. 393-397, 2000.
- POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. **Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho.** São Paulo: Manole, 2000.
- REICHERT F. F. et al. Physical activity as a predictor of adolescent body fatness: a systematic review. **Sports Med.** v. 39, p. 279-294, 2009.
- SANT'ANA, D. M. G. et al. The effect of both protein and vitamin B complex deficiency on the morphoquantitative features of the myenteric plexus of the ascending colon of adults rats. **Arq. Ciênc.Vet. Zool.** Unipar, v. 9, n. 2, p.135-140, 2006.
- SARIS, W. H. et al. How much physical activity is enough to prevent unhealthy weight gain? **Obes Rev.** v. 4, n. 2, p. 101-114, 2003.
- SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Ver. Bras. Med. Esporte,** v.10, n. 4, p. 308-313, 2004.
- SCHULTZ, A. et al. Hepatic adverse effects of fructose consumption independent of overweight/obesity. **Int J Mol Sci.** v. 14, n. 11, p. 21873-21886, 2013.
- SILVA, R. J. et al. Simvastatin-induced cardiac autonomic control improvement in fructose-fed female rats. **Clinics.** v. 66, n. 10, p.1793-1796, 2011.
- SLENTZ, C. A. et al. Effects of the amount of exercise on body weight, body composition, and measures of central obesity: STRRIDE-a randomized controlled study. **Arch Intern Med.** v. 12, p. 31-39, 2004.
- SUZUKI, M. et al. Effect of an insulin sensitizer, pioglitazone, on hypertension in fructose-drinking rats. **Jpn J Pharmacol.** v. 74, n. 4, p. 297-302, 1997.
- TAKAHASHI, T.; OWYANG, C. Regional differences in the nitrenergic innervation between the proximal and the distal colon in rats. **Gastroenterology,** v. 115, p. 1504-1512, 1998.
- TAPPY, L. Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. **Nutrition,** v. 26, n. 11-12, p. 1044-1049, 2010.
- TEFF K. L. et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 89, n. 6, p. 2963-2972, 2004.
- THRALL M.A. et al. **Hematologia e bioquímica veterinária.** São Paulo: Roca, 2006. p. 582.
- TRAN, L. T.; YUEN, V. G.; MCNEILL, J. H. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. **Mol Cell Biochem.** v. 332, p. 145-159, 2009.
- WRIGHT, M. Pharmacologic effects of ketamine and its use in veterinary medicine. **J Am Vet Med Assoc.** v. 15, p. 1462-1471, 1982.
- YOSHIDA, K. et al. Effects of exercise training on glomerular structure in fructose-fed spontaneously hypertensive rats. **Hypertens Res.** v. 26, n. 11, p. 907-914, 2003.
- ZANIN, S. T. et al. NADH-diaphorase positive neurons of the jejunum of disnurtured adult rats (*Rattus norvegicus*): quantitative aspects. **Arq Neuropsiquiatr.** v. 61, p. 650-653, 2003.