

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

MARIANA NATHÁLIA GOMES DE LIMA

ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO DUODENO DE RATOS SUBMETIDOS AO
ESTRESSE ALIMENTAR

Vitória de Santo Antão
2017

MARIANA NATHÁLIA GOMES DE LIMA

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO DUODENO DE RATOS SUBMETIDOS AO
ESTRESSE ALIMENTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, sob orientação da Professora Dr(a) Lisiane dos Santos Oliveira e Coorientação do Professor Dr Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior.

Vitória de Santo Antão

2017

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Giane da Paz Ferreira Silva, CRB-4/977

L732a Lima, Mariana Nathália Gomes de.
Análise histomorfométrica do duodeno de ratos submetidos ao estresse alimentar /
Mariana Nathália Gomes de Lima. - Vitória de Santo Antão, 2017.
40 folhas: Il.

Orientador: Lisiane dos Santos Oliveira
Coorientadora: Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior
TCC (Graduação) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em
Nutrição, 2017.
Inclui referências.

1. Estresse alimentar. 2. Restrição alimentar. I.Oliveira, Lisiane dos Santos
(orientadora). II. Aguiar Júnior, Francisco Carlos Amanajás. III. Título.

612.3 (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-266/2017

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARIANA NATHÁLIA GOMES DE LIMA

ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO DUODENO DE RATOS SUBMETIDOS AO
ESTRESSE ALIMENTAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Data: 04/12/2017

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sebastião Rogério de Freitas Silva

Prof. Dra. Wylla Tatiana Ferreira e Silva

Prof. Me. José Emerson Xavier

Dedico a Vitor Marques, um ser humano incrível que me ensinou muito sobre família e bondade; e a Shalon Rodrigues, de um coração puro e bondoso que me inspirou a seguir o caminho que escolhi. A saudade é imensa. Independente de onde vocês estejam, obrigada por serem parte da minha jornada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, por estar sempre presente e me apoiar independente das minhas decisões e inseguranças;

Aos meus amigos que mesmo com a minha ausência durante a difícil vida acadêmica, foram e são muito importantes para mim e continuaram do meu lado mesmo com a mudança de cidade;

Aos amigos que construí durante a graduação, com quem compartilhei risos e lágrimas tornando o peso da graduação um pouco menor. Vocês são um presente!;

A John, Luiz e Marcos, que mesmo de longe foram as melhores pessoas que alguém poderia ter. Amo vocês independente da distância!;

A todos os professores com quem tive contato, que me inspiraram ao tipo de profissional que quero ser (e o que não quero ser);

À professora Keyla Marques, que mesmo não tendo me ensinado em sala de aula, me ensinou muito e se tornou uma grande amiga e fonte de inspiração;

Aos meus orientadores, por toda a paciência, sabedoria e conhecimentos compartilhados. Sem vocês esse trabalho jamais seria possível, obrigada por me permitir ser parte disso;

A Emerson Xavier, que tem sido um anjo na minha vida desde o dia em que nos conhecemos;

A todos que fizeram essa pesquisa ser possível: Juliana, Luana, Emerson e Rafael. Vocês são sensacionais!;

Ao CAV r_EXISTE, ao Coletivo Feminista Celeste, aos Diretórios Acadêmicos de Nutrição e Educação Física e ao Movimento Estudantil do CAV, por me tornarem um ser humano em constante evolução e me fazer uma pessoa mais consciente, cidadã e empática;

Às famílias que construí durante os 4 anos de graduação;

À família do apartamento 305. Vivemos momentos incríveis e terríveis juntos, obrigado por estarem ao meu lado em todos eles, provavelmente não teria conseguido sem vocês;

A todos que cruzaram o meu caminho durante os últimos quatro anos e contribuíram para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje;

Ao CAV, por ser um lugar acolhedor e onde vivi momentos inesquecíveis.

“Se a educação sozinha não pode transformar a sociedade, tampouco sem ela a sociedade muda.” (Paulo Freire)

RESUMO

Estresse foi interpretado como uma reação inespecífica do organismo frente a uma situação que venha a ameaçar sua homeostasia. Diversos fatores do mundo moderno podem ser relacionados a essa condição: a busca por um corpo perfeito, a disputa no mercado de trabalho ou a pressão de conquistar tudo o mais rápido possível. Associados a estes fatores, pode-se adicionar a intensa rotina, naturalmente estressante, em que o homem está inserido. No âmbito experimental, vários efeitos são observados a nível sistêmico e comportamental em ratos que foram submetidos a modelos de restrição alimentar, descobrindo-se que o sistema gastrointestinal é bastante vulnerável ao estresse em geral. Em casos específicos de estresse alimentar, foi percebido que as manifestações variam de acordo com a fase de vida do animal e do modelo aplicado. Neste sentido, a presente pesquisa trata-se de um estudo experimental com a finalidade de avaliar a influência da restrição alimentar sobre a morfologia da túnica mucosa duodenal de ratos que foram submetidos a um modelo de estresse alimentar crônico. Para tanto, foram utilizados 27 animais divididos em grupo controle (n=11) e grupo teste (n=16). A partir do 60º dia de vida, o grupo teste foi submetido a quatro etapas, cada uma delas sendo realizada em um dia: 1) dieta palatável; 2) estímulo visual à dieta, porém sem acesso; 3) jejum; 4) dieta padrão do biotério. As quatro etapas se repetiram até que os animais completassem 90 dias. Na morfometria do duodeno foram analisados: comprimento, largura e área da vilosidade, bem como área da glândula intestinal (de Lieberkühn). Com base nas análises estatísticas realizadas e na comparação feita entre os grupos de animais, os dados evidenciaram que o modelo de estresse alimentar aplicado afetou a morfologia do grupo estressado, visto que as vilosidades intestinais se apresentaram mais largas e com menor área em tal grupo. O comprimento das vilosidades bem como a área das glândulas intestinais não sofreu alterações morfológicas. As alterações encontradas reforçam que o processo de jejum atua como fator estressante e fator predisponente para alterações morfológicas, como observados nos demais estudos do nosso laboratório. Contudo, não existem muitos estudos na literatura que permitem o conhecimento das consequências desse tipo de estresse. Nesse caso, são necessárias mais pesquisas acerca da relação entre trato gastrointestinal e o modelo experimental aplicado para elucidar tais descobertas.

Palavras-chave: Estresse alimentar. Intestino delgado. Estudo experimental. Restrição alimentar.

ABSTRACT

Stress was interpreted as a nonspecific response of the body against a situation that may threaten your homeostasis. Various factors of the modern world can be related to that condition: the quest for a perfect body, the dispute in the labour market or the pressure of winning everything as quickly as possible. Associated with these factors, you can add the intense routine, naturally stressful, in which the man is inserted. In the experimental field, various effects are observed at systemic and behavioral level in rats that have undergone models of food restriction, discovering that the gastrointestinal system is quite vulnerable to stress in general. In specific cases of food stress, It was realized that the manifestations vary according to the stage of life of the animal and experimental model applied. In this sense, the present research is an experimental study in order to evaluate the influence of food restriction on the morphology of the intestinal mucous tunic of rats that have undergone a chronic food stress model. 27 animals were divided in the control group (n = 11) and test group (n = 16). From the 60th day of life, the test group has undergone four stages, each one of them being performed in a day: 1) palatable diet; 2) visual stimuli to the diet, however without access; 3) fasting; 4) standard diet vivarium. The four steps were repeated until the animals complete 90 days. On small intestine morphology were analyzed: length, width and villi area, as well as the area of intestinal gland (Lieberkühn). Based on statistical analysis and a comparison is made between groups of animals, the data showed that the experimental model of food stress applied affected the morphology of the stressed group, since the intestinal villi showed much wider and less area in such a group. The villus length as well as the area of the intestinal glands not suffered morphological alterations. The changes found reinforce the process of fasting serves as a stressor and predisposing factor for morphological alterations, as observed in other studies from our laboratory. However, there are not many studies in the literature that allow the knowledge of the consequences of this kind of stress. In this case, more research is needed on the relationship between gastrointestinal tract and the experimental model applied to elucidate such discoveries.

Keywords: Experimental study. Food restriction. Food stress. Small intestine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
CAV	Centro Acadêmico de Vitória
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HHA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
SAG	Síndrome de Adaptação Geral
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SPSS	Statistical Package Social Sciences
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.2 OBJETIVOS GERAIS	13
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. JUSTIFICATIVA	14
4. REVISÃO DA LITERATURA	15
4.1 ESTRESSE: CONCEITO E CONTEXTO HISTÓRICO	15
4.2. FISIOPATOLOGIA DO ESTRESSE E SEUS EFEITOS SISTÊMICOS	18
4.3. ESTRESSE ALIMENTAR: MODELO EXPERIMENTAL E SEUS PRINCIPAIS RESULTADOS	19
4.4. INTESTINO DELGADO E ESTRESSE ALIMENTAR	21
5. MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS	23
5.2 ESTRESSE	23
5.3 EUTANÁSIA E PROCESSAMENTO BIOLÓGICO	23
5.4 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	24
5.4.1 COMPRIMENTO DA VILOSIDADE	24
5.4.2 LARGURA DA VILOSIDADE	24
5.4.3 ÁREA DA VILOSIDADE	24
5.4.4 ÁREA DA GLÂNDULA	24
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
6. RESULTADOS	26
7. DISCUSSÃO	28
8. CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

Estresse, em sua primeira definição em estudos da área da saúde, foi interpretado como uma reação inespecífica do organismo frente a uma situação que venha a ameaçar sua homeostasia (SELYE, 1936). Essa reação gera adaptações individuais e, de acordo com o fator etiológico, o organismo responde de maneira positiva ou negativa, levando ao eustresse ou distresse, respectivamente. Este último, de acordo com a Organização Mundial de Saúde, foi catalogado e reconhecido como doença em 1992 e, por apresentar grande incidência e consequências desastrosas, sobretudo no meio ocupacional, ficou conhecido como o mal do século XX (DAMBROSKI; MOURA, 2014).

Diversos fatores do mundo moderno podem estar relacionados com o estresse: a busca por um corpo perfeito, a disputa no mercado de trabalho, a necessidade recorrente de sempre ter mais e ser o melhor, a pressão de conquistar tudo o mais rápido possível. Associados a estes fatores, pode-se adicionar a intensa rotina, naturalmente estressante, em que estamos submetidos. Por conta disso, o estresse está intimamente relacionado com distúrbios psicológicos como depressão e ansiedade, onde este pode ser considerado um fator de risco para seu desenvolvimento, ou o estado mental pode influenciar respostas adaptativas do organismo, o que caracteriza o estresse (MARGIS *et. al*, 2003).

Por outro lado, a intensa divulgação da ideia de um padrão de beleza a ser seguido nos mais diversos meios de comunicação é responsável por uma incessante perseguição à autoestima dos indivíduos, levando a uma baixa aceitação da imagem corporal e deixando o indivíduo subordinado à situações extremas para conseguir o que deseja. Tal fenômeno pode ser entendido como um estímulo estressor, que pode levar ao desenvolvimento de uma série de distúrbios psicopatológicos, como anorexia, bulimia e vigorexia (PINHEIRO E FIGUEIREDO, 2012). Dessa forma, se a mudança do padrão de comportamento alimentar e estresse podem alterar o organismo a ponto de levar à uma patologia, quais consequências estariam associadas ao trato gastrointestinal, principal ator no processo de captação de nutrientes para manutenção do metabolismo corporal?

Vários efeitos são observados em nível sistêmico e comportamental em ratos que foram submetidos a modelos experimentais de restrição alimentar (GIACOMELLI; NATALI, 1999). Blundell et al. (1985) observaram que ocorre alteração no comportamento alimentar resultante de um processo de adaptação, quando um animal é submetido à alguma limitação. Além disso, é sabido que o sistema gastrointestinal é bastante vulnerável ao estresse em geral. Seus sinais e sintomas vão desde a perda do apetite a vômitos, diarreia e até irritação e

perfuração dos órgãos do sistema, como acontece no caso das úlceras gástricas (CABRAL *et al.*, 1997). Em casos específicos de estresse alimentar, foi percebido que as manifestações variam de acordo com a fase de vida do animal e do modelo experimental aplicado.

Na presença do estímulo estressor, sabe-se que o equilíbrio homeostático é ameaçado e, caso este seja de longa duração, a função do órgão pode vir a ser prejudicada. Neste sentido, a presente pesquisa justifica-se por avaliar a influência da restrição alimentar sobre a morfologia da túnica intestinal de ratos que foram submetidos a um modelo de estresse alimentar crônico.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Observar os efeitos do estresse alimentar sobre a histomorfometria do duodeno de ratos adultos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a área das glândulas e vilosidades intestinais;
- Analisar através da morfometria o comprimento e largura das microvilosidades intestinais.

3. JUSTIFICATIVA

O ritmo do mundo moderno exige da sociedade uma busca infinita por melhorias, levando os indivíduos a uma constante caçada para se enquadrar dentro de um “mundo ideal”. De acordo com Pinheiro e Figueiredo (2012), a partir da década de 90 e com a globalização em alta, a cultura capitalista com grande influência midiática passou a priorizar e valorizar apenas um padrão corporal, onde as pessoas eram consideradas bonitas se fossem altas, brancas e, sobretudo, magras. Tal estereótipo era associado à felicidade, poder, saúde e sucesso. A principal consequência da propagação desse pensamento é a adoção de hábitos alimentares errôneos, frequentemente acompanhados de restrições alimentares severas e sem o acompanhamento de um profissional capacitado.

Por outro lado, milhares de pessoas passam por essa restrição por falta de condições de se alimentar. Sendo assim, à proporção que a indústria lança a cada dia novos produtos com alto teor palatável, alimentando o sistema capitalista e indo contra uma alimentação saudável, aquele indivíduo que está em restrição alimentar não consome os alimentos, porém, ao receber estímulos sensoriais cria um desejo que não será suprido, gerando um estresse de origem alimentar. Seria a restrição alimentar e a oferta de dieta conhecidamente palatável, mas sem acesso, um potencial fator para alterações morfológicas e funcionais?

Tal situação estressante também pode ser percebida na rotina de estudantes universitários, que devido às exigências do meio acadêmico, adotam um hábito alimentar pobre, escasso em qualidade nutricional, por conta da falta de tempo para realizar refeições ou até mesmo por falta de condições financeiras. Por muitas vezes, tais estudantes passam por momentos de restrição involuntária a fim de atingir um melhor desempenho na universidade.

Sendo assim, é necessário descobrir e compreender quais complicações, através da reprodução de um modelo de estresse alimentar semelhante ao vivido por essas pessoas, ou seja, uma dieta altamente restritiva, com estímulo visual, porém sem acesso, pode causar na morfofisiologia do intestino delgado.

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 ESTRESSE: CONCEITO E CONTEXTO HISTÓRICO

O termo estresse vem sendo discutido na literatura há menos de 100 anos, quando o então endocrinologista Hans Selye, em 1936, introduziu o conceito da palavra como “reação inespecífica do organismo frente a qualquer exigência”. Todavia, é sabido que essas reações acontecem desde o início da civilização, quando o homem se viu na necessidade de caçar, plantar e buscar o necessário para sobreviver, expondo-se a riscos e perigos que geravam uma resposta adaptativa diante de situações não rotineiras. Apesar do termo estresse ainda não ser utilizado, as reações fisiológicas a essas agressões já eram conhecidas (STOCCO; DE LARA BORTOLUZZI, 2011).

Com a evolução das formas de trabalho, o homem sai de um padrão em que buscava apenas a sua sobrevivência e passa a servir como mão de obra para os sistemas econômicos que se estabeleceram ao longo dos anos. A partir da Revolução Industrial, a grande maioria da população abandona o campo e passa a viver na cidade, refém de uma intensa jornada de trabalho. Na era digital, imaginava-se que “o desenvolvimento tecnológico viria para facilitar a vida do homem”, tornando-o mais disponível para o lazer, porém, uma rotina sedentária e desgastante foi o principal reflexo dessa evolução tecnológica (RIO, 1995 *apud* ARALDI-FAVASSA; ARMILATO; KALININE, 2005).

A indispensabilidade do homem de trabalhar para gerar uma força de trabalho e alimentar esse sistema, associada a uma busca incessante pelo aperfeiçoamento profissional e realização pessoal, gera a necessidade de constante evolução nas técnicas empregadas num ritmo diferente do organismo, sem que este consiga responder à demanda solicitada, causando um desequilíbrio negativo, o qual é chamado de estresse, ou mais especificamente, distresse (BACHION *et. al*, 1998; STOCCO; DE LARA BORTOLUZZI, 2011).

Ao longo de décadas de pesquisa, o termo estresse foi sendo inserido e abordado no meio científico, levantando discussões e polêmicas acerca do seu conceito. Desde Selye, o primeiro a introduzir a definição do termo, até os dias atuais, a palavra estresse vem sendo amplamente utilizada, contudo, não existe um significado uniformemente aceito.

De acordo com Bicho (2007, p. 4):

“Este termo provém do verbo latim *stringo*, *stringere*, *strinxi*, *strictum* que tem como significado apertar, comprimir, restringir. A expressão existe na língua inglesa desde o século XIV e vem sendo utilizada, durante bastante tempo, para exprimir

uma *pressão* ou uma *contração* de natureza física. Apenas no século XIX o conceito se alargou para passar a significar também as pressões que incidem sobre um órgão corporal ou sobre a mente humana.”

Cabral et. al (1997) definem estresse como “um grau de desgaste no corpo e da mente, que pode atingir níveis degenerativos”. Santos e Santos (2005) pactua com essa definição, complementando que esse desgaste pode ser gerado frente a situações difíceis ou excitantes, manifestando-se por meio de sintomas físicos e psicológicos, e estes podem variar de acordo com cada indivíduo, afetando o organismo das mais diferentes maneiras, de acordo com seu respectivo equilíbrio mental, físico e emocional. Assim, o estresse pode ser considerado como um mecanismo de defesa do organismo para lidar com fatores potencialmente estressores, tendo como principal causa “[...] o ritmo acelerado da vida moderna e os desafios crescentes de um mundo cada vez mais hostil e competitivo”, como descrito por Martucci, Peron e Vicentini (2012).

Tais fatores podem ser associados à diversas condições do mundo moderno, podendo ser de fontes externas ou internas. São condicionantes externos tudo aquilo que ocorre fora do nosso organismo: profissão, condições climáticas, discussões, perdas e falecimentos. Em contrapartida, os fatores internos são todos aqueles que são intrínsecos ao indivíduo: emoções, religiosidade, valores, pensamentos, modo de ser e agir. Ambos os fatores combinados com a história de vida de cada pessoa, sua vulnerabilidade, enfrentamento e genética, podem a vir desencadear o estresse individual (LIPP, 1996). Os fatores são tão variados que quase tudo na vida pode representar um agente estressante, sendo o dia-a-dia um constante processo adaptativo (MARTUCCI; PERON; VICENTINI, 2012).

Atualmente, o estresse é um assunto que tem despertado a preocupação de médicos, psicólogos, profissionais de recursos humanos, especialistas em organização do trabalho no mundo inteiro e grande interesse nas pesquisas a fim de se identificar as causas e seus métodos de redução, pois além de ser considerada a principal doença do século XX, fator de desenvolvimento de inúmeras doenças e baixa qualidade de vida, está relacionado também com a baixa produtividade do ser humano. Assim, é de grande interesse o estudo dos fatores responsáveis por interferir no nível de estresse e da qualidade de vida, com o objetivo de promover saúde mental, favorecer a produtividade e o bem-estar físico e mental da população (SADIR; BIGNOTTO; LIPP, 2010; MARTUCCI; PERON; VICENTINI; 2012).

Ainda assim, o termo estresse pode ser utilizado para definir algo diferente do significado negativo já disseminado. Quando a resposta ao estímulo estressor se der de

maneira positiva, permitindo um melhor funcionamento organizacional, através de desafios e mobilizações, é chamado de “eustresse”. É o que ocorre no esporte e no trabalho, por exemplo (CÔRREA; MENEZES, 2002). Diante disto, um estresse significativo e de curta duração, seria o ideal para gerar motivação e insuficiente para gerar reações adversas e ser nocivo ao indivíduo (BACHION *et. al*, 1998). Em contrapartida, a reação negativa ao estímulo pode vir a gerar o distresse, que de acordo com a mesma autora, “estaria vinculado à ausência ou excesso de estímulos (pressões). No primeiro caso o indivíduo cairia na desmotivação e tédio, no segundo, experimentaria opressão e exaustão, o que seria contraproducente”.

De acordo com as pesquisas realizadas por Selye e seus colaboradores, os fatores fisiológicos e eventos patológicos podem estar relacionados. Independente da natureza do estímulo e resposta positiva ou negativa, o padrão básico de reação é sempre o mesmo, sendo chamada de Síndrome de Adaptação Geral (SAG). Além das reações específicas de defesa, que envolve a formação de anticorpos, adaptação ao frio e hipertrofia muscular, ocorrem reações a nível sistêmico e não específicas, caracterizando a SAG (SELYE, 1950). Tal síndrome se desenvolve em três fases:

- 1) reação de alarme;
- 2) fase de resistência e;
- 3) fase de exaustão.

A exposição súbita a estímulos ao qual o organismo não está adaptado, seguidas de reações sistêmicas e não específicas, caracteriza a *reação de alarme*. As respostas dessa fase podem ser primárias, ou seja, decorrentes da lesão em si; ou secundárias, quando constituem processos de adaptação. Em seguida, quando há continuidade do agente agravante, ocorre a *fase de resistência*, onde há uma tentativa de adaptação do organismo ao agente estressor, na intenção de restauração do equilíbrio. Por fim, a *fase de exaustão* acontece quando o organismo não mais consegue ter respostas adaptativas àquele estímulo prolongado (FLOSI, 1947). Além desse padrão básico de reação, cada estressor pode vir a apresentar ações específicas, intensificando os efeitos da síndrome (SELYE, 1950). O autor ainda afirma que grande parte das reações de alarme (por exemplo: erosões gastrointestinais, catabolismo e hipoglicemia) desaparecem na fase de resistência e voltam a aparecer na fase de exaustão, provando a capacidade de adaptação finita do organismo, relacionada diretamente com os fatores genéticos.

4.2. FISIOPATOLOGIA DO ESTRESSE E SEUS EFEITOS SISTÊMICOS

Independente da origem do agente estressante, seja este físico ou psicológico, o corpo tem seu equilíbrio modificado, gerando alterações estruturais e químicas no organismo, o que envolve vários sistemas, através do aumento da síntese e liberação de hormônios e neurotransmissores (CORRÊA; MENEZES, 2002; FONSECA; GONÇALVES; ARAÚJO, [2015?]).

De acordo com Zuardi (2014), “as respostas ao estresse são mediadas pelo sistema nervoso autônomo (SNA) e pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), com ações complementares através de todo o organismo”.

A glândula suprarrenal, ou adrenal, é uma das regiões mais afetadas durante o estado de estresse, devido à produção e secreção de hormônios secretados pela sua camada cortical e região medular (CABRAL *et. al*, 1997). Assim que o indivíduo é exposto ao agente estressor, os neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo são ativados, havendo a produção e liberação de neurohormônios, como por exemplo: dopamina, norepinefrina e hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Este último é secretado próximo à glândula hipófise e age na mesma promovendo a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que atua no córtex das glândulas adrenais e causa a liberação de seus hormônios, os corticoides e as catecolaminas (ZUARDI, 2014; CORRÊA; MENEZES, 2002).

As catecolaminas são produzidas pela camada medular da suprarrenal, e estas são responsáveis pela produção de hormônios (adrenalina e noradrenalina) que são liberados principalmente em respostas simpáticas, tanto nos estresses físicos quanto emocionais. Essa liberação ocorre em situações emergenciais e de estresse, promovendo aumento da frequência cardíaca, pressão arterial e fluxo sanguíneo para músculos ativos, entre outros efeitos, promovendo um melhor desempenho do que o possível em outras circunstâncias (CABRAL *et al*, 1997).

O córtex da suprarrenal possui a função de secretar os corticosteroides, divididos em: glicocorticoides, mineralocorticoides e andrógenos. Apenas o primeiro tem importância primária na resposta ao estresse, sendo capaz de aumentar a taxa de produção de glicose por meio da gliconeogênese (CABRAL *et al*, 1997). Na sua composição, o principal tipo de glicocorticoide que se encontra é o cortisol, que aumenta consideravelmente logo após a ativação do eixo HHA, tendo como principal consequência a imunossupressão, visto que a ligação deste hormônio a receptores de leucócitos que promovem a resposta inflamatória aumentam, enquanto a ligação entre leucócitos que disparam a resposta imune diminuem (BAUER, 2002).

Além da influência sobre o sistema imune, diversos prejuízos podem ser observados nos demais sistemas. De acordo com Cabral *et al* (1997), pessoas que trabalham em ambientes tensos e desajustados, além de frustrações constantes, tem uma maior incidência de úlceras gástricas registradas. Ademais, foi registrado que pacientes em estresse liberam uma quantidade expressivamente maior de hormônios digestivos pépticos na urina, o que reflete uma alta produção de suco gástrico em consequência de tensões emocionais e, sendo este ácido e estando o corpo fora do estado de homeostase, a resposta seria o desenvolvimento de úlceras.

Ainda de acordo com a autora, pacientes cancerosos em situações de estresse podem se tornar ainda mais fragilizados, visto que, a produção desenfreada de células anormais pode suprimir o sistema imunológico, abalando as defesas do organismo contra o câncer e demais enfermidades. Bauer (2002) cita que o desenvolvimento e a progressão do câncer tem íntima relação com o estresse, respaldado por estudos que mencionam que essa condição acelera o crescimento de tumores.

No sistema cardiovascular, a liberação de adrenalina na circulação em casos de estresse agudo produz aumento da contratilidade e frequência cardíaca, além de redistribuição do fluxo sanguíneo (ZUARDI, 2014). O autor afirma que o aparecimento de doenças cardiovasculares como a hipertensão arterial, é justificado pela persistência da condição de estresse, podendo levar ao aumento da incidência de infarto agudo do miocárdio e morte súbita por arritmia ventricular. Estudos analisados por Nóbrega, Castro e Souza (2007) reafirmam essa relação, evidenciando que estes desfechos clínicos acontecem principalmente em homens com baixo poder aquisitivo.

Sendo assim, quando o estresse se prolonga para além da fase de adaptação, a homeostase é comprometida, gerando o aparecimento de várias doenças emocionais, metabólicas e crônicas, com maior frequência no sexo feminino. Além disso, há a depressão da imunidade, em especial dos linfócitos T, por meio da ação do cortisol, tendo como consequência o aumento da susceptibilidade à infecções e agravamento no curso das mesmas (ZUARDI, 2014; FONSECA, GONÇALVES, ARAÚJO, [2015?]).

4.3. ESTRESSE ALIMENTAR: MODELO EXPERIMENTAL E SEUS PRINCIPAIS RESULTADOS

O estresse alimentar, por meio de restrição calórica da dieta, é uma das operações mais utilizadas em estudos com animais de laboratório. Essa técnica é utilizada a fim de se investigar o alimento como estímulo reforçador do comportamento investigado

(TOMARANI; PINE; SILVA, 2003). De acordo com os mesmos autores, antes de qualquer procedimento experimental ser realizado, os animais são pesados a fim de se obter o peso *ad lib*, com o objetivo de ser utilizado como parâmetro em relação ao peso de privação (originário da limitação calórica ou hídrica, e que reforça o valor da mesma sobre os resultados encontrados).

Em busca de respostas às mais variadas perguntas, existem uma série de estudos científicos que induzem a carência nutricional. Estes são frutos de uma pluralidade de modelos experimentais, que variam desde o período, a condição laboratorial e a metodologia aplicada, no qual se pode destacar: redução da quantidade alimentar, desmame precoce, redução do teor proteico da dieta, ingestão de dieta líquida, insuficiência vascular etc (GIACOMELLI; NATALI, 1999).

Os efeitos da desnutrição agregados aos modelos experimentais são expressos em todas as fases da vida, através de modificações enzimáticas, bioquímicas, comportamentais como redução do peso corporal e perda de pelos, e alterações estruturais em diversos órgãos tendo como exemplo cérebro, rins, pele e coração. Há uma extensa variabilidade nos resultados encontrados, em função dos diferentes períodos de vida em que foi provocada a carência e seu respectivo tempo de duração, porém, a lactação e gestação dos animais são considerados os períodos de maior prejuízo, pois nestes ocorrem intenso crescimento e desenvolvimento celular (GIACOMELLI; NATALI, 1999). A desnutrição intra-uterina, por exemplo, pode vir a acarretar sérios danos para os filhotes, que apresentam peso, comprimento do corpo e do intestino menores, com possível recuperação somente após a lactação, e que ainda assim não se equivalem ao desenvolvimento dos filhotes de mães nutridas (GURMINI *et al*, 2005).

Estudos de Almeida et al (2011) com vinte oito ratos em modelos experimentais diversos mostram que, uma dieta hipercalórica associada com uma fonte estressora (neste caso, a música) foi capaz de aumentar os níveis séricos de colesterol total e lipoproteínas de alta densidade (HDL). O contrário, ou seja, a intensa carência de proteínas, causou alteração global na parede do intestino, especialmente na espessura das túnicas mucosa e muscular do íleo, segundo estudo realizado em animais com diferentes concentrações proteicas na dieta (26% e 4%) por Azevedo et. al (2007). Houve também mudanças na morfologia do enterócito, no que diz respeito à sua altura e ao tamanho do núcleo, que apresentou um diâmetro maior que o normal.

Na tentativa de analisar possíveis alterações do metabolismo glicídico no músculo estriado de ratos desnutridos, por meio de dieta hipoproteica (6%) e normoproteica (17%), foi percebido que nas condições estudadas, a restrição imposta desde o desmame até a vida adulta

não comprometeu o metabolismo da glicose, porém foi capaz de interferir no crescimento, visto que os animais em teste pesaram menos que os animais do grupo do controle, além da redução dos níveis séricos de glicose, albumina e proteínas totais (CHAVES; MELLO, 2009).

A ampla utilização de animais de laboratórios em experimentos que visam comprovar o efeito das carências nutricionais é válida, pois, no geral, seus resultados estão bem próximos aos encontrados no metabolismo de humanos desnutridos. Os processos fisiológicos e bioquímicos que envolvem a desnutrição geram uma expectativa para serem compreendidos, o que justificam os diversos modelos aplicados. Ou seja, não existe um modelo ideal de experimentação, e sim o mais adequado a cada objetivo. Cabe ao investigador realizar uma avaliação cuidadosa dos parâmetros utilizados e resultados obtidos, a fim de evitar extrapolações e generalizações duvidosas (GIACOMELLI; NATALI, 1999).

4.4. INTESTINO DELGADO E ESTRESSE ALIMENTAR

O intestino delgado é um dos órgãos componentes do trato gastrointestinal, um tubo oco composto por uma série de estruturas que se inicia na boca e finaliza no ânus. A absorção de nutrientes e água é a principal função desse sistema, que através de uma sequência de processos fisiológicos (motilidade, secreção, digestão e absorção) garante ao organismo moléculas que permitem o seu funcionamento (KOEPPEN et al., 2009). O intestino delgado, composto por duodeno, jejuno e íleo, é o componente de maior destaque, pois nele ocorrem processos fundamentais como a degradação dos alimentos e absorção dos nutrientes, fases decisivas do processo digestivo (ROCHA et al., 2013).

É no duodeno que chega o alimento parcialmente digerido do estômago, recebendo as secreções biliares através do ducto biliar e pancreática que vem por meio do ducto pancreático (YOUNG et al., 2007).

No que se refere à microscopia do intestino delgado, tal órgão caracteriza-se pela presença projeções digitiformes chamadas de vilosidades (ou vilos) por toda a extensão de sua camada mucosa, sendo estas mais longas no duodeno e tornando-se mais curtas à medida que chegam ao íleo. Tais estruturas são revestidas pelo epitélio intestinal, sendo este composto por uma variedade de células, podendo-se exemplificar os enterócitos, células caliciformes e células de Paneth. Histologicamente, uma característica inerente ao duodeno que o diferencia das demais porções é a intensa presença de glândulas tubulosas mucosas enoveladas e ramificadas, conhecidas como glândulas de Brunner. Estas tem a abertura dos seus ductos voltada para as criptas intestinais, que são glândulas dispostas entre cada uma das vilosidades.

Tanto as criptas quanto as vilosidades possuem a função de aumentar a superfície de absorção por toda a extensão do intestino delgado (YOUNG et al., 2007).

Por sua camada mucosa possuir a capacidade de renovar-se a cada dois dias, o intestino delgado é considerado um tecido de alta renovação celular. Nessa camada ocorrem atividades que variam sua intensidade de acordo com o período da vida: algumas são altas no nascimento e regredem com o passar dos dias (ex. lactose); outras são baixas no nascimento e aumentam sua atividade posteriormente (ex. maltase). Alterações na morfologia na mucosa do intestino delgado, como causado por algumas carências nutricionais, podem comprometer o funcionamento de tal camada. Sendo assim, diversos pesquisadores se dedicam a investigar e compreender essas alterações (GIACOMELLI; NATALI, 1999).

Além das funções digestivas, é importante destacar a atividade do intestino no sistema imunológico. A nutrição exerce grande influência nesse processo de modulação da imunidade, sobretudo nos momentos de jejum, pois é nesse momento que ocorrem alterações na superfície intestinal e que podem implicar numa queda da imunidade, visto que a barreira intestinal é um dos componentes primordiais para a execução bem sucedida da função imune do órgão (FONSECA, 2011).

Diversos estudos buscam identificar e avaliar os principais efeitos do jejum e estresse no intestino delgado e comportamento alimentar de mamíferos roedores. Dou et al. (2001), ao avaliar o remodelamento intestinal em ratos jejuados por uma semana e realimentados em seguida, verificou uma diminuição de até 40% da massa intestinal e alteração estrutural na vilosidade, cripta e profundidade da mucosa, sendo normalizados no período de realimentação, enquanto Lara-Padilla et al. (2015) percebeu o jejum intermitente como fator responsável na diminuição de IgA no duodeno e íleo, além de modular a transcrição de citocinas produtoras de IgA e pró-inflamatórias no íleo.

Em modelos experimentais que permitem uma condição de alimentação, realimentação e jejum, como feito por Martins et al. (2001), foi observado uma degeneração frequente nas células epiteliais dos animais em teste. A realimentação foi capaz de sanar a degeneração nas células do duodeno, mas o mesmo não ocorreu no jejuno. As mudanças morfológicas se mostraram aparentes, com destaque para a fragmentação das microvilosidades e a apresentação em formas variadas. Santos (2015); Xavier (2015) e Miguel (2013) também observaram importantes alterações em órgãos do sistema nervoso e endócrino ao utilizar um modelo experimental idêntico ao desta pesquisa.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Este trabalho foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE e aprovado (sob o número de Protocolo 23076.020781/2011-31). Foi utilizado o intestino delgado de ratos albinos da linhagem Wistar provenientes do biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Tais animais foram mantidos no Biotério do Centro Acadêmico de Vitória, com condições adequadas de temperatura e umidade e água e ração *ad libitum*. Logo após, eles foram acasalados na proporção de um macho para duas fêmeas. Um dia após o nascimento, os filhotes de várias fêmeas foram randomizados, sendo realizada a sexagem, permanecendo 8 filhotes machos por maternidade. Aos 60 dias de vida, os grupos experimentais foram divididos em dois grupos: grupo controle (N=11) e grupo estresse (N=16).

5.2 ESTRESSE

Aos 60 dias de vida os animais foram expostos ao estresse alimentar perdurando até os 90 dias de vida quando houve o sacrifício. No 60º dia os animais receberam inicialmente uma dieta palatável e densamente calórica a base de labina e nutella (creme de chocolate com avelã) por 3 dias consecutivos para adaptação a dieta. Após um dia de descanso foram iniciadas as sessões de estresse. No primeiro dia os animais receberam a mesma dieta palatável durante 1 hora. No segundo dia, os animais receberam o mesmo estímulo alimentar, porém a dieta esteve em um recipiente que permita um estímulo visual e olfatório, sem os animais terem acesso ao consumo da dieta. No terceiro dia, os animais ficaram em jejum por 24 horas. No quarto dia, receberam a dieta padrão do biotério e foi considerado como um dia de descanso. As quatro etapas se repetiram até que os animais completassem 90 dias.

5.3 EUTANÁSIA E PROCESSAMENTO BIOLÓGICO

No 91º dia de vida, os animais foram anestesiados e em seguida perfundidos com formol a 10% neutro tamponado (NBF 10%) e então necropsiados. Para tanto, inicialmente foi realizada uma incisão abdominal longitudinal na linha média para expor os órgãos internos. O intestino delgado foi removido com auxílio de um bisturi e mergulhado em solução NBF a 10% por 48 horas para fixação. Após esse período, o material foi conservado em etanol a 70% e glicerinado a 5%. O material coletado foi desidratado em soluções crescentes de álcool etílico (70%, 80%, 90% e dois banhos a 100%), diafanizados em dois

banhos de xilol, impregnados e incluídos em parafina. Os blocos obtidos foram cortados em 4µm de espessura e submetidos a coloração com hematoxilina-eosina e analisados sob a microscopia de luz.

5.4 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

As imagens histológicas destas lâminas foram capturadas por câmera digital “Moticam 2300 3.0M Pixel USB 2.0” acoplada ao microscópio óptico modelo “Olympus CX22”, sob foco fixo e clareza de campo, obtendo-se 10 campos por lâmina com aumento final de 400X. As fotomicrografias foram avaliadas através do software ImageJ versão 1.44 (Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.), onde foram analisados comprimento, largura e área das microvilosidades intestinais, e a área das glândulas intestinais. Para o estudo foram escolhidas as estruturas íntegras das lâminas, sendo medidas de tal forma:

5.4.1 COMPRIMENTO DA VILOSIDADE

Dez vilosidades íntegras de cada lâmina (ou seja, sem dobras ou fora do padrão esperado), com porção superior, média e inferior contínuas, sendo traçada uma linha reta com o cursor do computador desde o centro da porção inferior até o ápice da vilosidade;

5.4.2 LARGURA DA VILOSIDADE

Dez vilosidades íntegras de cada lâmina (ou seja, sem dobras ou fora do padrão esperado), sendo traçada uma linha reta com o cursor do computador na porção média de cada vilosidade;

5.4.3 ÁREA DA VILOSIDADE

Dez vilosidades íntegras de cada lâmina (ou seja, sem dobras ou fora do padrão esperado), sendo traçada uma linha ao redor de toda a estrutura com o cursor do computador;

5.4.4 ÁREA DA GLÂNDULA INTESTINAL (DE LIEBERKÜHN)

Dez glândulas íntegras de cada lâmina (ou seja, sem dobras ou fora do padrão esperado), sendo traçada uma linha ao redor de toda a estrutura com o cursor do computador.

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados em planilha Excel e analisados estatisticamente através do software SPSS (Statistical Package Social Sciences) 15.0. Inicialmente, foi feito o teste de Kolmogorov-Smirnov, para indicar a condição de normalidade dos dados coletados. Em seguida foi feito o teste U de Mann-Whitney, um teste não paramétrico para comparação entre os grupos. Nesse teste, o valor de $p < 0,05$ indicou significância estatística.

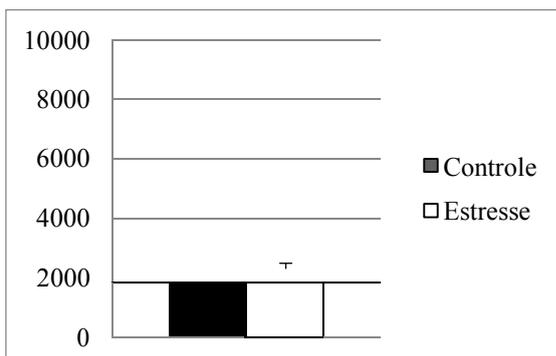
6. RESULTADOS

Com base na comparação feita entre os grupos de animais, não houve diferença estatística ($p = 0,998$) entre a área das glândulas intestinais (de Lieberkühn) (μm^2) dos animais do grupo controle ($2427,49 \pm 1515,81$) e os animais do grupo estresse ($2287,92 \pm 1143,35$). Entretanto, houve diferença estatisticamente relevante ($p = 0,002$) entre a área da vilosidade intestinal (μm^2) entre os dois grupos de animais, como exposto na Figura 1-B. Os animais do grupo estresse ($9901,77 \pm 5810,86$) apresentaram uma microvilosidade com área menor em relação ao grupo controle ($13099,85 \pm 7968,56$).

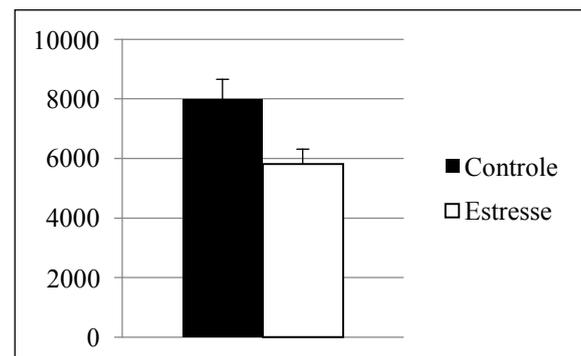
Ao analisar a diferença entre comprimento e largura das vilosidades intestinais entre os grupos, observou-se diferenças estatísticas apenas entre a largura das vilosidades. Em relação ao comprimento, as vilosidades do grupo controle ($251,03 \pm 95,40$) não apresentaram uma relevância estatística ($p = 0,091$) quando comparadas ao grupo ao grupo estresse ($237,94 \pm 97,70$). Quanto à largura das microvilosidades, os valores entre o grupo estressado ($93,82 \pm 53,67$) e o grupo controle ($77,58 \pm 41,60$) apontam uma diferença significativa ($p < 0,001$), sendo as vilosidades intestinais dos ratos estressados mais largas que as estruturas do grupo controle. Tais resultados podem ser observados na Figura 1-C e 1-D.

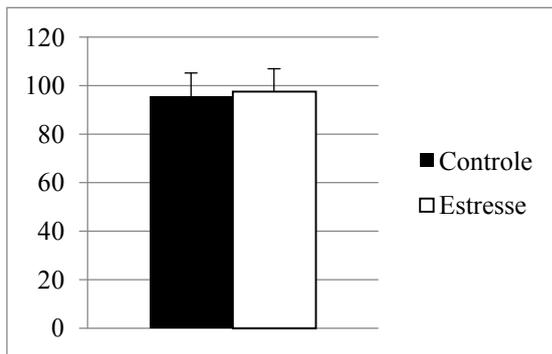
Figura 1. Efeito do estresse alimentar crônico sobre a área das glândulas intestinais (1-A) e vilosidades intestinais (1-B) em μm^2 , nos grupos controle e estresse. Média do comprimento da vilosidade intestinal (1-C) e largura da vilosidade intestinal (1-D) em μm , nos grupos controle e estresse. Os animais foram submetidos a um protocolo de estresse alimentar a partir do 60º dia de vida. Nos três primeiros dias, os animais receberam inicialmente uma dieta palatável e densamente calórica a base de labina e nutella (creme de chocolate com avelã) para adaptação a dieta. Após um dia de descanso foram iniciadas as sessões de estresse. No primeiro dia os animais receberam a dieta palatável durante 1 hora. No segundo dia, os animais receberam a dieta palatável, porém sem acesso ao consumo, mas recebendo estímulo visual e olfativo. No terceiro dia, os animais ficaram em jejum por 24 horas. No quarto dia, receberam a dieta padrão do biotério, sendo considerado um dia de descanso. As quatro etapas se repetiram até que os animais completassem 90 dias. Os dados estão expressos em média \pm erro padrão. (*) diferença entre o grupo estresse e o grupo controle (Teste U de Mann-Whitney com valor de significância $p < 0,05$).

A

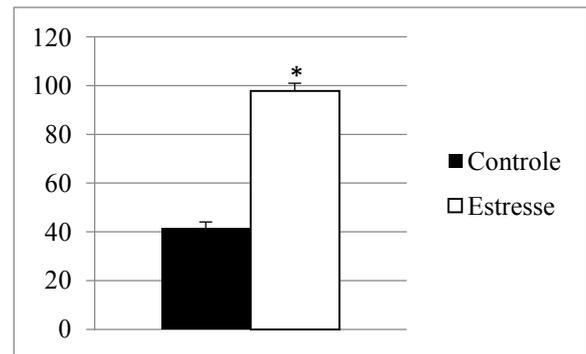


B





C

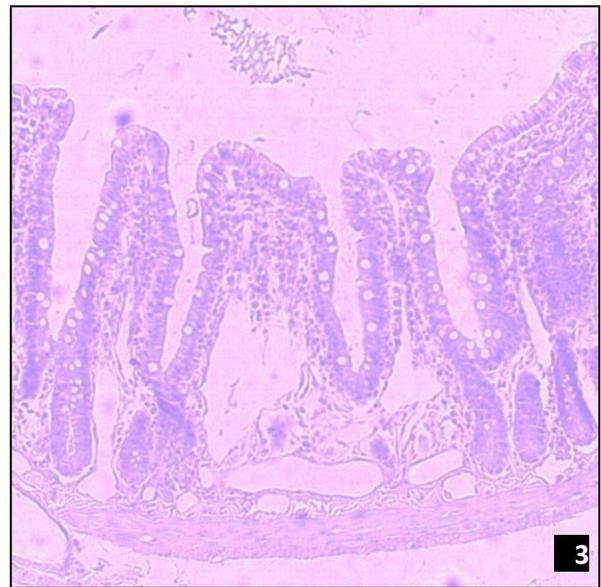
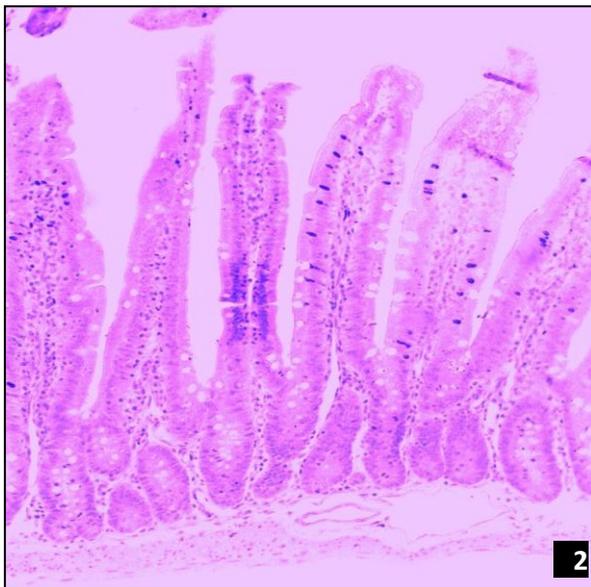


D

Quando comparados os dois grupos, os dados expostos evidenciam que o modelo experimental de estresse alimentar aplicado afetou a morfologia do grupo estressado (Figura 2), tornando a mais larga em relação ao grupo em consumo da dieta padrão, visto que as vilosidades destas possuíam maior comprimento e menor largura, o que implicou diretamente na área da vilosidade, que se apresentou maior no grupo controle (Figura 3) e menor no grupo teste. A área das glândulas intestinais não sofreu alterações morfológicas.

Figura 2. Fotomicrografia da túnica mucosa intestinal do grupo controle (fotomicrografia com objetiva de 10X).

Figura 3. Fotomicrografia da túnica mucosa intestinal do grupo teste (fotomicrografia com objetiva de 10X).



7. DISCUSSÃO

O presente trabalho analisou, através de um protocolo experimental de estresse alimentar crônico, a alteração microscópica da mucosa intestinal. Os ratos submetidos ao estudo foram expostos a um modelo de estresse que proporcionou o estímulo visual e olfativo, porém sem acesso, a uma dieta palatável durante 90 dias, alternado a períodos de jejum e períodos com pouco tempo de acesso à dieta palatável. Tal modelo promoveu mudanças na largura e área das vilosidades intestinais, sem alteração no seu comprimento e nas glândulas intestinais. A análise morfométrica utilizada para examinar os efeitos da restrição na mucosa intestinal, se mostra de extrema importância para uma avaliação eficiente de parâmetros quantitativos e não apenas qualitativos (TRAMONTE et al., 2004).

A metodologia utilizada procurou representar o padrão atual da sociedade, onde a magreza é reconhecida como um ideal a ser atingido. Na incessante busca para chegar a esse padrão e sem o acompanhamento de um profissional habilitado, muitas pessoas passam por restrições alimentares severas, porém, recebem estímulos diariamente através de situações caracterizadas como estressantes, como por exemplo, propagandas na televisão e demais meios de comunicação e o convívio com pessoas que seguem uma dieta normal. A dificuldade em seguir a restrição alimentar faz com que o indivíduo não resista aos estímulos, ingira um produto de alto teor calórico e em seguida volte ao estado de privação, caracterizando um ciclo estressante. Regimes alimentares que combinam períodos de privação alimentar e realimentação *ad libitum* também podem ser identificados nos modelos de jejum intermitente (SANTOS, 2017).

Tal situação também pode ser observada em indivíduos que não possuem condições de nutrir-se adequadamente todos os dias, passando por longos períodos de restrição alimentar combinados com momentos de ingestão, caracterizando um estresse de origem alimentar. Essa condição pode se fazer presente tanto por falta de condições financeiras ou por escassez de tempo, como acontece na rotina de estudantes universitários.

Em pesquisas anteriores do nosso laboratório, que utilizaram o modelo experimental de estresse idêntico ao deste estudo, foram observadas alterações significativas em diversos órgãos: no cerebelo, foi verificado aumento no número de neurônios em sua camada granulosa (SANTOS, 2015), sendo a mesma condição observada nas células granulares do giro denteado do hipocampo dos animais submetidos ao experimento (MIGUEL, 2013). Ao estudar o córtex das glândulas adrenais, Xavier (2015) observou significativas alterações nas três camadas: as zonas glomerulosa e fasciculada apresentaram hiperplasia, ao contrário da zona reticular que mostrou uma diminuição considerável no número de células.

A compreensão das principais complicações causadas pela subnutrição tem sido possível através dos estudos experimentais, todavia a grande maioria dos estudos induz o modelo de desnutrição proteica nos animais e não um estresse alimentar específico, como o empregado na presente pesquisa. Porém, é sabido que o estresse causado pela desnutrição nas diversas fases de vida é um fator relevante para a alteração da morfologia intestinal, como evidenciado em vários estudos com ratos desnutridos (AZEVEDO et al., 2007; GURMINI, 2005; HERMES, 2008; MADI; CAMPOS, 1975; MELLO, 2004).

Sabe-se que dietas hipoprotéicas podem levar à diminuição do comprimento da vilosidade e atrofia epitelial, além de grande diminuição das células da lâmina no íleo (MADI; CAMPOS, 1975). A importante diminuição da área das vilosidades observada, que culminou na mudança significativa de sua largura, tornando-as menores e mais largas em relação ao grupo controle, pode ser observada em estudos voltados à essa abordagem (vista como uma ameaça a homeostasia, logo, um fator estressante), como observado por Azevedo et al. (2007), que identificou efeitos macroscópicos e microscópicos no intestino delgado de ratos submetidos à intensa carência de proteínas, o que sugere que a deficiência de um nutriente pode vir a alterar a morfologia intestinal, como aconteceu na presente pesquisa. Nesse estudo, houve redução do peso do peso corporal dos animais estudados, assim como da parede intestinal do íleo e as estruturas que o compõem. Em filhotes de mães desnutridas, foi verificado que aqueles que possuem baixo peso ao nascer apresentam medidas morfométricas inferiores ao normal para sua idade, além de apresentar subdesenvolvimento após a lactação (GURMINI et al., 2005).

Sabe-se que a capacidade digestiva do intestino é ameaçada quando ocorrem alterações em sua camada mucosa – como ocorre em situações de carências nutricionais –, sobretudo na morfologia de suas células (GIACOMELLI; NATALI, 1999). Em animais que foram submetidos ao jejum, observou-se perda de peso do intestino delgado (53%) maior que a perda corporal (23%), além de diminuição de RNA, proteína e total de água nas células (STEINER et al. 1968). O jejum também provocou diminuição dos níveis de colecistoquinina no plasma e no duodeno, sendo os níveis reestabelecidos após o processo de realimentação (KOOP et al. 1987). Sendo assim, esses achados sustentam a ideia de que a fisiologia animal, sobretudo a intestinal, foi fortemente alterada nos animais submetidos ao experimento.

Modelos experimentais semelhantes ao da presente pesquisa, que utilizaram uma combinação do processo de jejum e realimentação para promover um estresse crônico e avaliaram seus respectivos efeitos no intestino delgado, verificaram que a privação alimentar induziu o aumento da apoptose e a diminuição da proliferação celular em ratos completamente em jejum. Nos animais que foram realimentados observou-se a condição contrária, ou seja, houve aumento da proliferação celular e diminuição da apoptose

(MARTINS; HIPÓLITO-REIS; AZEVEDO, 2001).

Lara-Padilla et al. (2015) combinaram o jejum intermitente e uma fonte estressante – nesse caso, o nado forçado – e identificou que a combinação desses fatores foi responsável pela diminuição de Imunoglobulina A (IgA) no duodeno e íleo, além de modular a transcrição de citocinas pró-inflamatórias e produtoras de IgA no íleo. Em animais que passaram por um curto período de jejum, a principal consequência foi a diminuição da massa dos segmentos intestinais, ficando percebido que o intestino delgado é extremamente sensível à retirada de alimentos (DOU et al., 2001). Nesse mesmo estudo, a massa perdida foi reganha durante o período de realimentação (com maior rapidez no duodeno e jejuno), bem como a altura da vilosidade, a profundidade da cripta e a espessura da mucosa também foram recuperadas.

Em animais que sofreram um processo induzido de estresse psicológico, observou-se que o estresse foi o responsável pela promoção da ansiedade nos ratos, enquanto a oferta de dieta palatável cancelou os efeitos do estresse, agindo como ansiolítico (PAULA, 2010). Portanto, a ingestão de alimentos palatáveis é responsável por diminuir o nível de glicocorticoides, consequentemente diminuindo as respostas ao estresse, porém aumentando a propensão ao consumo de tais alimentos como medida de recompensa (MORRIS et al., 2015). Dessa forma, compreende-se que a restrição alimentar induzida e combinada com períodos de estímulos visuais e olfativos à dieta palatável, funcionou como fator responsável na alteração das vilosidades intestinais dos animais estudados. Entretanto, o acesso à alimentação hipercalórica e palatável – as chamadas *comfort foods* – durante uma das fases do experimento, sugere atenuação dos efeitos endócrinos do estresse, como apontado por Ortolani (2014), além de suavizar o efeito anorexígeno em ratos estressados por choque nas patas (ORTOLANI, 2010).

A realimentação é um fator decisivo na prevenção da cronicidade dos danos ocasionados pelo jejum. Todavia a ingestão de alimentos palatáveis nesse processo pode gerar alterações metabólicas, tornando os animais mais susceptíveis à obesidade e desenvolvimento de resistência à insulina (ORTOLANI, 2010). Além disso, a presença do estresse no início da vida dos roedores parece aumentar a predileção por alimentos do tipo “*comfort foods*” na vida adulta (CUNHA, 2015).

Tendo em vista a função essencial de aumentar a superfície de absorção, a redução observada na área e largura das vilosidades dos animais deste estudo pode implicar numa menor área absorptiva em organismos que já estão sendo prejudicados pela privação alimentar. A desnutrição de curta-duração leva a um desgaste tecidual do intestino que induz um

mecanismo compensatório por conta do mau aproveitamento nutricional (GIACOMELLI; NATALI, 1999). Caso o período de desnutrição se prolongue, o principal dano é a perda da função do órgão, como é verificado em síndromes de má absorção. Entretanto, foi verificada uma escassez de estudos na literatura que permitam maiores comparações e investigações quanto aos efeitos identificados em mamíferos roedores.

Sendo assim, fica entendido que as alterações observadas na microscopia da mucosa intestinal poderiam ter sido ainda mais acentuadas no caso de ausência da “comfort food”, porém a retirada de tal alimento não representaria de maneira fidedigna o ciclo de privação alimentar e ingestão de alimentos hipercalóricos que caracterizam o padrão de consumo de humanos adeptos à dietas altamente restritivas. Ainda assim, a predileção por alimentos palatáveis que funcionam como ansiolíticos e auxiliam na prevenção da cronicidade de danos não é de todo uma alternativa benéfica, pois tal hábito tende a causar consequências metabólicas nos animais.

8. CONCLUSÕES

A realização dessa pesquisa, ao simular um padrão alimentar semelhante ao adotado por indivíduos que adotam dietas excessivamente restritivas, foi importante para investigar as principais complicações causadas por conta desse hábito. Foram verificadas alterações na morfometria das vilosidades intestinais, especialmente em sua largura e área total. Não foram encontradas alterações estatisticamente relevantes na glândula de Lieberkuhn, bem como na altura das vilosidades.

Achados da literatura evidenciam que o trato gastrointestinal é bastante influenciado pelo estresse em geral, desde motivar a preferência por alimentos com maior teor calórico a alterações morfofisiológicas no órgão. A desnutrição induzida e o jejum, a oferta de dieta palatável e a realimentação são fatores que quando combinados podem atrair modificações significativas. Tais fatores em uma escala de importância podem ser classificados como maléficos, intermediários e benéficos, respectivamente.

As alterações encontradas reforçam que o processo de jejum e a desnutrição atuam como fatores estressantes e predisponentes para alterações morfológicas, como observado nesse estudo e em demais pesquisas do nosso laboratório. O processo de realimentação se mostrou um fator de extrema importância a fim de evitar que as consequências se tornem crônicas, porém, se esse processo for feito com a oferta de dieta palatável tal artifício pode funcionar como razão para o aparecimento de alterações metabólicas, ainda que atenuem os efeitos do estresse e haja como ansiolítico.

Em pesquisas que buscaram investigar o estresse em mamíferos roedores e sua relação com o intestino, foi observado diminuição da capacidade digestiva, ameaça à fisiologia e aumento da apoptose, o que sugere que o mesmo efeito ou efeitos semelhantes tenham ocorrido nos animais do grupo teste. Compreende-se que a fase de realimentação foi essencial para evitar que as alterações encontradas fossem ainda mais graves. Contudo, não existem muitos estudos na literatura que permitem o conhecimento das consequências do tipo específico de estresse aplicado nesta pesquisa. Nesse caso, são necessárias mais pesquisas acerca da relação entre trato gastrointestinal e o modelo experimental aplicado para elucidar tais descobertas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Martha Elisa Ferreira et al. Efeitos do estresse auditivo e da dieta hipercalórica sobre o peso corporal, lipídios e glicemia de Ratos wistar. **Brazilian Journal of Food & Nutrition/Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 3, 2011.
- ARALDI-FAVASSA, Celí Teresinha; ARMILIATO, Neide; KALININE, Iouri. Aspectos fisiológicos e psicológicos do estresse. **Revista de psicologia da UnC**, v. 2, n. 2, p. 84-92, 2005.
- AZEVEDO, Jorge Fernandes et al. Análise morfométrica da parede intestinal do íleo de ratos submetidos a intensa carência de proteínas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 10, n. 2, p. 85-90, 2007.
- BACHION, Maria Márcia et al. Estresse, ansiedade e coping: uma revisão dos conceitos, medidas e estratégias de intervenção voltadas para a prática de enfermagem. **Revista Mineira de Enfermagem**, v. 2, n. 1, p. 33-39, 1998.
- BAUER, Moisés Evandro. Estresse. **Ciência hoje**, v. 30, n. 179, p. 20-25, 2002.
- BICHO, Leandro Manuel Dias; PEREIRA, Susete Rodrigues. Stress ocupacional. **Stress Ocupacional**. Instituto Politécnico de Coimbra, Departamento de Engenharia Civil, Portugal [periódico na internet], 2007.
- BLUNDELL, J.E.; ROGERS, P.J.; ENCOSTA, A.J.; Behavioural structure and mechanisms of anorexia: calibration of natural and abnormal inhibition of eating. **Brain Res Touro**, v.15, n.4, p. 371-6, 1985.
- CABRAL, Ana Paula Tolentino et al. O estresse e as doenças psicossomáticas. **Revista de psicofisiologia**, v. 1, n. 1, p. 1-22, 1997.
- CHAVES, Miriam Gonçalves; MELLO, Maria Alice Rostom. Metabolismo glicídico em músculo estriado esquelético de ratos em repouso submetidos à restrição protéica alimentar. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 14, n. 1, 2009.
- CORRÊA, Sebastião Augusto; MENEZES, José Ricardo de Melo. **Estresse e trabalho**. Monografia (pós-graduação em Medicina do Trabalho)- Sociedade Universitária Estácio de Sá / Associação Médica de Mato Grosso do Sul, Campo Grande (MS), 2002.
- CUNHA, Ana Carla de Araújo. **O consumo crônico de “comfort food” e comportamentos relacionados à ansiedade em ratos adultos submetidos ao estresse neonatal**. 55 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Bacharelado em Nutrição, Porto Alegre, 2015.
- DAMBROSKI, Renata Ribeiro; MOURA, Sônia. **Estresse no ambiente organizacional**. Curitiba, 2014. Disponível em <<http://tcconline.utp.br/media/tcc/2015/09/ESTRESSE.pdf>>. Acesso em: 05 abr 2017.
- DOU, Yanling et al. Effect of re-feeding after starvation on biomechanical properties in rat small intestine. **Medical engineering & physics**, v. 23, n. 8, p. 557-566, 2001.
- FLOSI, Attilio Zelante. Reação de alarme e o síndrome geral de adaptação: conceito de doenças de adaptação: importância clínica e cirúrgica. **Revista de Medicina**, v. 31, n. 167-

168, p. 321-352, 1947.

FONSECA, Fernanda Carrilho Pinto. Influência da nutrição sobre o sistema imune intestinal. **CERES: Nutrição & Saúde**, v. 5, n. 3, p. 163-174, 2011.

FONSECA, Neura Cirqueira; GONÇALVES, Jacqueline Coimbra; ARAUJO, Graziela Silveira. **Influência do estresse sobre o sistema imunológico**. [2015?] Disponível em: <http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais_simposio/arquivos_up/documentos/artigos/844c84423cfc7e05d2720770d2ee271.pdf> Acesso em: 05 abr. 2017.

GIACOMELLI, Flávia Roseli Baptista; NATALI, Maria Raquel Marçal. A utilização de ratos em modelos experimentais de carências nutricionais. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 3, n. 3, 1999.

GURMINI, Jocemara et al. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **J Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 4, p. 271-8, 2005.

HERMES, Catchia et al. Efeitos da desnutrição protéica severa sobre aspectos morfológicos e quantitativos dos neurônios mientéricos do cólon ascendente de ratos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 11, n. 1, 2008.

KOEPPE, Bruce, M. et al. **Berne & Levy: fisiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

KOOP, Irmtraut et al. Effect of food deprivation on the function of the intestinal cholecystokinin-producing cell in the rat. **Digestion**, 38: 114-123, 1987.

LARA-PADILLA, Eleazar et al. Intermittent fasting modulates IgA levels in the small intestine under intense stress: A mouse model. **Journal of neuroimmunology**, v. 285, p. 22-30, 2015.

LIPP, M. N.; NOVAES, L. E. **Conhecer e enfrentar o stress**. São Paulo: Contexto, 2000.

MADI, K.; CAMPOS, S. D. Desnutrição experimental: resultados anátomo-patológicos e bioquímicos da administração de dietas hipoprotéicas a ratos albinos jovens. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 73, n. 3, p. 153-181, 1975.

MARGIS, Regina et al. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 25, n. 1, p. 65-74, 2003.

MARTINS, M. J.; HIPÓLITO-REIS, C.; AZEVEDO, I. Effect of fasting on rat duodenal and jejunal microvilli. **Clinical Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 325-331, ago, 2001.

MARTUCCI, Célia; PERON, Ana Paula; VICENTINI, Veronica Elisa Pimenta. Aspectos gerais do estresse. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 8, n. 1, p. 58-62, 2012.

MELLO, Sônia Trannin de et al. Estudo morfoquantitativo do plexo mioentérico do duodeno de ratos submetidos a carência de proteínas e vitaminas do complexo B. **Acta sci., Biol. sci.**, v. 26, n. 2, p. 251-256, 2004.

MIGUEL, R. D. S. Efeitos do estresse alimentar crônico sobre a morfometria e a expressão de regiões organizadoras de nucléolos em hipocampos de ratos adultos. 26 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de

Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Vitória de Santo Antão, 2013.

MORRIS, M. J. et al. Why is obesity such a problem in the 21st century? The intersection of palatable food, cues and reward pathways, stress, and cognition. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 58, p. 36-45, 2015.

NOBREGA, Antonio Claudio Lucas; CASTRO, Renata Rodrigues Teixeira de; SOUZA, Alexandro Coimbra de. Estresse mental e hipertensão arterial sistêmica. **Rev Bras Hipertens vol**, v. 14, n. 2, p. 94-97, 2007.

ORTOLANI, Daniela. **Efeitos de dieta palatável sobre a resposta de estresse em ratos**. Dissertação (Mestrado em Biologia Funcional e Molecular) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 2010.

ORTOLANI, Daniela et al. Stress-induced endocrine response and anxiety: the effects of comfort food in rats. **Stress**, v. 17, n. 3, p. 211-218, 2014.

PAULA, Aline Regnier Lima Ferreira de. **Efeitos da dieta palatável sobre a resposta ao estresse psicológico em ratos**. 70 p. Dissertação (mestrado) –Universidade São Francisco, Programa de Pós- Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Bragança Paulista, 2010.

PINHEIRO, Maria Claudia Tardin; FIGUEREDO, Patrícia da Motta Vieira. Padrões de beleza feminina e estresse. **Revista CADE**, v. 11, n. 1, 2012.

RIO, Rodrigo Pires do. **O fascínio do stress**. Belo Horizonte: Del Rey, 1995. p. 11-59.

ROCHA JUNIOR, José R. et al. O sistema digestório e as emoções. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde Fits**, Maceió, v. 1, n. 2, p. 97-110, 2013.

SADIR, Maria Angélica; BIGNOTTO, Márcia Maria; LIPP, Marilda Emmanuel Novaes. Stress e qualidade de vida: influência de algumas variáveis pessoais. **Paideia**, v. 20, n. 45, p.73-81, abr. 2010.

SANTOS, Ana Kelly Moraes et al. Consequências do jejum intermitente sobre as alterações na composição corporal: Uma revisão integrativa. **Revista E-Ciência**, v. 5, n. 1, 2017.

SANTOS, I.A.M., **Análise histomorfométrica do cerebelo de ratos Wistar submetidos a um protocolo de estresse alimentar**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Curso de Bacharelado em Nutrição, Vitória de Santo Antão, 2015.

SANTOS, Juliana da Costa.; SANTOS, Maria Luiza da Costa. Descrevendo o estresse. **Principia**, João Pessoa, n.12,p. 51-57, Abr. 2005

SELYE, Hans et al. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, v. 138, n. 3479, p. 32, 1936.

SELYE, Hans. Stress and the general adaptation syndrome. **British medical journal**, v. 1, n. 4667, p. 1383, 1950.

STEINER, Makfred et al. Effect of starvation on the tissue composition of the small intestine in the rat. **American Journal of Physiology--Legacy Content**, v. 215, n. 1, p. 75- 77, 1968.

STOCCO, Josete Alzira Passamani; BORTOLUZZI, Cibele de Lara. A influência do estresse

no ambiente de trabalho do secretário executivo. **Secretariado Executivo em Revist@**, v. 2, n. 2, 2011.

TRAMONTE, Ricardo et al. Alterações da mucosa intestinal em ratos. Estudo morfométrico em três diferentes tratamentos após indução experimental de sepse abdominal aguda. **Acta Cir Bras**, v. 19, n. 2, p. 120-5, 2004.

TOMANARI, Gerson Yukio; PINE, Alexandre de Souza; SILVA, Maria Teresa Araújo. Ratos wistar sob regimes rotineiros de restrição hídrica e alimentar. **Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva**, v. 5, n. 1, p. 57-71, 2003.

YOUNG, Barbara et al. **Wheater histologia funcional: texto e atlas em cores**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

XAVIER, José Emerson. **Análise histomorfométrica do córtex das glândulas suprarrenais de ratos Wistar submetidos ao estresse alimentar**. 47 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Vitória de Santo Antão, 2015.

ZUARDI, Antonio Waldo. **Fisiologia do estresse e sua influência na saúde**. São Paulo: USP, Departamento de Neurociência e ciência do comportamento [internet], 2010.