

Estudo histomorfométrico do baço de ratos Wistar sadios e diabéticos suplementados ou não pela vitamina C¹

Amanda C. Cortez², Hildebrando G. Benedicto^{3*}, Fernanda R. Agreste⁴,
Naianne K. Clebis⁵ e Pedro P. Bombonato⁶

ABSTRACT.- Cortez A.C., Benedicto H.G., Agreste F.R., Clebis N.K. & Bombonato P.P. 2009. [Histomorfometric study of the spleen of healthy and diabetic Wistar rats supplemented or not with vitamin C.] Estudo histomorfométrico do baço de ratos Wistar sadios e diabéticos suplementados ou não pela vitamina C. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(10):834-840. Departamento de Morfologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Rua Professor Hernani Pires de Mello 101, Niterói, RJ 24210-130, Brazil. E-mail: hill@vm.uff.br

The objective of this study was to analyze morphometric histological shatters of the spleen of normal and diabetic animals, comparing the joined results and relating them in the sex and the supplementation of vitamin C. Had been used 32 Wistar rats, which had been analyzed: number of vases; the number of germinative follicles (white pulp); and the diameter of the vases of each animal. Histological and morphometric analyses were applied on 5µm thick samples and showed that: in the amount of germinative follicles, we observe resulted comparing, independent of the sex, animals controls supplemented with vitamin C and controls not supplemented ($p \leq 0.05$; $F=0.1452$); in the amount of vases, we observe resulted comparing, of diabetic females supplemented by vitamin C when compared with not supplemented ($p \leq 0.05$; $F=6.8893$); and in the diameter of the vases, we observe resulted comparing females, as much in the group has controlled how much to the diabetic group, supplemented with vitamin C when compared with the females not supplemented with vitamin C ($p < 0.05$; $U=121.50$; $Z(U)=2.1234$) and ($p < 0,05$; $F=4.8134$). In a general way, the induction of diabetes modifies the vascular diameter in the females and that the vitamin C administration only intervenes with relative metric data to the vascular diameter in the females.

INDEX TERMS: Wistar rats, Diabetes mellitus, Spleen, Vitamin C.

RESUMO.- O objetivo deste trabalho foi de analisar morfometricamente fragmentos histológicos do baço de animais normais e diabéticos, comparando os resultados encontrados e relacionando-os ao sexo e a suplementa-

ção da vitamina C. Foram utilizados 32 ratos Wistar, os quais foram analisados número de vasos, o número de folículos germinativos (polpa branca) e o diâmetro dos vasos de cada animal. As análises histológicas e morfométricas foram feitas em amostras de 5µm de espessura demonstrando que: na quantidade de folículos germinativos, observamos resultados comparando, independente do sexo, animais controles suplementados com vitamina C e controles não suplementados ($p \leq 0,05$; $F=0,1452$); na quantidade de vasos, observamos resultados comparando, fêmeas diabéticas suplementadas pela vitamina C e fêmeas diabéticas não suplementadas ($p \leq 0,05$; $F=6.8893$); e no diâmetro dos vasos, observamos resultados comparando fêmeas, tanto no grupo controle quanto ao grupo diabético, suplementadas pela vitamina C quando comparadas às fêmeas não suplementadas pela vitamina C ($p < 0,05$; $U=121.50$; $Z(U)=2.1234$) e ($p < 0,05$; $F=4.8134$).

¹ Recebido em 14 de maio de 2009.

Aceito para publicação em 1 de julho de 2009.

² Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Paulista, Av. Agua Fria 1913, Agua Fria, São Paulo, SP 02333-001, Brasil.

³ Departamento de Morfologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Hernani Pires de Mello 101, Centro, Niterói, RJ 24310-130, Brasil. *Autor para correspondência: hill@vm.uff.br

⁴ Pós-Graduanda em Anatomia dos Animais Domésticos, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-900, Brasil.

⁵ Departamento de Morfologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário Lagoa Nova, Natal, RN 59072-970, Brasil.

⁶ Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, São Paulo, SP.

De um modo geral, a indução de diabetes modifica o diâmetro vascular nas fêmeas e que a administração de vitamina C interfere nos dados métricos relativos ao diâmetro vascular somente nas fêmeas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Ratos Wistar, diabetes mellitus, baço, vitamina C.

INTRODUÇÃO

Atualmente sabe-se que o Diabetes Mellitus (DM) afeta a estrutura vascular e o tecido conjuntivo, em especial as fibras de colágeno. Há relatos de que no coração há acúmulo de tecido fibroso (colágeno) devido ao aumento da exigência por parte do sistema de virtude do aumento de pressão arterial e, além disso, substâncias oxidantes presentes nos vasos alteram sua estrutura, dentre estas alterações a hiperglicemia sanguínea contínua leva a lesões irreversíveis em diferentes áreas do corpo causando nefropatia, neuropatia, retinopatia e prejudicando os tecidos endoteliais dos vasos e capilares.

Estudos comprovaram que controles rígidos da glicemia não diminuem esses riscos, apesar de aliviarem os sintomas de outras doenças em diferentes partes do organismo. Acredita-se, que a sensibilidade vascular acrescida de hipertensão sejam as causas principais das doenças associadas ao DM. (Wilkinson et al. 2000)

Nos animais diabéticos, a quantidade de vitamina C tecidual é reduzida, quando comparada à quantidade nos tecidos de animais normais, sugerindo que a hiperglicemia comprometa também a concentração dessa vitamina em determinados órgãos.

Sabe-se que o ácido ascórbico age como cofator na hidroxilação da prolina em colágeno, e que também se faz necessário na atividade funcional de fibroblastos e osteoblastos na formação de mucopolissacarídeos do tecido conjuntivo, do tecido ósseo, da dentina e do cimento intercelular dos capilares, e que também atua como fator antioxidante pode ter efeito significativo nas alterações do sistema circulatório, mas seu papel ainda é controverso. (Kashiba et al. 2000)

O baço influi na composição do sangue que circula no corpo e controla a quantidade desse líquido vital no sistema venoso e arterial. Relacionando diretamente sua atividade com todo o aparelho circulatório, que pode ou não ter seu comprometimento devido ao DM. (Dyce et al. 2004)

Em virtude destes aspectos propusemos esse experimento, pois a literatura atual é escassa, em relação aos trabalhos diretamente relacionados com a concentração de vitamina C e sua inter-relação com o baço de animais diabéticos. Acreditamos que a vitamina ao regular a produção das fibras colágenas, impede seu acúmulo e diminui a incidência de insuficiência vascular frequentemente encontrada neste grupo de animais. Com isso, o objetivo deste trabalho foi de analisar morfometricamente fragmentos do baço de animais normais e diabéticos, comparando a quantidade de folículos germinativos, a quantidade de vasos e a espessura dos vasos encontrados, relacionando-os ao sexo e a suplementação com vitamina C.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos 32 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), 16 machos e 16 fêmeas, com 3 meses de idade, mantidos separados em 8 caixas em grupos de quatro animais, em ambiente com temperatura controlada (22-24°C) e com luz controlada em ciclo de 12 horas (claro/escuro). Os animais foram distribuídos entre controles tratados (CTT), controles não tratados (CNT), induzidos a diabetes tratados (DTT) e induzidos a diabetes não tratados (DNT).

Água e alimentos foram oferecidos *ad libitum*, sendo que a cada 48 h os grupos chamados tratados (CTT e DTT) foram suplementados, via gavagem, com uma solução de 25mg de ácido ascórbico (vitamina C) em 0,5mL de água. Os animais diabéticos receberam dose de 0,1 UI de insulina NPH diária.

Estes animais foram submetidos à pesagem 1 vez por semana e colhidas amostras de sangue periférico obtido da extremidade da cauda dos animais por um glicosímetro semanalmente durante os 4 meses do experimento.

Para início do procedimento experimental, após pesagem inicial, metade dos ratos foram induzidos ao diabetes mellitus por uma única injeção endovenosa de uma solução de *estreptozotocina* (50mg/kg de peso corporal, Sigma®, USA) dissolvida em tampão citrato de sódio 10mM, pH 4,5, via veia coccígea caudal lateral. Efetuada a eutanásia, procedemos à abertura da cavidade abdominal e a retirada do baço, para procedimento histológico. Os baços coletados foram fixados em uma solução aquosa, vale dizer, em formol a 10% dissolvido em 0,1M de PBS e pH 7,4.

Após fixação do baço em formol a 10% foram colhidos fragmentos para processamento segundo técnica histológica convencional. Para tanto, o fragmento do baço foi incluído em paraplast e orientado para que os cortes obtidos resultassem em secções transversais do órgão, e posteriormente, os cortes fossem corados com HE, Orceína azul policromo de Unna (cora fibra elástica), Picrossírus e Tricrômio de Masson (coram fibras colágenas), vale dizer que, as colorações Tricrômio de Masson e Orceína azul policromo de Unna foram adotadas para diferenciar o tipo de fibra vascular (colágena ou elástica respectivamente).

Em seguida o material assim preparado foi analisado em microscópio óptico, acoplado a um microcomputador com o programa de análise morfométrica (KS400 Zeiss®).

Foram quantificados e analisados o número de vasos, o número de folículos germinativos (polpa branca) e a espessura dos vasos esplênicos em 4 cortes randômicos com 5µm de espessura de cada animal e compararam-se os parâmetros relacionados ao sexo, suplementação com vitamina C e existência de diabetes mellitus.

Todos os dados obtidos foram analisados estatisticamente para confecção dos resultados, tendo-se utilizados o teste de Mann-Whitney e Anova 1 critério, com $\alpha=0,05$.

RESULTADOS

O estabelecimento da síndrome diabética nos animais, aos quais foram administrados estreptozotocina, ou seja, que foram induzidos a diabetes, segundo protocolo já descrito, mostrou que a indução do DM tipo 1 por meio de estreptozotocina (50mg/kg) foi bem sucedida, além de produzir hiperglicemia ao longo de nosso experimento. Entretanto, vale considerar que apesar da taxa glicêmica indicar a presença da doença, não foram relatadas dife-

renças significativas entre os valores de glicemia obtidos para os animais tratados com ácido ascórbico (vitamina C) e aqueles não tratados. Da mesma maneira não houve diferenças estatísticas entre os pesos dos animais controles, suplementados ou não, e os diabéticos, suplementados ou não.

Análise qualitativa

Macroscopicamente observamos a superfície de corte do baço, pontos brancos que são os nódulos linfáticos da polpa branca, que é descontínua (Fig.3). Na superfície medial do baço observamos o hilo, onde penetram as artérias e nervos, emergem as veias nascidas no parênquima e vasos linfáticos originados das trabéculas.

Microscopicamente observamos uma cápsula de tecido conjuntivo com acentuado predomínio de fibras colágenas revestindo todo o órgão, esta emite trabéculas

para o interior do parênquima ou também chamado de polpa esplênica, subdividindo-o em compartimentos menores incompletos. Fibras musculares lisas e fibras elásticas foram observadas na cápsula e trabéculas, em quantidades variáveis de acordo com a região observada. Foi também observada uma arteríola que ocupa a região central ou para central dos nódulos, chamada de arteríola central (Fig.4).

Os parâmetros observados em relação à análise qualitativa do baço indicam que, o tecido apresentou-se de acordo com a morfologia normal relatada por alguns autores, mesmo quando houve suplementação pela vitamina C.

Em todos os grupos, ao microscópio de luz, o baço apresentou hemossiderina nos seios e cordões esplênicos, com evidência generalizada (Fig.1-2). A hemossiderina é um resultado da polimerização do grupo heme da hemoglobina, originada da lise de hemácias ou da dieta

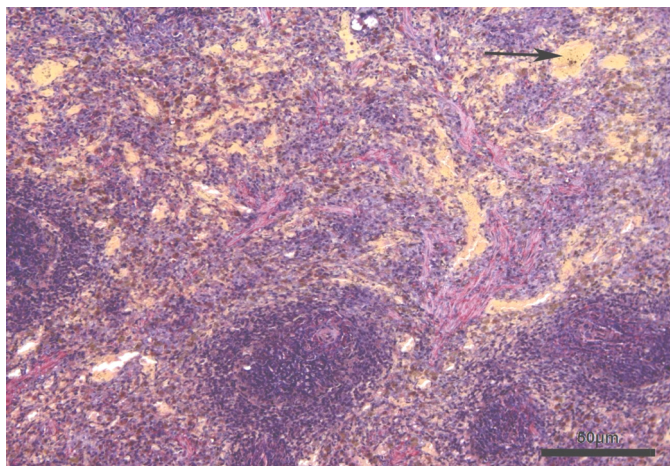


Fig.1. Baço de rato Wistar, macho, controle não suplementado com ácido ascórbico, demonstrando presença de hemossiderina (seta). Picrossírius, 40x.

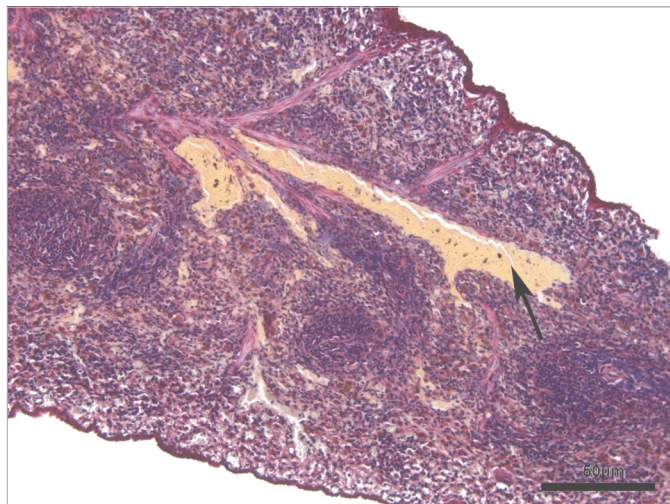


Fig.2. Baço de rato Wistar, fêmea, controle suplementado com ácido ascórbico, demonstrando presença de hemossiderina (seta). Picrossírius, 20x.

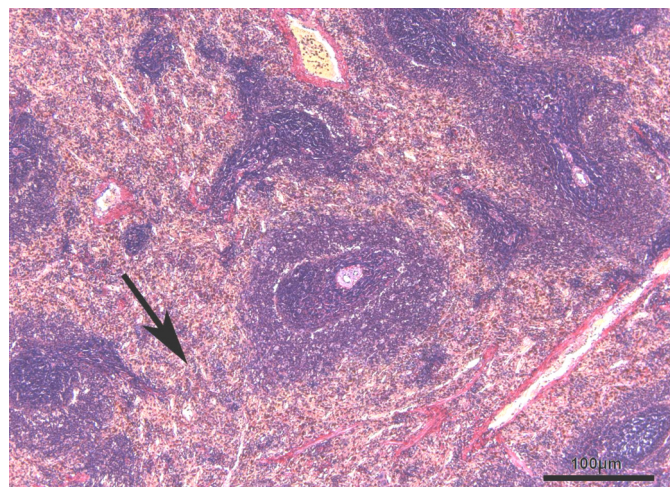


Fig.3. Baço de rato Wistar, fêmea, controle não suplementado com ácido ascórbico, demonstrando polpa branca (seta). Picrossírius, 40x.

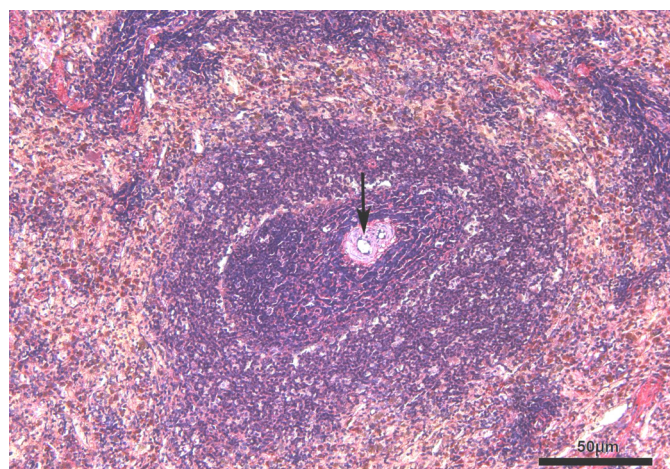


Fig.4. Baço de rato Wistar, fêmea, controle não suplementado com ácido ascórbico, demonstrando vasos (seta). Picrossírius, 40x.

Quadro 1. Valores médios das dosagens sanguíneas de glicose e peso corporal, de ratos Wistar (n=32) dos grupos: controle suplementado por ácido ascórbico (CTT), controle não suplementado (CNT), diabético suplementado (DTT) e diabético não suplementado (DNT)

Parâmetros	CTT	CNT	DTT	DNT
Glicemia inicial (mg/dl)	92,5	92,0	411,5	443,5
Glicemia final (mg/dl)	94,5	97,5	453,5	475,5
Peso inicial (g)	257,0	256,5	264,0	245,5
Peso final (g)	345,5	351,0	262,5	317,0

Quadro 2. Valores médios das dosagens sanguíneas de glicose e peso corporal, de ratos Wistar (n=16) machos dos grupos: controle suplementado por ácido ascórbico (CTT), controle não suplementado (CNT), diabético suplementado (DTT) e diabético não suplementado (DNT)

Parâmetros	CTT	CNT	DTT	DNT
Glicemia inicial (mg/dl)	97	101	395	387
Glicemia final (mg/dl)	95	101	436	447
Peso inicial (g)	301	295	314	283
Peso final (g)	430	430	317	395

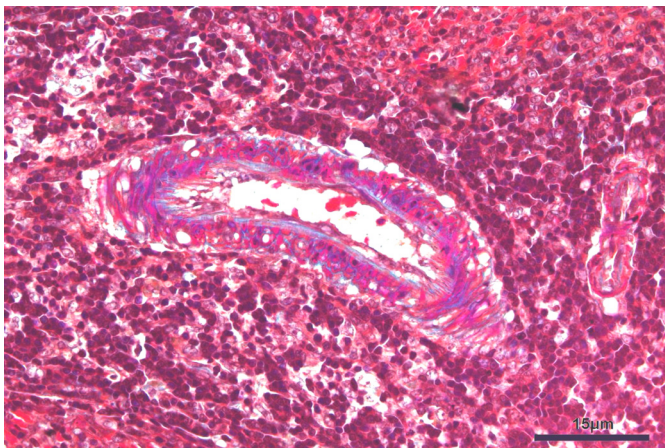


Fig.5. Baço de rato Wistar, fêmea, controle não suplementado com ácido ascórbico, demonstrando vaso. Tricrômio de Masson, 60x.

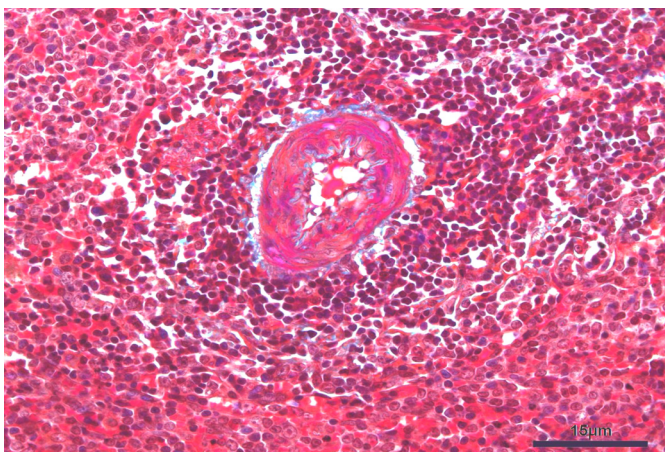


Fig.6. Baço de rato Wistar, fêmea, controle não suplementado com ácido ascórbico, demonstrando vaso. Tricrômio de Masson, 40x.

Quadro 3. Valores médios das dosagens sanguíneas de glicose e peso corporal, de ratos Wistar (n=16) fêmeas dos grupos: controle suplementado por ácido ascórbico (CTT), controle não suplementado (CNT), diabético suplementado (DTT) e diabético não suplementado (DNT)

Parâmetros	CTT	CNT	DTT	DNT
Glicemia inicial (mg/dl)	88	83	428	500
Glicemia final (mg/dl)	94	94	474	504
Peso inicial (g)	213	218	214	208
Peso final (g)	261	272	208	239

Quadro 4. Valores médios do número de folículos germinativos (FG), arteríolas (AA) e espessura das arteríolas (EA) do baço de ratos Wistar (n=32) machos e fêmeas dos grupos: controle suplementado por ácido ascórbico (CTT), controle não suplementado (CNT), diabético suplementado (DTT) e diabético não suplementado (DNT)

Parâmetros	CTT	CNT	DTT	DNT
FG	26,5* ±3,7	27,5* ±5,6	27,0 ±9,2	22,0 ±5,2
AA	47,5 ±22,2	50,0 ±14,7	46,6 ±27,5	41,0 ±19,8
EA	10,4* ±1,9	8,1* ±1,0	9,4 ±1,5	8,4 ±2,2

Asterisco (*) na mesma linha indica diferença estatisticamente significativa.

Quadro 5. Valores médios do número de folículos germinativos (FG), arteríolas (AA) e espessura das arteríolas (EA) do baço de ratos Wistar (n=16) machos dos grupos: controle suplementado por ácido ascórbico (CTT), controle não suplementado (CNT), diabético suplementado (DTT) e diabético não suplementado (DNT)

Parâmetros	CTT	CNT	DTT	DNT
FG	27 ±2,0	36 ±19,3	33 ±9,2	22 ±7,0
AA	45 ±14,6	55 ±30,8	58 ±23,0	61 ±25,4
EA	10,6 ±1,3	7,8 ±1,1	9,0 ±0,6	7,9 ±2,6

Asterisco (*) na mesma linha indica diferença estatisticamente significativa.

rica em ferro ou mesmo da hemocromatose idiopática (alteração da concentração da hemoglobina nos eritrócitos), como sendo um pigmento marrom de aspecto granuloso ao microscópio óptico que se acumulou nas células e principalmente no retículo endotelial.

Análise quantitativa e morfométrica

Foram analisadas a quantidade de folículos germinativos e de vasos (polpa branca) tendo-se observado número médio variado, conforme Quadros 4, 5 e 6 quando comparado os animais nos seguintes parâmetros: sexo, tratamento e existência do diabetes mellitus.

A análise dos dados obtidos na mensuração do diâmetro dos vasos da polpa branca do baço foi realizada através da utilização de um programa específico de análise morfométrica, o KS 400 Zeiss®, no qual o material analisado foi corado por Tricrômio de Masson, cujo vaso apresentava birrefringência e coloração azul de suas fibras elásticas (Fig.5-6).

Obtivemos diferença na espessura dos vasos entre

Quadro 6. Valores médios do número de folículos germinativos (FG), arteríolas (AA) e espessura das arteríolas (EA) do baço de ratos Wistar (n=16) fêmeas dos grupos: controle suplementado por ácido ascórbico (CTT), controle não suplementado (CNT), diabético suplementado (DTT) e diabético não suplementado (DNT)

Parâmetros	CTT	CNT	DTT	DNT
FG	26 ±5,0	19 ±4,5	21 ±5,0	22 ±4,1
AA	50 ±17,5	45 ±14,1	35* ±7,5	21* ±4,9
EA	10,2 ±2,7	8,4 ±1,1	9,7 ±2,2	9,0 ±2,1

Asterisco (*) na mesma linha indica diferença estatisticamente significativa.

os grupos, machos e fêmeas, controle suplementado com vitamina C e controle não suplementado pela vitamina C.

Em relação à quantidade de folículos germinativos, observamos diferenças comparando, independente do sexo, os grupos CTT com os animais do grupo CNT ($p \leq 0,05$; $F=0.1452$). Entretanto tal diferença não foi observada entre os animais dos grupos DTT e DNT quando comparados entre si, o mesmo quando confrontamos o sexo nestas circunstâncias.

Houve diferença na quantidade de vasos em fêmeas do grupo DTT, quando comparadas com o grupo de fêmeas DNT ($p < 0,05$; $F=6.8893$), segundo teste estatístico Anova 1 critério, e podemos afirmar que a indução de diabetes modifica o diâmetro vascular nas fêmeas, além de que, a administração de vitamina C também interfere nos dados métricos relativos ao diâmetro vascular somente nas fêmeas.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Macroscopicamente o tecido mole contido na estrutura de sustentação do baço divide-se em polpas vermelha e branca; a primeira consiste em espaços em série com os vasos sanguíneos e ocupados por uma concentração de elementos celulares do sangue. A polpa branca, dividida em focos em geral foi perfeitamente visível a olho nu, é formada de folículos linfóides dentro de uma estrutura reticuloendotelial de sustentação, que estão de acordo com Dyce et al. (2004) e Dellman (1982).

Segundo Junqueira et al. (1999), na periferia da polpa branca, o retículo forma diversas camadas concêntricas. Imediatamente adjacente à última camada está à zona marginal, e uma densa malha reticular no interior da qual se abrem muitos ramos da artéria nodular. Ramos da artéria nodular terminam em três áreas diferentes, conforme evidenciadas em nosso estudo também. Ainda afirma que, a circulação do sangue através do baço conduz a importantes implicações funcionais, particularmente em relação ao estímulo antigênico e à retirada da hemoglobina e do ferro dos glóbulos vermelhos. Em relação ao ferro, encontramos considerável presença de hemossiderina em todos os animais avaliados em nossos experimentos, já que esta substância provém do resultado da polimerização do grupo heme da hemoglobina, originada da lise de

hemácias ou da dieta rica em ferro.

Wilkinson et al. (2000) também afirma que complicações como nefropatia, neuropatia e retinopatia são ligadas ao controle da glicemia, mas a principal causa de morte entre diabéticos é arteriosclerose cardiovascular. Porém, a razão certa para esse problema ainda não é bem esclarecida o que corrobora com alguns de nossos resultados, cuja justificativa é difícil.

Fisiologicamente, segundo Ganong (2000), a falta de insulina leva a uma deficiência intracelular na concentração de glicose ("fome" celular). O efeito final da conversão acelerada de proteínas em energia, juntamente com a síntese diminuída das mesmas, leva a um balanço nitrogenado negativo e a depleção protéica associada à baixa resistência a infecções, que salienta a imunossupressão de células linfóides ou de defesa e o papel dos folículos germinativos, porém não foram observadas diferenças quantitativas entre o número de folículos germinativos em animais diabéticos e não diabéticos. Entretanto pode ser decorrente do tempo do experimento, ou seja, a manutenção prolongada da cronicidade da doença poderá determinar modificações qualitativas e quantitativas.

Os resultados obtidos em nosso estudo permitiram evidenciar que a administração de estreptozotocina na dose de 50mg/kg foi suficiente para induzir o DM nos ratos dos grupos DTT e DNT, uma vez que foram observados sinais típicos do estado diabético indicando que a utilização da referida droga favorece a construção de modelos experimentais confiáveis segundo Faria et al. 2004.

Considerando que o DM é caracterizado por hiperglicemia (Cotran et al. 1996) as dosagens sanguíneas de glicose foram necessárias para certificar a instalação do DM pela ação da estreptozotocina, por isso realizamo-las de 7 em 7 dias por todo o período do experimento, tomando o cuidado de se apurar o peso dos animais ao longo deste período, ainda que tenhamos utilizado apenas valores inicial e final destas ocasiões.

Além da hiperglicemia, no estado diabético podem ser observados perda de peso, polidipsia, polifagia e poliúria segundo Carlton & McGavin (1998) e Contran et al. (1996).

Em nosso estudo, como era esperado, foi possível observar aumento significativo no volume de urina eliminado pelos animais dos grupos DTT e pelos animais do grupo DNT quando comparados com os grupos CTT e CNT explicitando a poliúria, característica do DM, observados em nossos resultados estão de acordo com os estudos realizados por Junod et al. (1967) que encontraram valores maiores para o débito urinário em animais diabéticos. Também foi relatado por Furlan et al. (2002) o aumento do débito urinário em ratos diabéticos agudos quando comparados aos ratos normais. Entretanto não verificamos polifagia, tão pouca alteração no peso dos animais.

Adotamos a administração do ácido ascórbico, durante o período experimental, por ter ação antioxidante, por inibir a produção de superóxidos e/ou inibir o aumento da glicemia, podendo restaurar os desequilíbrios metabóli-

cos e vasculares bloqueando o início e a progressão de complicações no organismo (Feldman 2003).

Embora o rato possua mecanismos protetores contra os efeitos do estresse, entre eles a síntese de ácido ascórbico, parece que há circunstâncias nas quais sua biossíntese não é suficiente para suprir as demandas metabólicas do animal, sendo benéfica, nestes casos, a suplementação de ácido ascórbico na dieta (Faria et al. 2004).

Segundo Kaneko et al. (1997), a falta desta vitamina implica na formação de colágeno deficiente, evidenciada por fragilidade capilar e atraso na formação de cicatrizes. Lesões no tecido conjuntivo são as primeiras evidências da falta de colágeno hidroxilado, tornando este anormal e suscetível à degradação, comprometendo assim a integridade dos vasos sanguíneos. Tal fato agrava o desenvolvimento de complicações vasculares em diabéticos, fato este, que foi constatado somente nas fêmeas diabéticas e controles, ao se mensurar o diâmetro dos vasos.

Lindsay et al. (1998) discutem estudos que demonstraram redução na concentração de ácido ascórbico no plasma de animais diabéticos, o que resultou em alterações nos mecanismos bioquímicos de síntese de proteínas estruturais, evidenciando a interação dessa vitamina com esses mecanismos, sugerindo que esta vitamina possa impedir imunossupressão dos animais.

Afirma também Hendler (1994), que a suplementação com ácido ascórbico reduz o colesterol e combate doenças cardiovasculares. Há quase cinquenta anos, pesquisadores russos relataram pela primeira vez a possibilidade de retardar a aterosclerose (estreitamento das artérias) em coelhos através da administração de altas doses de vitamina C. Desde então, a continuação dessas pesquisas foi esporádica. A suplementação com ácido ascórbico, também, ajuda a manter a boa visão evitando a formação de catarata. Um estudo epidemiológico sugere que suplementos com vitaminas C ajudam a evitar cataratas em seres humanos e ainda previne o diabetes.

O ácido ascórbico realiza um amplo leque de ações sobre os íons metálicos (e em particular sobre o ferro), acelerando sua absorção intestinal e sua mobilização, e influenciando sua distribuição dentro do organismo. A deficiência em vitamina C exerce uma ação sobre a mobilização das reservas de ferro do baço, mas não sobre suas reservas hepáticas. A suplementação em vitamina C acelera a mobilização do ferro. (Guilland & Lequeu 1995). Entretanto, não foi observada tal mobilização em nosso estudo devido à presença de hemossiderina.

A ausência de influência do tratamento de vitamina C pode ser decorrente do fato do baço ter baixos teores de vitamina C, conforme indicam Guilland & Lequeu (1995).

A hiperglicemia dificulta a captação do ácido ascórbico pelos tecidos (Moser & Weber 1986), além disso, também inibe a reabsorção deste ácido nos rins, aumentando sua excreção na urina (Cunningham 1999). A depleção de ácido ascórbico em portadores de DM poderia ser explicada, também pelo fato dele possuir o mecanismo de

transporte nos leucócitos semelhante ao da glicose (Mann & Newton 1975, Lysy & Zimmerman 1992). Porém, não há correlação entre as dosagens sanguíneas de glicose e de ácido ascórbico (Som et al. 1981).

Em nosso trabalho, contudo, a suplementação com ácido ascórbico não reduziu a glicemia nos animais do grupo DTT e DNT para os níveis normais indicando que a administração de ácido ascórbico não influenciou esses parâmetros.

Encontramos, em todos os testes estatísticos realizados, os resultados relativos às fêmeas, controles suplementadas (CTT) ou não (CNT), diabéticas suplementadas (CTT) ou não (CNT), pudemos observar diferenças no diâmetro de vasos, fato talvez decorrente de interferência de fatores hormonais no controle da síntese de colágeno. Especificamente, em relação ao número de vasos cremos ser relevante a continuidade dos estudos esteriológicos, principalmente aqueles concernentes ao comprimento vascular e sua densidade, já que estes outros elementos podem ter seus fatores modificados, sem entretanto mudar o número relativo por área, tal como procedemos neste trabalho e justificado pelo valor conectividade, calculado pelo número de Euler.

A indução do Diabetes mellitus não modificou substancialmente a estrutura macroscópica do baço, interferiu no número médio de folículos germinativos e na espessura da parede das arteríolas esplênicas, quando considerada a presença do diabetes, independentemente do sexo e, nas fêmeas, interferiu no número de vasos esplênicos, fatos estes independentes da suplementação com a vitamina C. A taxa de glicemia e o peso ao final do experimento dos animais não foram influenciados pela administração ou não de vitamina C.

REFERÊNCIAS

- Contran R.S., Kumar V., Robbins S.L. & Shoen F.J. 1996. Robbins Patologia Estrutural e Funcional. 5ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.780.
- Cunningham J.G. 1999. Tratado de Fisiologia Veterinária. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.177-254
- Dellman U.D.H. 1982. Órgãos linfóides. In: Dellman U.D.H. (Ed.), Histologia Veterinária. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.139-142.
- Dyce M.K., Sack O.W. & Wensing G.J.C. 2004. Órgãos linfóides, p.254-255. In: Ibid. (Eds), Tratado de Anatomia Veterinária. Elsevier, Rio de Janeiro.
- Faria H.G., Stabile S.R. & Cassaro L. 2004. Efeitos da ingestão de água suplementada com vitamina C no desempenho de ratos submetidos à condição de estresse. Arqs Apadec, Maringá, 8:1-6.
- Furlan M.M.D.P., Miranda M.H.N., Sant'Ana D.M.G. & Molinari S.L. 2002. Morphoquantitative effects of acute diabetes on the myoenteric neurons of the proximal colon of adult rats. Arqs Neuro-Psiquiatr. 60:576-581.
- Ganong W.F. 2000. Diabetes. In: Ganong W.F. (Ed.), Fisiologia Médica. 19ª ed. Prentice-Hall do Brasil, São Paulo, p.305-308.
- Guilland C.J. & Lequeu B. 1995. Vitaminas hidrossolúveis, p.25-310. In: Guilland C.J. & Lequeu B. (Eds), As Vitaminas, do Nutriente ao Medicamento. Livraria Santos, São Paulo.
- Hendler S.S. 1994. Vitaminas hidrossolúveis, p.81. In: Ibid. (Ed.), A Enciclopédia de Vitaminas e Minerais. 8ª ed. Campus, Rio de Janeiro.

- Junod A., Lambert A.E., Orci L., Pictet R., Gonet A.E. & Renold A.E. 1967. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 126:201-205.
- Junqueira C.L. & Carneiro J. 2004. Órgãos linfóides, p.276-279. In: Junqueira C.L. & Carneiro J. (Eds), *Histologia Básica*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 1997. Diabetes mellitus, p.69-70. In: Kaneko J.J. (Ed.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press, London.
- Lang C.M. & Munger B.L. 1976. Diabetes mellitus in the guinea pig. *Diabetes* 25:434-443.
- Lindsay R.M., Jamieson N.S.D., Walker S.A., McGuigan C.C., Smith W. & Baird J.D. 1998. Tissue ascorbic acid and polyol pathway metabolism in experimental diabetes. *Diabetologia* 41:516-523.
- Lysy J. & Zimmerman J. 1992. Ascorbic acid status in diabetes mellitus. *Nutr. Res.* 12:713-720.
- Mann G.V. & Newton P. 1975. The membrane transport of ascorbic acid. Paper presented in: Second Conference on Vitamin C. *Annals New York Acad. Sci.* 258:243-252.
- Moser U. & Weber F. 1986. Uptake of ascorbic acid by leucocytes. *Annals of New York Academy Sciences* 498:200-214.
- Som S., Basu S., Mukherjee D., Deb S., Choudhury P.R., Mukherjee S., Chatterjee S.N. & Chatterjee I.B. 1981. Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus. *Metabolism, Clinical and Experimental* 30:572-577.
- Wilkinson I.B., McCallum H., Rooijmans D.F., Murray G.D., Cockcroft J.R. & Mcknight J.A. 2000. Increased argumentation index and systolic stress in type 1 diabetes mellitus. *Quart. J. Med.* 93:441-448.