



MODELOS MISTOS DE MISTURA NA AVALIAÇÃO DA QUERCETINA NO TRATAMENTO DA DIABETES

Felipe Barletta², Emerson Barili¹, Omar Pereira¹, Jaqueline Zanoni³, Juliana Martins³ e Isolde Prevideli¹

¹Departamento de Estatística - Universidade Estadual de Maringá

²Programa de Pósgraduação em Bioestatística - Universidade Estadual de Maringá

³Departamento de Farmácia - Universidade Estadual de Maringá

RESUMO

Em geral os modelos lineares clássicos (LM) não são adequados para analisar dados de observações correlacionadas e com distribuição não gaussiana. Neste estudo são observadas as quantidades de (com caspase-3 e 5ht) no mesmo rato, ou seja, existe uma correlação entre as observações pois essas substâncias são observadas na mesma célula do rato, portanto o ajuste de um modelo linear generalizado (GLM), que não permite modelar explicitamente a estrutura de correlação, também não é apropriado. Outra característica dos dados analisados acerca da variável resposta, é seu comportamento com uma densidade composta aparentemente por dois grupos com superdispersão o que inviabiliza o ajuste de um modelo misto linear generalizado $GLMM$. Portanto uma alternativa interessante para este cenário, é a aplicação da teoria de modelos mistos de mistura com estimação pela verossimilhança não paramétrica ($NPML$), que além de permitir a modelagem de dados de contagem usando uma função de ligação para descrever a relação funcional entre a esperança da variável resposta e um preditor linear η , que é a parte de efeitos fixos e também considera efeitos aleatórios e por fim a mistura de distribuições por meio do algoritmo EM . Uma aplicação em um experimento com animais conduzido no departamento de Farmácia/UEM sendo que o objetivo foi avaliar o efeito da suplementação com quercetina (presente em diversos legumes, frutas e vegetais) no tratamento de complicações intestinais causadas pelo diabetes mellitus, adotou-se um modelo misto de mistura

com composição log-Gama. Com isso, o modelo ajustado indicou que o grupo de animais diabéticos que receberam quercetina tiveram um aumento no número de células saudáveis em relação ao grupo controle, norteando que há evidências que a quercetina pode prevenir as alterações provocadas pelo diabetes. Os resultados corroboram com as evidências clínicas dos pesquisadores.

Palavras chave: Máxima verossimilhança não paramétrica, algoritmo EM, serotonina.

1 INTRODUÇÃO

A serotonina foi identificada, em 1949, como o principal neurotransmissor no trato gastrointestinal (Richard Green, 2006) e devido a sua ação antioxidante, ela tem sido usada largamente em estudos terapêuticos. A quantidade de células que contém serotonina é reduzida em ratos diabéticos (Portela-Gomes, et.al., 1990). É notório que a quercetina, que possui propriedade antioxidante, protege as células da apoptose mediada pelo estresse oxidativo (Lee et.al., 2003; Yu et.al., 2011). Portanto para investigar se o efeito da suplementação através da quercetina é eficaz para o tratamento em relação as complicações intestinais derivadas do diabetes, é importante observar dois tipos de substâncias: as produtoras de serotonina (5-HT) que são responsáveis pela atividade neurotransmissora e outra que indica processo de apoptose (morte programada) por meio da presença da enzima Caspase-3. Para isso, foram utilizados 16 ratos *Wistar* machos divididos em quatro grupos: normoglicêmico ou controle (C), normoglicêmico suplementado com quercetina (Q), diabético (D), e diabético suplementado com quercetina (DQ). No trigésimo dia após a administração da quercetina nos ratos eles foram mortos e coletou-se células do jejuno, que é uma região do intestino, e foram quantificadas através da presença das substâncias: 5-HT e a caspase-3, ou seja, existe uma correlação entre as observações pois essas substâncias são observadas na mesma célula de cada rato. As células foram evidenciadas por técnica de imuno histoquímica na região denominada de lâmina própria.

Dados com distribuição não gaussiana, superdispersão e observações correlacionadas são, em geral, características intrínsecamente inerentes a experimentos com animais. Essas condições acarretam que o ajuste de modelos de regressão clássicos, modelos lineares generalizados e até mesmo os modelos lineares mistos não consigam modelar satisfatoriamente a variabilidade contida nos dados. Uma alternativa bastante atrativa para modelar todos esses aspectos é a classe de modelos mistos de mistura (Hinde, 2006) com estimação via máxima verossimilhança não paramétrica. Uma peculiaridade importante de salientar ao utilizar estimação via *NPML*, é que a distribuição do efeito aleatório não precisa ser especificada (Hinde, 2006). Por fim, este modelo é apenas uma extensão dos modelos mistos lineares generalizados (*GLMM*).

O fato das observações serem correlacionadas, com cada rato tendo um valor

médio condicionado as suas particularidades, nos sugere a inclusão de efeito aleatório no intercepto. Ainda devido a variável resposta, quantidade de células, apresentar um comportamento que apresenta a composição de duas densidades, a adoção de um modelo misto de mistura, que por meio do algoritmo *EM* estima suas composições, configura uma abordagem mais apropriada.

2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 são apresentadas as estimativas dos parâmetros do modelo ajustado. Para a análise considerou-se como referência o grupo controle.

Tabela 1: Estimativas do modelo ajustado por grupos

Coefficientes	Estimativas	Erros padrão	P-valor
Grupo DQ	0,35	0,1963	0,052
Grupo D	- 0,26	0,1357	0,042
Grupo Q	- 0,05	0,08	0,278
5HT	- 0,15	0,0302	< 0,001
Densidade 1	6,8336	0,07	< 0,001
Densidade 2	7,8114	0,06	< 0,001
Densidade 1 : rato	0,0022	0,014	0,44
Densidade 2 : rato	- 0,03	0,017	0,046

Quando comparado ao grupo controle(C), o p-valor para o grupo de ratos diabéticos que receberam quercetina(DQ) é 0,052. Antes de tomar a decisão de rejeitar ou não a hipótese nula deste efeito, é pertinente dizer que, dado o conhecimento clínico dos pesquisadores, espera-se que o grupo de ratos doentes que são tratados com quercetina, no mínimo, atinjam o mesmo patamar de saúde do grupo controle. O fato do grupo DQ não ser estatisticamente diferente do grupo C, reforça a influência da quercetina no tratamento da diabetes. O grupo de ratos diabéticos também apresentou diferença significativa, em relação ao controle, com efeito negativo, $-0,26$, o que era esperado por se tratar de ratos doentes sem nenhum tratamento. Os ratos saudáveis que receberam quercetina mostrou um coeficiente estimado não significativo, que por analogia os espera-se que realmente não apresentem diferença do grupo controle. As estimativas dos parâmetros para as duas composições de densidade foram significativas, 6,8336 e 7,8114, respectivamente, nos sugerindo que a consideração de duas massas faz sentido para este estudo. Calculando a função exponencial das estimativas destes dois parâmetros, teremos o valor médio da quantidade de células para as duas densidades.

Portanto, observou-se melhoras significativas no tratamento da diabetes mellitus com quercetina, ou seja, aumentou a quantidade de células saudáveis no grupo diabético suplementado com quercetina em relação ao controle. Após averiguar o diagnóstico do ajuste, o modelo se mostrou eficiente para distinguir e estimar duas massas de dados e também conseguiu contornar o problema de superdispersão, como pode se ver na Figura 1, e ainda incorporar o efeito aleatório e produzir estimativas

e previsões confiáveis. Todos esses aspectos tornam esta abordagem muito atraente e eficaz para confirmar o efeito da quercetina no tratamento em ratos diabéticos.

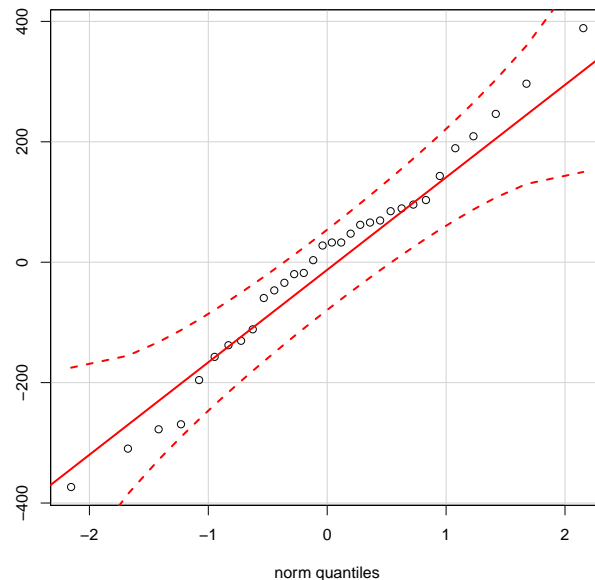


Figura 1: Envelope Simulado

Referências

- [1] HINDE, J.; EINBECK, J. Nonparametric maximum likelihood estimation for random effect models in R, 2206.
- [2] PINHEIRO, J.; BATES, D., DEBROY, S.; SARKAR, D. nlme: Linear and Non-linear Mixed Effects Models, 2016, R package version 3.1-128, <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- [3] McCULLOCH, C.E.; SEARLE, S.R. *Generalized, Linear, and Mixed Models*. John Wiley and Sons, Inc, 2001.
- [4] GREEN, R. A. (2006). *Neuropharmacology of 5-hydroxytryptamine*. British journal of pharmacology, 147(S1):S145–S152.
- [5] PORTELA-GOMES, G., WILANDER, E., GRIMELIUS, L., BERGSTROM, R., and RUHN, G. (1990). *The enterochromaffin cells in the mouse gastrointestinal tract after streptozotocin treatment*. Pathology-Research and Practice, 186(2):260–264.
- [6] LEE, J.-C., Kim, J., Park, J.-K., Chung, G.-H., and Jang, Y.-S. (2003). The antioxidant, rather than prooxidant, activities of quercetin on normal cells: quercetin protects mouse thymocytes from glucose oxidase-mediated apoptosis. Experimental cell research, 291(2):386–397.
- [7] R Core Team (2016). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.