

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DA MUCOSA GÁSTRICA DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE GLÚTEN DE TRIGO

Kayo Thiago Perroni (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ghiovani Zanzotti Raniero (PEG), Antonio Roberto Giriboni Monteiro (DAL), João Victor Guedes Duda (DBI), Anne Caroline Santa Rosa (co-orientadora), Maria Raquel Marçal Natali (Orientador). E-mail: mrmnatali@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, da Saúde e Tecnologia, Maringá, PR.

Área: Ciências Biológicas. Subárea: Morfologia.

Palavras-chave: estômago; prolaminas; trato gastrointestinal.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar se a ingestão de níveis crescentes de glúten de trigo altera a morfologia da mucosa gástrica de ratos. Foram utilizados 24 (*Rattus norvegicus*) Wistar machos, grupos (n=8), com 21 dias de idade, tratados com ração peletizada para roedores, com níveis crescentes de glúten de trigo, até os 90 dias de idade, quando foram eutanasiados. Constituíram os seguintes grupos: SG - ração isenta de glúten; CG14%- ração com teor normal de glúten e grupo EG42% - ração com sobrecarga de glúten. Foram utilizadas amostras de estômago submetidas a processamento histológico com inclusão em parafina e coloração com Hematoxilina-Eosina para avaliar a espessura das túnicas estomacais e quantificação das células parietais; impregnação pela prata (método de Grimelius) para a evidenciação e quantificação de células enteroendócrinas e reação histoquímica PAS para a quantificação das células mucosas superficiais. Após testes de normalidade, os dados foram submetidos a Análise de Variância e pós-teste de Tukey, ou teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn's e adotado o nível de significância de 5%. Houve manutenção da morfologia do estômago e ausência de diferenças significativas para a espessura das túnicas mucosa, submucosa e túnica muscular externa. Com relação a quantificação dos tipos celulares avaliados na mucosa gástrica não foram constatadas diferenças significativas entre os grupos. Conclui-se que a oferta por 69 dias, de rações com níveis crescentes de glúten de trigo, 0%, 14% e 42% não teve efeito sobre a mucosa gástrica de ratos.

INTRODUÇÃO

Nos cereais como trigo, cevada, centeio e aveia, encontra-se o glúten, um conjunto de proteínas de armazenamento chamadas prolaminas; na Doença Celíaca (DC) é comum indivíduos serem intolerantes a estes componentes proteicos (Balakireva; Zamyatnin, 2016). O glúten funciona como um antígeno luminal, acometendo cada órgão de uma maneira diferente, de acordo com a idade, dieta e predisposição

genética da pessoa, provocando distúrbios morfofuncionais, que levam à inflamação local e sistêmica e podem causar alterações no trato gastrointestinal (TGI), sendo a mais comum delas a atrofia da mucosa e infiltração de linfócitos (Villanacci et al., 2020). No entanto, nem todos os indivíduos apresentam alergia a este componente; exames clínicos revelam uma hipersensibilidade à exposição ao excesso de glúten, e este quadro é considerado em indivíduos como sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG). O primeiro órgão a permanecer mais tempo em contato com as porções de prolaminas, é o estômago. Este órgão possui uma região glandular responsável pelo controle hormonal e secreção de fatores de crescimento e digestivos, controlados por diferentes tipos celulares, como exemplo as células parietais, células principais, células enteroendócrinas e células mucosas. Manifestações histológicas recorrentes, como lesões nas células epiteliais, atrofia da mucosa gástrica, alteração na produção e secreção de muco protetor e mudanças na atividade das células enteroendócrinas estão associadas ao consumo de glúten, levando a má absorção nutricional e diarreias. São escassas as informações sobre os efeitos que diferentes níveis de glúten podem causar na morfologia do estômago. Sendo assim, a proposta desse trabalho foi avaliar os efeitos da ração com níveis crescentes de glúten sobre a mucosa gástrica de ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Grupos experimentais

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UEM (Parecer CEUA nº 6295090221- ID 002945). Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, machos (n=8), com 21 dias de idade. Os ratos foram mantidos no biotério do Departamento de Ciências Morfológicas e receberam ração peletizada para roedores, produzida no Laboratório de Análise de Alimentos no Departamento de Engenharia de Alimentos (DAL/UEM), por 69 dias. Diferiram entre si pelo tipo de ração ofertada, que tiveram seus níveis de glúten de trigo manipulados; sendo, Grupo SG: ração isenta de glúten (0%); Grupo CG: ração com teor normal de glúten (14%) e Grupo EG: ração com sobrecarga de glúten (42%).

Coleta e Processamento do Material Biológico

Após 69 dias experimentais os animais foram eutanasiados após jejum noturno por aprofundamento de anestésico Tiopental (120 mg.kg de peso corporal) via intraperitoneal (®Cristália- Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, SP- Brasil), seguido de laparotomia vertical e coleta do estômago. Amostras do estômago glandular foram fixadas em paraformaldeído por 24 horas, sendo posteriormente transferidas para solução de álcool 70%. Depois foram desidratadas, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina para realização de cortes histológicos transversais semi-seriados de 5µm de espessura (Micrótomo rotativo (Leica® RM2245). Os cortes foram submetidos a colorações específicas: 1. Hematoxilina e Eosina (HE) – utilizada para a análise morfológica e morfométrica das túnicas mucosa, submucosa

e muscular externa. A mensuração ocorreu em 64 pontos/animal/imagens capturadas em objetiva de 10X. Também foi utilizada para a quantificação das células parietais (50 imagens/animal/objetiva de 40X); 2. Método de impregnação pela prata (Grimelius) – utilizada para evidênciação e quantificação das células enteroendócrinas. Foram capturadas 24 imagens/animal/objetiva de 40X, e a quantificação foi realizada no terço inferior da mucosa gástrica; 3. Método Histoquímico P.A.S (Ácido Periódico de Schiff) - utilizada para evidênciação e quantificação das células mucosas superficiais. Foram capturadas 24 imagens/animal/objetiva de 40X. As imagens foram capturadas em microscópio óptico Olympus BX41®. A área das imagens em 40X correspondia a 31850.26 μm^2 . A análise morfométrica foi realizada em microscópio óptico Olympus com kit para captura de imagens *Axioscop 2 Plus* (Zeiss, Alemanha) e programa *Image-Pro Plus 4.5*® (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA). Os dados foram submetidos à Análise de variância (one-way ANOVA) e pós-teste de Tukey, ou teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn's, conforme a normalidade dos dados. Resultados expressos como média \pm desvio padrão e o nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A organização histológica do estômago foi preservada entre os grupos estando de acordo com a literatura (Junqueira; Carneiro, 2019). A tabela 1 apresenta a espessura das túnicas mucosa, submucosa e muscular externa, não havendo diferenças significativas entre os grupos, não caracterizando atrofia da mucosa gástrica.

Tabela 1. Análise morfométrica (espessura) das túnicas mucosa, submucosa e muscular externa do estômago de ratos alimentados com rações contendo níveis crescentes de glúten de trigo: 0% (SG), 14% (CG) e 42% (EG).

Parâmetros (μm)	SG	CG	EG
Túnica Mucosa	311,2 \pm 13,15	318,2 \pm 26,39	332,5 \pm 24,67
Túnica Submucosa	13,22 \pm 5,86	12,09 \pm 2,38	15,95 \pm 2,78
Túnica Muscular Externa	78,21 \pm 18,59	74,64 \pm 14,43	92,39 \pm 18,42

Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Análise de Variância One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey considerando $p < 0,05$.

Na análise quantitativa (Fig 1) das células avaliadas na mucosa gástrica: parietais, mucosas superficiais e enteroendócrinas não foram encontradas diferenças significativas indicando ausência de efeito do nível de glúten de trigo na ração utilizada por 69 dias: SG (0%), CG (14%) e EG (42%).

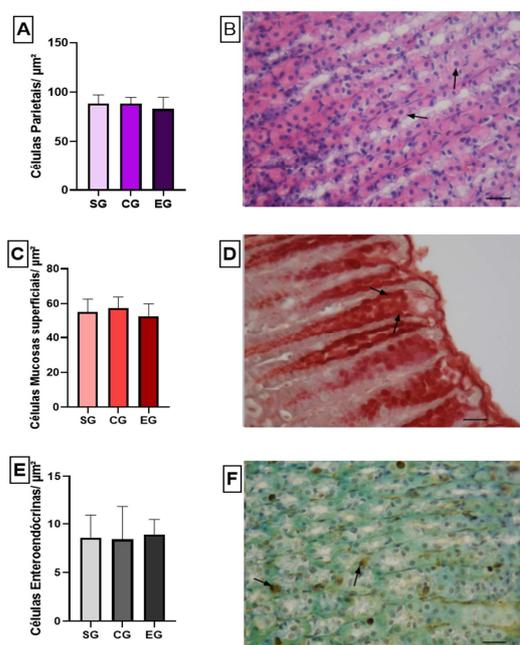


Figura 1 – Tipos celulares quantificados na mucosa gástrica de ratos dos grupos: SG (0%), CG (14%) e EG (42%). **A.** N°de células parietais/ μm^2 . **C.** N°de células mucosas superficiais/ μm^2 . **E.** N° de células enteroendócrinas/ μm^2 . Fotomicrografia da mucosa gástrica **B.** Células parietais (setas), HE (40X). **D** Células mucosas superficiais (setas) P.A.S (40X) **F.** Células enteroendócrinas (setas) Método de Grimelius (40X) Barra de calibração: 10 μm .

CONCLUSÕES

O consumo por 69 dias de ração com níveis crescentes de glúten de trigo, 0%, 14% e 42% não teve efeito sobre a mucosa gástrica de ratos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/FA/UEM pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica e apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

BALAKIREVA A.V.; ZAMYATNIN A.A. Properties of gluten intolerance: gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. **Nutrients**. 18;8(10): 644, 2016.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO. J. **Histologia Básica - Texto & Atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2019.

VILLANACCI V, et al. Celiac disease: histology-differential diagnosis-complications. A

32º Encontro Anual de Iniciação Científica
12º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



23 e 24 de Novembro de 2023

practical approach. **Pathologica**, 112(30):186, 2020.