



## EFEITOS DE DIETAS COM NÍVEIS CRESCENTES DE GLÚTEN SOBRE O MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO DE RATOS

Lucas Pacheco dos Santos (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Gabriela Barone Volce da Silva (Mestre/PBC/UEM), Ana Luiza Russo Duarte (Mestre/PBC/UEM), Anne Caroline Santa Rosa (Mestre/PBC/UEM), Maria Raquel Marçal Natali (Coorientador), Fernanda Losi Alves de Almeida (Orientador) e-mail: flaalmeida@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

### Ciências Biológicas /Morfologia

**Palavras-chave:** miopatia; sensibilidade não celíaca ao glúten; tecido muscular esquelético

### RESUMO

O glúten, um componente protéico presente na maioria dos farináceos, como trigo, cevada e centeio, em excesso, pode promover respostas de hipersensibilidade, como a sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG) e doença celíaca (DC). A SNCG caracteriza-se por um conjunto de alterações morfofisiológicas no trato gastrointestinal. Além dos sintomas gastrointestinais, que são típicos da DC e da SNCG, também são descritas manifestações neurológicas e miopatias, principalmente as inflamações musculares. O objetivo deste trabalho foi avaliar a morfologia e morfometria das fibras do músculo gastrocnêmio de ratos alimentados após o desmame com ração contendo níveis crescentes de fonte de glúten de trigo até os 121 dias de idade. No presente estudo, ratos alimentados com altos níveis e sobrecarga de glúten na dieta tiveram atrofia das fibras musculares do músculo gastrocnêmio.

### INTRODUÇÃO

As enteropatias de sensibilidade ao glúten são um conjunto espectral de diversas manifestações à ingestão de glúten através de sintomas intestinais ou extra-intestinais (Hadjivassiliou *et al.*, 2006). O trigo assume papel relevante na indução dessas enteropatias, uma vez que ele compõe o grupo dos oito alimentos mais alergênicos do mundo. Conforme Yonamine e Pinotti (2020), a sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG) é uma patologia de natureza não alérgica e não autoimune que ocorre nos pacientes que tiveram diagnóstico de alergia ao trigo (AT) e DC descartados.



As sensibilidades, como as alergias, são imunomediadas, mas podem resultar de reações mais tardias e dependem da quantidade ingerida (quanto maior a ingestão, maior a resposta do organismo) (Cole; Adamson, 2021).

Na literatura, a maior parte dos estudos que relaciona o glúten às suas manifestações sobre a musculatura esquelética não precisa as alterações musculares microscópicas, dando enfoque à sintomatologia muscular promovida por esse composto proteico. Dessa forma, esse estudo se destaca por investigar as alterações no tecido muscular que diferentes níveis de fonte de glúten na dieta promoveram. Esse estudo objetiva avaliar a morfologia e morfometria das fibras musculares do músculo gastrocnêmio de ratos alimentados até os 121 dias de idade após o desmame com ração contendo níveis crescentes de glúten de trigo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) sob parecer nº 6295090221.

Foram utilizados 50 ratos Wistar, machos, com 21 dias de idade, mantidos em condições padrão de biotério. Os animais foram organizados em grupos, conforme o nível de fonte de glúten de trigo presente na ração: G0 - sem glúten; G14 - controle com 14% de fonte de glúten; G42 - com alto nível de fonte de glúten (42%); G70 - com sobrecarga de fonte de glúten (70%) e G70/0 - com sobrecarga de fonte de glúten por 70 dias e, após, receberam ração isenta de glúten durante 30 dias. Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados por sobrecarga anestésica. Os músculos gastrocnêmio foram dissecados e fragmentos foram envolvidos em talco neutro, congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -80 °C até o processamento. Cortes histológicos transversais, com 10 µm de espessura, foram obtidos em criostato e submetidos à coloração Hematoxilina-Eosina para avaliar a morfologia e morfometria (determinação do menor diâmetro) de 200 fibras musculares por animal.

A análise estatística dos dados foi realizada no programa GraphPad Prism v.8. Os resultados foram expressos como mediana e intervalo interquartil com 95% de intervalo de confiança. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn's. O valor de  $p$  menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

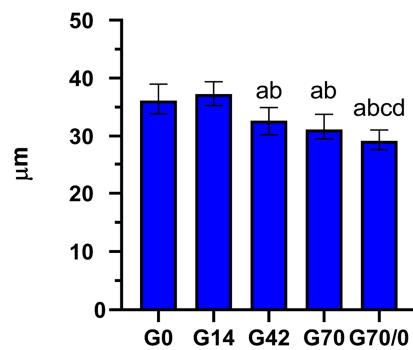
A análise morfológica das amostras do músculo gastrocnêmio mostrou, em todos os grupos (G0, G14, G42, G70 e G70/0), organização histológica típica da musculatura

esquelética, constituída por fibras com formato poligonal, coloração acidófila e multinucleadas, com núcleos periféricos. Observou-se o perimísio, constituído por tecido conjuntivo denso não-modelado, envolvendo feixes de fibras musculares, e o endomísio envolvendo cada fibra muscular. Os diferentes níveis de fonte de glúten de trigo na dieta não resultaram em alterações morfológicas no músculo gastrocnêmio.

O diâmetro das fibras musculares foi significativamente menor no G42 (mediana: 32,7; valor mínimo: 25,8; valor máximo: 43,0 µm), G70 (31,2; 23,8; 43,2 µm) e G70/0 (29,2; 21,0; 37,7 µm) quando comparado ao G0 (36,1; 28,2; 48,2 µm) e controle G14 (37,3; 26,8; 50,7 µm) (Figura 1). Hadjivassiliou *et al.* (2006) relataram uma série de treze casos envolvendo pacientes com sensibilidade celíaca e que desenvolveram miopatias e foram submetidos a biópsias musculares para análise neuromuscular. Os autores encontraram nesses pacientes, entre outros achados, fibras atróficas. De modo semelhante, os animais alimentados com sobrecarga e excesso de fonte de glúten tiveram atrofia das fibras do músculo gastrocnêmio.

Um sintoma de especial interesse no estudo da SNCG é a ataxia ao glúten, manifestação que pode ocorrer na ausência de DC marcada por um acometimento permanente do sistema nervoso central, produzindo uma sintomatologia muscular marcada por ataxia predominante em membros inferiores, disartria etc. (Therrien; Kelly; Silvester, 2019). Esse estudo ilustra como manifestações sistêmicas da SNCG podem permanecer em dietas ricas em glúten. Na presente análise, vale pontuar que os animais do grupo G70/0, os quais foram alimentados com dieta contendo excesso de fonte de glúten e, após, com uma dieta isenta de glúten, apresentaram fibras menores que o grupo controle (G14). Isso pode ilustrar como algumas manifestações sistêmicas da SNCG podem se tornar permanentes, não retornando à normalidade apesar da retirada da dieta com alto teor de glúten e introdução de uma dieta isenta de glúten.

#### MORFOMETRIA GASTROCNÊMIO



**Figura 1** – Gráfico ilustrando a morfometria (menor diâmetro, µm) das fibras do músculo gastrocnêmio. G0: grupo alimentado com ração isenta de fonte de glúten; G14: grupo controle alimentado com 14% de fonte de glúten; G42: grupo alimentado com alto nível (42%) de fonte de



glúten; G70: grupo alimentado com sobrecarga (70%) de fonte de glúten; G70/0: grupo alimentado por 70 dias com sobrecarga (70%) de fonte de glúten de trigo e 30 dias com ração isenta de glúten. Resultados expressos como mediana e intervalo interquartil com 95% de intervalo de confiança (CI). Letras minúsculas indicam diferença estatística significativa. a: p < 0.05 versus G0; b: p < 0.05 versus G14; c: p < 0.05 versus G42; d: p < 0.05 versus G70.

## CONCLUSÕES

Nesse estudo, os diferentes níveis de fonte de glúten de trigo na dieta dos ratos não alteraram a morfologia do músculo gastrocnêmio. Os animais alimentados com alto nível (G42) e sobrecarga de fonte de glúten de trigo (G70 e G70/0) tiveram atrofia das fibras do músculo gastrocnêmio. Nos animais do grupo G70/0, a atrofia das fibras musculares não foi revertida mesmo com a retirada do glúten.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao programa PIBIC/CNPq-FA-UEM pela bolsa concedida e à minha orientadora pelo apoio e auxílio.

## REFERÊNCIAS

- COLE, Will; ADAMSON, Eva. **O Espectro da Inflamação**. Editora Alta Books, 2021.
- HADJIVASSILIOU, M. et al. Myopathy associated with gluten sensitivity. **Muscle & Nerve**, v. 35, n. 4, p. 443–450, 1 dez. 2006.
- THERRIEN, A.; KELLY, C. P.; SILVESTER, J. A. Celiac Disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 54, n. 1, p. 1, set. 2019.
- YONAMINE, Glauce H.; PINOTTI, Renata. **Alergia alimentar: alimentação, nutrição e terapia nutricional**. Editora Manole, 2020.