

MODELO DE SENSIBILIDADE NÃO CELÍACA AO GLÚTEN: AVALIAÇÃO DA MUCOSA INTESTINAL (CÉLULAS CALICIFORMES E LINFÓCITOS INTRAEPITELIAIS) DE RATOS WISTAR.

Angelo Cezar Bolognese Junior (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ana Luiza Russo Duarte, Gabriela Barone Volve da Silva, Anne Caroline Santa Rosa, Antonio Roberto Giriboni Monteiro, Maria Raquel Marçal Natali (Orientadora). E-mail: mrmnatali@uem.br.

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

Área: Ciências Biológicas. Subárea: Histologia.

Palavras-chave: Duodeno; íleo; indicadores biométricos.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi estabelecer os indicadores biométricos e quantificar os linfócitos intraepiteliais (LIEs) e as células caliciformes produtoras de mucinas neutras (CC) na mucosa intestinal de ratos alimentados com níveis crescentes de glúten de trigo durante 100 dias. Foram utilizados 21 ratos machos da linhagem Wistar ($n=7$), com 21 dias de idade, divididos em G14 - ração com 14% de glúten; G42 - ração com 42% de glúten; e G70 - ração com 70% de glúten. Após o período experimental de 121 dias, foi realizada a pesagem e eutanásia dos animais. O sangue foi retirado e os depósitos de tecido adiposo foram pesados. O duodeno e o íleo foram coletados para análise da mucosa e corados com HE, para quantificação de LIEs, e com reação histoquímica PAS, para evidência de CC. Os resultados demonstraram elevação na massa corporal final no grupo G70 em relação ao G14. No grupo G42 houve alteração dos triglicerídeos em relação ao G14. No duodeno houve aumento de LIEs nos grupos G42 e G70 em relação ao G14. No íleo, G42 apresentou aumento significativo em relação aos demais grupos. A quantificação das CC, tanto no duodeno quanto no íleo, não apresentou diferenças significativas entre os grupos. Conclui-se que, níveis crescentes de glúten interferem na massa corporal e na mucosa intestinal através do aumento de LIEs, sugerindo caráter inflamatório do glúten.

INTRODUÇÃO

O consumo de glúten, constituído por prolaminas e gluteninas, tem sido associado a diversos distúrbios gastrointestinais, mesmo na sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG), a qual não apresenta sorologia positiva para doença celíaca (SIDDQUI *et*

al., 2022). Estudos sugerem que o consumo de glúten por indivíduos com SNCG pode estar associado ao aumento da permeabilidade intestinal, podendo ser associado ao aumento de linfócitos intraepiteliais e consequente ativação da resposta inflamatória local (HOFFMANOVÁ *et al.*, 2018). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de rações com níveis crescentes de glúten de trigo sobre a mucosa duodenal e ileal de ratos Wistar adultos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aos 21 dias de idade, 21 *Rattus norvegicus* machos da linhagem Wistar foram divididos em 3 grupos (G14, G42 e G70) (n=7) e alimentados, durante 100 dias, pelas rações com os respectivos níveis crescentes de glúten de trigo: 14%, 42% e 70%. As rações foram produzidas pelo Departamento de Engenharia de Alimentos – UEM). Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (nº 4375010922) e o consumo de água e ração foram *ad libitum*. O peso dos animais foi avaliado e a massa corporal final (MCF) foi representada em gramas (g). Aos 121 dias os animais foram eutanasiados por aprofundamento de anestesia após jejum noturno (Ketamina 90 mg/kg + Xilazina 9 mg/kg). Amostras de sangue foram retiradas para as dosagens plasmáticas de proteína total (PT), triglicerídeos (TG) e colesterol total (CT). Os depósitos de tecido adiposo mesentérico (ME), retroperitoneal (RP) e periepídidimo (PE) foram coletados e pesados. Amostras de duodeno e íleo foram coletadas, fixadas em paraformaldeído, transferidas para álcool 70%, incluídas em parafina, seccionadas em cortes histológicos transversais semi-seriados. Posteriormente, foram corados com HE, para a quantificação de LIEs em 50 vilos/animal, e com reação histoquímica PAS, para evidência e obtenção do índice de CC de mucinas neutras entre 2500 células epiteliais (CC e enterócitos) por animal, expresso em porcentagem. Todas as imagens foram analisadas em microscópio óptico (objetiva 40X). Os dados estatísticos foram submetidos à análise de variância *one-way* ANOVA, seguido de pós teste de Tukey com nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos dados biométricos, a MCF aumentou de forma significativa nos animais do grupo G70 em relação ao grupo G14. Entretanto, a massa dos depósitos de tecido adiposo ME, RP e PE não apresentaram resultados significativos ($p < 0,05$) (Tabela 1). A análise dos parâmetros bioquímicos mostra que houve aumento significativo do TG no grupo G42 em relação ao G14 (Tabela 2). O valor das PT e do CT não apresentaram diferenças entre os grupos. A respeito da quantificação dos LIEs (Figura 1), no duodeno houve aumento nos grupos de acordo com a porcentagem de glúten presente na ração. Desta forma, houve aumento significativo no grupo G42 em relação ao G14 e no G70 (Figura 1A). No íleo, os animais que

receberam 42% de glúten foram os que apresentaram o maior número de LIEs, diferindo estatisticamente dos demais grupos. Os animais G14 e G70 não apresentaram diferenças entre si (Figura 1B). Essa variação numérica é semelhante aos resultados obtidos por Ensari *et al.*, 2022 na SNCG. A quantificação das CC de mucinas neutras, tanto no duodeno quanto no íleo, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, Figuras 2A e 2B, respectivamente.

Tabela 1. Indicadores biométricos: Massa corporal final (MCF) (g) e depósitos de tecido adiposo (g/100g de massa corporal): mesentérica (ME), retroperitoneal (RP) e periepídicima (PE) de ratos alimentados com diferentes níveis de glúten de trigo apresentados como: 14% (G14), 42% (G42) e 70% (G70).

	G14	G42	G70
MCF	403.50 ± 29.84	436.90 ± 52.23	461.78 ± 39.73 ^a
ME	1.09 ± 0.34	1.13 ± 0.29	0.96 ± 0.31
RP	3.03 ± 0.33	3.11 ± 0.48	3.24 ± 0.20
PE	2.63 ± 0.54	2.62 ± 0.50	2.18 ± 0.55

One-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey, expressos em média ± desvio padrão. (n=7/grupo). ^a p<0.05 vs. G14.

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos sanguíneos: proteína total (PT) (g/dL), triglicerídeos (TG) (mg/dL) e colesterol total (CT) (mg/dL) de ratos alimentados com diferentes níveis de glúten de trigo apresentados como: 14% (G14), 42% (G42) e 70% (G70).

	G14	G42	G70
PT	5.59 ± 0.34	5.63 ± 0.24	5.82 ± 0.92
TG	179.29 ± 68.31	268.71 ± 81.27 ^a	244.50 ± 102.92
CT	107.38 ± 11.38	119.46 ± 34.40	115.26 ± 24.34

One-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey, expressos em média ± desvio padrão (n=7/grupo). ^a p<0.05 vs. G14

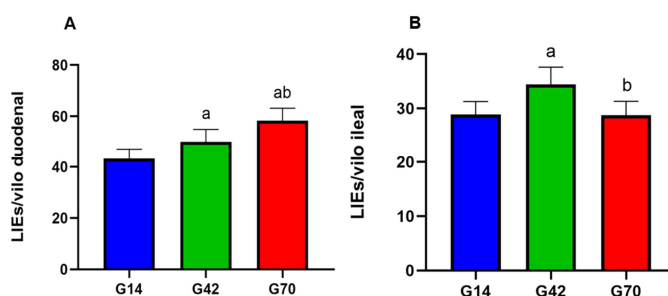


Figura 1 – Número de linfócitos intraepiteliais em 50 vilos por animal. Técnica HE para evidencição de linfócitos do (A) duodeno e do (B) íleo de ratos alimentados com diferentes níveis de glúten de trigo apresentados como: 14% (G14), 42% (G42) e 70% (G70).

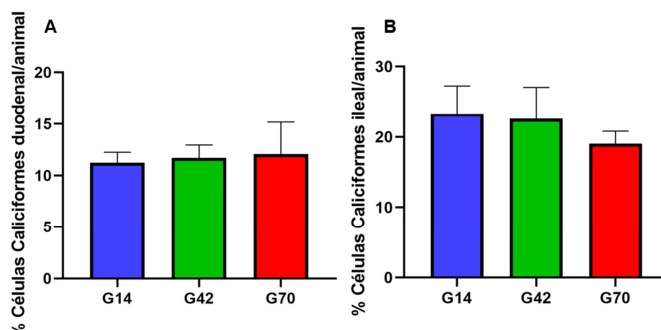


Figura 2 – Percentual de células caliciformes. Reação histoquímica PAS para evidencição de mucinas neutras (A) do duodeno e (B) do íleo de ratos alimentados com diferentes níveis de glúten de trigo apresentados como: 14% (G14), 42% (G42) e 70% (G70).

CONCLUSÕES

A administração de níveis crescentes de glúten de trigo na alimentação de ratos Wistar adultos foi capaz de interferir na massa corporal final, no triglicerídeo e no número de linfócitos intraepiteliais. Entretanto, não foi capaz de alterar a massa dos depósitos de tecido adiposo e o índice de células caliciformes.

AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro da CAPES e CNPq.

REFERÊNCIAS

- ENSARI, A.; ERSOZ, C. C.; KIRMIZI, A.; KIREMITCI, S. (2022) **Histopathologic aspects of gluten-related disorders**. p. 113-128. DOI: 10.1016/b978-0-12-821846-4.00002-4.
- HOFFMANOVÁ, I.; SÁNCHEZ, D.; TUČKOVÁ, L.; TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. Celiac Disease and Liver Disorders: from putative pathogenesis to clinical implications. **Nutrients**, v. 10, n. 892, p.1-17. 2018. DOI: 10.3390/nu10070892.
- SIDDIQUI, U. N.; PERVAIZ, A.; KHAN, Z. B.; SULTANA, T. Diagnostic Dilemma, Possible Non-celiac Gluten Sensitivity: consideration in approach and management. **Cureus**, v. 14, p. 1-6. 2022. DOI: 10.7759/cureus.25302.