

MODELO DE SENSIBILIDADE NÃO CELÍACA AO GLÚTEN: AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO JEJUNO DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM NÍVEIS CRESCENTES DE GLÚTEN DE TRIGO.

Priscila Souza Sotti (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Anne Caroline Santa Rosa (PBC), Gabriela Barone Volce da Silva, Ana Luiza Russo Duarte, Maria Raquel Marçal Natali (DCM, Orientador), e-mail: mrmnatali@uem.br

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

Área: Ciências Biológicas. Subárea: Morfologia

Palavras-chave: gliadina; intestino delgado; linfócitos intraepiteliais.

RESUMO

A sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG) é caracterizada por um conjunto de alterações morfofisiológicas no trato gastrointestinal de forma local e sistêmica. Atrofia de vilos e hiperplasia de criptas intestinais, aumento no número de linfócitos intraepiteliais (LIEs), alterações da microbiota, distensão abdominal e sintomas extraintestinais são manifestações do consumo de glúten em altas concentrações. O objetivo dessa proposta foi avaliar os aspectos morfológicos e morfométricos da parede intestinal de ratos alimentados com ração contendo níveis crescentes de glúten de trigo até os 121 dias de idade. Foram utilizados 50 ratos Wistar machos (n=10), assim distribuídos: G0-sem glúten (0%); G14-controle com glúten (14%); G42-com alto nível de glúten (42%); G70-com sobrecarga de glúten (70%) e G70/0-com sobrecarga de glúten por 70 dias e após receberam ração isenta de glúten de trigo. Após o período experimental de 121 dias, foi realizada a eutanásia dos animais. O jejuno foi coletado para processamento histológico, posterior microtomia e coloração com Hematoxilina-Eosina (HE) para análise morfológica e quantificação de LIEs. Os resultados indicaram manutenção das características histológicas do jejuno em todos os grupos. No entanto, houve redução na altura dos vilos e espessura da mucosa nos animais do grupo G70- com sobrecarga de glúten de trigo, bem como um aumento no número de LIEs nesse mesmo grupo, em relação aos outros grupos experimentais. Conclui-se que, a ração com sobrecarga de glúten de trigo (G70%) alterou a morfometria da parede do jejuno e causa inflamação em ratos Wistar.

INTRODUÇÃO

O glúten é uma proteína encontrada em grãos, como a cevada, centeio, aveia e trigo, sendo uma combinação complexa de prolaminas e gluteninas, que dão viscosidade e elasticidade aos alimentos. A proteína mais comum utilizada na alimentação é o glúten de trigo. Em geral, essas proteínas possuem propriedades antigênicas, e podem desencadear respostas intestinais, em condições genéticas, como a Doença Celíaca, e na sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG). Os principais sintomas da SNCG envolvem alterações no intestino delgado, como a atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas intestinais, associado ao aumento de linfócitos intraepiteliais (LIEs), células responsáveis pela resposta imunológica inicial no intestino, e que quando presentes demonstram uma atividade inflamatória da mucosa. Respostas sintomáticas como vômitos, diarreia e fezes sanguinolentas também são descritas. Os sinais clínicos, desencadeados pelo contato do glúten, podem provocar alterações locais e sistêmicas, gerando um grande impacto na qualidade de vida dos indivíduos. O objetivo do trabalho foi avaliar se a ingestão de rações com níveis crescentes de glúten de trigo altera a morfologia do jejuno de ratos Wistar e o número de LIEs no modelo de sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG).

MATERIAIS E MÉTODOS

Após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (UEM), CEUA, foram utilizados 50 *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos, com idade de 21 a 120 dias, pesando inicialmente entre 45 a 60g. Os animais foram distribuídos em cinco grupos (n=7) conforme os níveis de glúten de trigo presentes nas rações, até os 121 dias de idade: G0-sem glúten; G14-controle com glúten (14%); G42-com alto nível de glúten (42%); G70-com sobrecarga de glúten (70%) e G70/0-com sobrecarga de glúten por 70 dias e após receberam ração isenta de glúten de trigo. Após 121 dias experimentais, foi realizada a eutanásia dos animais, por aprofundamento de anestesia (Ketamina 90 mg/kg +Xilazina 9 mg/kg); o jejuno foi coletado e fixado para processamento histológico com coloração em Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação morfoquantitativa da parede jejunal, e suas túnicas: mucosa, submucosa e muscular, altura e largura dos vilos e profundidade de cripta. As imagens foram capturadas em objetiva de 10X em microscópio óptico e a espessura estimada em 10 pontos aleatórios por corte, perfazendo 100 mensurações/animal/ grupo, para cada parâmetro através do sistema de análises de imagens (Image Pro-Plus® 4.5), com resultados expressos em μm . Para quantificação do número de LIEs, foram avaliadas imagens de lâminas coradas com HE capturadas em objetiva de 40X, e quantificados todos os LIEs presentes em 2.500 enterócitos. A análise estatística dos dados foi realizada por teste K-S para verificação da normalidade e os dados submetidos a Análise de Variância (one-way ANOVA) e pós-teste de Tukey, sendo o valor de $p < 0,05$ considerado significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A morfologia da parede jejunal, manteve os padrões típicos da organização histológica entre os grupos. Na morfometria jejunal constatou-se que houve diferença significativa no grupo controle (G14%) em relação ao grupo G70%; mostrando que a sobrecarga (G70) de glúten de trigo, foi capaz de reduzir 13,3% o tamanho da mucosa jejunal. Também, houve redução de 14,39% e 11,27% na altura dos vilos (Tabela 1), no grupo G70% em relação ao grupo G0% e controle G14%, respectivamente.

Tabela 1. Morfometria (μm) da parede jejunal total, das túnicas mucosa, submucosa, muscular externa, altura dos vilos e profundidade das criptas de ratos alimentados com ração em níveis crescentes de glúten (trigo) apresentados como 0%, 14%, 42%, 70% e 70/0%.

μm	G0%	G14%	G42%	G70%	G70/0%
Parede Total	809.5 \pm 37.40	777.8 \pm 27.81	735.5 \pm 30.17	681.8 \pm 26.74	741.3 \pm 26.69
Mucosa	714.3 \pm 34.13	690.7 \pm 27.95	637.5 \pm 26.68	598.9 \pm 22.63 ^b	646.3 \pm 21.29
Submucosa	20.85 \pm 1.213	25.27 \pm 1.058	22.27 \pm 1.261	20.69 \pm 1.950	24.19 \pm 0.9117
Muscular	67.38 \pm 4.868	84.68 \pm 8.069	70.98 \pm 5.591	58.48 \pm 3.841	67.17 \pm 4.540
Alt. dos vilos	520.0 \pm 23.45	501.7 \pm 18.60	444.5 \pm 17.08	445.2 \pm 12.63 ^{ab}	471.5 \pm 16.63
Prof. de cripta	132.3 \pm 7.616	142.4 \pm 7.864	135.1 \pm 7.592	132.7 \pm 5.299	123.6 \pm 5.938
Larg. Dos vilos	74.71 \pm 3.140	74.74 \pm 3.340	70.50 \pm 1.854	75.29 \pm 3.538	62.05 \pm 2.469

Dados apresentados como média \pm erro padrão. Análise de Variância One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey considerando $p < 0,05$. Letras distintas representam \neq estatística significativa, onde a= difere de 0%; b= difere de 14%; c= difere de 42%; d= difere de 70% e E= difere de 70/0% (n=7/grupo).

Yu e colaboradores (2022), encontraram em jejuno de camundongos características semelhantes às aqui descritas, com redução das vilosidades intestinais e da espessura da mucosa do intestino delgado. A atrofia das vilosidades e ampliação longitudinal das criptas são frequentes em pacientes que possuem doenças envolvendo a sensibilidade ao glúten, quando há o consumo desse componente na dieta (DI SABATINO et al., 2015). A migração de LIEs para o epitélio intestinal indicam inflamação tecidual (Figura 1), nossos resultados apresentaram um crescimento no percentual destas células frente as rações com sobrecarga de glúten de trigo (G70%), mostrando que os animais que receberam essa ração tiveram um aumento de 28,94% no número de LIEs, indicando inflamação local.

Nossos resultados corroboram com os descritos por Carroccio e colaboradores (2018), ao destacarem que o glúten, desencadeador da SNCG, aumentou o número de LIEs na mucosa duodenal de pacientes submetidos a biópsias.

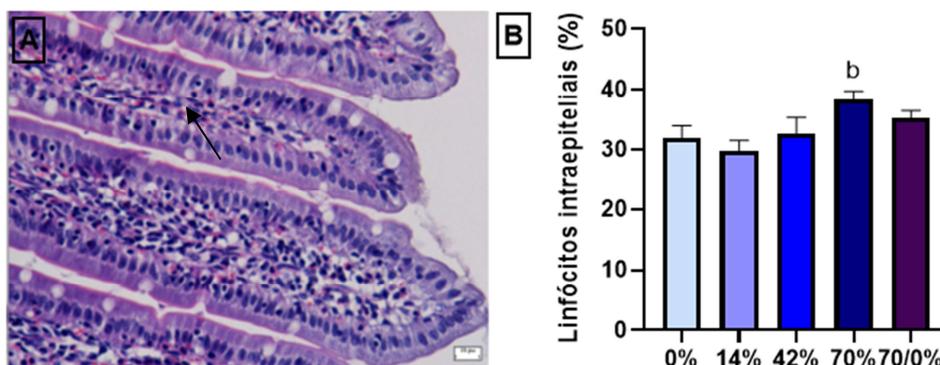


Figura 1 – Mucosa jejunal de ratos alimentados com rações com diferentes níveis de glúten: G0, G14, G42, G70 e G70/0. **A.** Linfócitos intraepiteliais (seta), HE (40X). **B.** Percentual de LIEs. Dados apresentados como média \pm erro padrão. Análise de Variância One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey considerando $p < 0,05$. Letras distintas representam \neq estatística significativa, onde a= difere de 0%; b= difere de 14%; c= difere de 42%; d= difere de 70% e E= difere de 70/0% (n=7/grupo).

CONCLUSÕES

O consumo de rações com sobrecarga de glúten de trigo (G70%) foi capaz de gerar respostas na mucosa intestinal, estabelecendo um quadro inflamatório característico da SNCG, onde há um aumento no número de LIEs, redução na altura das vilosidades e na espessura da mucosa jejunal de ratos Wistar.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

CARROCCIO A, et al. Duodenal and rectal mucosa inflammation in patients with non-celiac wheat sensitivity. **Clinical Gastroenterology Hepatology**, v. 17, n. 4, p. 682-690, 2019.

DI SABATINO, A. et al. New insights into immune mechanisms underlying autoimmune diseases of the gastrointestinal tract. **Autoimmunity Reviews**, v. 14, n. 12, p. 1161–1169, 2015.

YU, T. et al. Wheat amylase trypsin inhibitors aggravate intestinal inflammation associated with celiac disease mediated by gliadin in BALB/c mice. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 11, p. 1559, 2022.