

MODELO DE SENSIBILIDADE NÃO CELÍACA AO GLÚTEN SOBRE A MORFOLOGIA PROSTÁTICA DE RATOS *WISTAR*

Mariana Brandalise Tavares (PIC/UEM), Camila Rodrigues Thom, Ana Luiza Russo Duarte, Anne Caroline Santa Rosa, Gabriela Barone Volve da Silva, Maria Raquel Marçal Natali, Jaqueline de Carvalho Rinaldi (Orientador). E-mail: ra129122@uem.br

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

Ciências Biológicas, Morfologia

Palavras-chave: reprodução; método de *Weibel*; morfologia espermática.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da dieta com/sem glúten na morfologia espermática e prostática. Para isso, ratos *Wistar* machos (n=6) foram distribuídos nos grupos: G0, animais alimentados com dieta sem glúten; G70, cuja dieta continha sobrecarga de glúten (70%) e G70/0, no qual os animais receberam dieta com sobrecarga de glúten por 70 dias e ração isenta de glúten por mais 30 dias. Após 100 dias de experimento, houve eutanásia e coleta da próstata para avaliação morfológica. Sêmen do ducto deferente foi utilizado para avaliação da morfologia espermática. Foi observado aumento no peso corporal e redução no peso prostático de G70 em comparação ao G0. A análise espermática revelou 70%, 50% e 24% dos espermatozoides com anormalidades em cabeça e/ou cauda em G70, G70/0 e G0, respectivamente. A próstata dos animais G70 e G70/0 apresentaram focos de infiltrado inflamatório estromal. O método de *Weibel* sugere que a dieta enriquecida em glúten induz aumento do compartimento epitelial e estromal, acompanhado de redução no lúmen glandular. Mesmo após a retirada do glúten da dieta, estes parâmetros não foram revertidos em G70/0. Assim, a execução deste projeto possibilitou mapear os impactos da dieta rica em glúten sobre a morfologia espermática e prostática.

INTRODUÇÃO

O glúten é caracterizado como um conjunto de proteínas chamadas gluteninas e prolaminas. As prolaminas são subclassificadas em: gliadina, no trigo; hordeína, na cevada; avelina, na aveia; e secalina, no centeio, respectivamente (DAULATZAI, 2015). Dietas ricas em glúten podem desencadear disbiose, e assim, influenciar a saúde do hospedeiro (VOLTA, 2009). Porém, não há estudos mapeando os efeitos da dieta enriquecida em glúten sobre os órgãos reprodutores ou mesmo a reprodução masculina. O sistema reprodutor masculino é um conjunto de estruturas internas (testículo, epidídimo, ducto ejaculatório, uretra, vesículas seminais, próstata e glândulas bulbouretrais) e externas (pênis e escroto) responsáveis pela produção e viabilização de gametas. Sabe-se que a infertilidade masculina, sem causa definida, afeta até 12% dos homens em idade reprodutiva (LOTTI, F.; MAGGI, 2018). A próstata é uma glândula exócrina, que secreta de 30-40% do líquido seminal, contendo enzimas responsáveis por liquefazer o ejaculado, alcalinizar o canal vaginal e garantir a motilidade dos espermatozoides (AUMÜLLER, G.; SEITZ, J, 1990). Assim, o objetivo deste estudo foi investigar o impacto de dieta com/sem glúten na morfologia espermática e prostática.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos seguiram as normas do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEAE) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da UEM, com 21 dias de idade, e mantidos no biotério do Departamento de Ciências Morfológicas (DCM) durante os 100 dias do experimento. Foram utilizados 18 *Rattus norvegicus* machos, da linhagem *Wistar* distribuídos nos grupos: G0, cujos animais receberam dieta sem glúten; G70, cuja dieta continha sobrecarga de glúten (70%) e G70/0, no qual os animais receberam dieta com sobrecarga de glúten por 70 dias seguido de ração isenta de glúten por mais 30 dias. A ração foi produzida no Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA/UEM), com todos os ingredientes em percentuais adequados para roedores. Para definir os níveis de glúten, o trigo e o arroz foram utilizados como matéria prima para a ração com e sem glúten respectivamente. No dia pós-natal 121 os animais foram eutanasiados, posteriormente ao jejum noturno, por aprofundamento de anestesia com sobrecarga de anestésico (Ketamina 90 mg/kg + Xilazina 9 mg/kg). Foi realizada a laparotomia vertical para a coleta dos órgãos reprodutores. Cada órgão foi dissecado, pesado e imerso em solução fixadora por 5h em methacarn (70% metanol, 20% ácido acético, 10% clorofórmio). A morfologia espermática foi avaliada pela coleta de sêmen do ducto deferente. As

células foram diluídas na proporção 1 μ L:100 μ L de salina. Em seguida, adicionou-se 10 μ L da solução em câmara de Neubauer, e observou-se ao microscópio óptico para a avaliação de 100 espermatozoides por animal/grupo. Foram adotados os seguintes critérios: espermatozoide normal, com cauda quebrada, cauda enovelada, cauda dupla e com alteração de formato de cabeça. Para a análise da morfologia prostática, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (70% a 100%), diafanizadas em Xilol P.A. e incluídas em parafina a 60°C. Cortes transversais semi-seriados de 4 μ m de espessura foram realizados em micrótomo rotativo e coletados em lâmina de vidro. Posteriormente foram submetidas à coloração por hematoxilina e eosina (HE) e observados ao microscópio para avaliação da morfologia glandular e mensuração dos compartimentos prostáticos pelo método de Weibel (1963). O método consiste em sobrepor uma grade de 168 pontos às fotomicrografias, e realizar a contagem dos pontos sobrepostos à estrutura de interesse. Esta metodologia foi feita em 10 fotomicrografias/animal obtidas na objetiva de 20x. Todas as análises quantitativas tiveram seus dados comparados entre os grupos pelo teste Anova One-way, sendo considerado um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada diferença de comportamento dos animais durante o período experimental. Nos animais do grupo G70 houve aumento de 27% no peso corporal e redução de 25% no peso prostático em comparação ao grupo controle (G0). A avaliação espermática revelou alteração de 70% dos espermatozoides de G70 e 50% em G70/0, contra 24% de G0. Note que a substituição da dieta no G70/0 amenizou os efeitos deletérios do glúten, mas, pelo período estudado, não foi capaz de revertê-los por completo. É possível que as alterações observadas sejam resultantes de um ambiente pró-inflamatório desencadeado pela dieta rica em glúten. Em todos os grupos foi observado histoarquitetura prostática similar, apresentando os compartimentos epitelial, luminal e estromal (Fig. 1A-C). Infiltrado inflamatório estromal esteve presente tanto no G70 quanto no G70/0 (Fig. 1B-C), corroborando com a literatura que descreve o glúten como um componente pró-inflamatório. A morfometria pela grade de Weibel revelou aumento dos compartimentos epitelial e estromal, acompanhados de redução no lúmen prostático em G70 e G70/0 (Fig. 1D). O compartimento luminal é responsável por armazenar o produto secretor prostático até o momento da ejaculação. Alteração deste compartimento sugere distúrbio no mecanismo de produção/liberação de fluido prostático. Note que mesmo após a retirada do glúten da dieta estes parâmetros não foram revertidos.

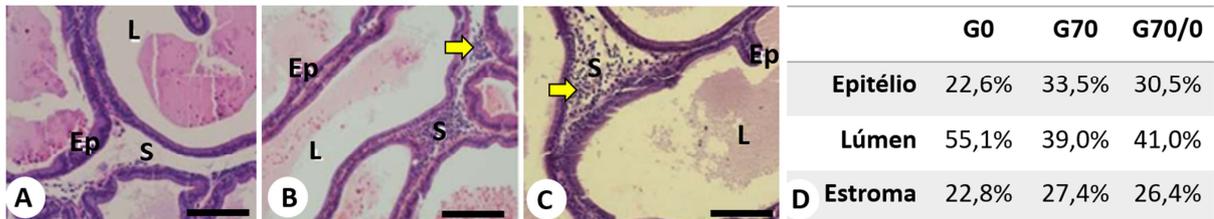


Figura 1. (A-D) Fotomicrografias coradas em hematoxilina-eosina destacando L (lúmen), Ep (epitélio), S (estroma). Grupos G0 (A), G70 (B) e G70/0 (C); barra = 100µm. (D) Gráfico demonstrando resultado quantitativo da mensuração pela grade de Weibel. N=6; resultado em %.

CONCLUSÕES

A dieta com sobrecarga de glúten impactou na morfologia espermática bem como na distribuição dos compartimentos prostáticos. Estas alterações foram amenizadas mas não revertidas após retirada do glúten da dieta.

AGRADECIMENTOS

Ao @GEBIOREP; DCM/UEM pela infraestrutura; PBF/UEM pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

AUMÜLLER, G.; SEITZ, J. Protein secretion and secretory processes in male accessory sex glands. **International review of cytology**. Germany: Elsevier, 1990. v. 121. p. 127-231.

DAULATZAI, M. A. Non-Celiac Gluten Sensitivity triggers gut dysbiosis, neuroinflammation, gut-brain axis dysfunction, and vulnerability for dementia. **CNS 26 & Neurological Disorders- Drug Targets**, Italy, v. 14. p. 110-131. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25642988/>. Acesso em: 6 setembro 2024.

LOTTI, F.; MAGGI, M. Sexual dysfunction and male infertility. **Nature Reviews Urology**, Italy, v. 15. n. 5. p. 287-307. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29532805/>. Acesso em: 6 setembro 2024.

VOLTA, U. Pathogenesis and Clinical Significance of Liver Injury in Celiac Disease. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, Italy, v. 36. p. 62-70. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18496773/>. Acesso em: 6 setembro 2024.