

ANÁLISE QUANTITATIVA DE CÉLULAS DA MUCOSA INTESTINAL 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, Antônio Roberto Giriboni Monteiro (DAL), Maria Raquel Marçal Natali (DCM, Orientador), e-mail: mrmnatali@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas (DCM) e Centro de Tecnologia (DAL), Maringá, PR.

Área: Morfologia. Subárea: Histologia.

Palavras-chave: Inflamação; intestino delgado; sensibilidade não celíaca ao glúten.

RESUMO

A Sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG) caracteriza-se por alterações morfofisiológicas no trato gastrointestinal e resulta em inflamação, manifestando-se por distensão abdominal, diarreia e náuseas. O consumo de glúten em altas concentrações está associado a atrofia de vilos, hiperplasia de criptas, aumento de linfócitos intraepiteliais, ruptura da barreira intestinal e disbiose. O objetivo foi quantificar células da mucosa jejunal: Caliciformes e Paneth no epitélio e Eosinófilos e Mastócitos na lâmina própria de ratos alimentados com rações contendo níveis crescentes de glúten de trigo até os 121 dias de idade. Foram utilizados 35 ratos machos (n=7), distribuídos nos grupos: G0 (sem glúten), G14-controle (14%); G42–alto nível (42%); G70–sobrecarga (70%); e G70/0 – sobrecarga por 70 dias e após ração isenta de glúten. Após eutanásia o jejuno foi coletado e processado histologicamente. As amostras foram submetidas a reação histoquímica com PAS (caliciformes produtoras de mucinas neutras), Eosina (Paneth), Pagoda Red (eosinófilos) e Giemsa (mastócitos). Houve manutenção do número de mastócitos e eosinófilos entre os grupos. Aumento das caliciformes no G0 em relação a G14 e G70, e redução em G70 comparado a G70/0. Houve redução nas células de Paneth no G0 em relação ao G14. A mucosa jejunal nos grupos G14 e G70, apresentou redução na produção de mucinas neutras, comprometendo a barreira intestinal, enquanto as células de Paneth mantiveram seu papel defensivo imune.

INTRODUÇÃO

O glúten é uma proteína encontrada em grãos, como a cevada, centeio, aveia e trigo, constituída por uma combinação complexa de prolaminas e gluteninas. A forma mais comum utilizada na alimentação é o glúten de trigo. Em geral, essas

proteínas possuem propriedades antigênicas e na sensibilidade não celíaca ao glúten (SNCG), envolvem alterações no intestino delgado, incluindo atrofia das vilosidades hiperplasia das criptas e aumento de linfócitos intraepiteliais. As células caliciformes são fundamentais para a integridade da barreira intestinal, produzindo muco que forma um biofilme protetor contra abrasões do lúmen e bactérias. As células de Paneth secretam defensinas e outras moléculas antimicrobianas, auxiliando no controle da microbiota e a defesa contra patógenos. Já mastócitos e eosinófilos participam da resposta imunológica e da amplificação da inflamação tecidual: os mastócitos liberam histaminas e citocinas, aumentando a permeabilidade, enquanto os eosinófilos liberam mediadores inflamatórios (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2023). O desequilíbrio destas células contribui para a perda de barreira epitelial e inflamação crônica. O objetivo foi avaliar se a ingestão de rações com níveis crescentes de glúten de trigo altera o número de células caliciformes e de Paneth no epitélio intestinal e o número de mastócitos e eosinófilos, na lâmina própria jejunal no modelo SNCG.

MATERIAIS E MÉTODOS

Após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (UEM), CEUA nº4375010922, foram utilizados 35 *Rattus norvegicus* Wistar, machos pesando inicialmente entre 45 a 60 g. Foram distribuídos em cinco grupos (n= 7) conforme os níveis de glúten de trigo presentes nas rações do desmame até os 120 dias: G0-isenta de glúten; G14-controle com glúten (14%); G42-alto nível (42%); G70-sobrecarga de glúten (70%) e G70/0- sobrecarga por 70 dias e após ração isenta de glúten. Aos 121 dias foi realizada a eutanásia por aprofundamento de anestesia com sobrecarga de anestésico (Ketamina 90 mg/kg +Xilazina 9 mg/kg); o jejuno foi coletado, fixado para processamento histológico e realizados cortes semi seriados (4µm-Paneth) e demais células (6µm) seguido de colorações específicas:

Células Caliciformes- Histoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS). Foram quantificadas 2.000 células epiteliais em vilosidades íntegras e orientadas longitudinalmente/animal (objetiva de 20X). A razão entre o nº de células caliciformes e o nº de enterócitos foi definida como Índice de células caliciformes (IC) (Nº de células caliciformes/Nº total de céls na vilosidade) X 100, com resultados expressos em %.

Células de Paneth- Método de coloração com Eosina. Foram quantificadas e expresso o número de todas as células evidenciadas em 40 criptas/animal, em objetiva de 100X.

Mastócitos- Método de Giemsa (Eosina e Azul de Metileno) para visualização da morfologia nuclear e citoplasmática dos grânulos dos mastócitos. A quantificação celular foi realizada em 30 campos aleatórios/animal, e contados todos os mastócitos marcados na região da lâmina própria ao redor das criptas intestinais, e o resultado expresso como média de células/mm². Todas as imagens foram quantificadas em microscópio óptico em uma área de ~ 25.447 µm².

Eosinófilos- Coloração Pagoda Red 1% (Corante líquido Xadrez®), com contra coloração de Hematoxilina. A quantificação foi realizada na objetiva de 100X, em 30

campos aleatórios/ animal, presentes na lâmina própria, e o resultado expresso como células/mm².

Para as análises com captura, foi utilizado o microscópio óptico (Nikon Eclipse®, Shimjuku, Japão), e para a quantificação de mastócitos, foi utilizado o microscópio óptico (Olympus® BX14). Foi utilizado o sistema de análises de imagens (Image Pro-Plus® 4.5) e na análise estatística o software Prisma® versão 8.0 (GraphPad, SanDiego-CA, EUA). Os dados expressos como média $\pm$ desvio padrão 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 figura 1 (A, C, E, G) evidencia as células da mucosa jejunal e os resultados quantitativos em (B, D, F, H). Constatou-se aumento de 17,37% e de 23,07% no IC (Fig. 1. A e B) do grupo G0 (sem glúten) em relação ao grupo controle (G14) e ao grupo com 70% de glúten de trigo, respectivamente. As funções de lubrificação e barreira, que impede translocação bacteriana, e facilitação do trânsito intestinal estão diretamente relacionadas à atividade secretora das células caliciformes. Em nosso estudo, a ração sem glúten (G0) é rica em fibras provenientes do farelo de arroz, e nossos achados corroboram esses resultados, justificando o aumento observado nas células caliciformes. Em contrapartida, houve uma redução de 8,88% no IC (Fig. 1. B) no grupo G70 (70% de glúten de trigo) em relação ao grupo G70/0. Setenta dias de fornecimento de ração com excesso de glúten (70%) foram suficientes para reduzir a proliferação de células caliciformes, caracterizando o modelo de SNCG e evidenciado pelo comprometimento da barreira intestinal. As células de Paneth (Fig. 1.D) também responderam à presença de glúten. Houve redução ($p < 0,05$) de 22,5% em G0, comparado ao grupo controle (G14). Esse resultado reforça o papel funcional das células de Paneth no fornecimento de fatores de suporte para as células tronco intestinais, na regulação da composição microbiana por meio da produção e secreção de peptídeos antimicrobianos e defensinas, bem como na preservação da barreira intestinal (WALLAEYS; GARCIA-GONZALEZ; LIBERT, 2023). A redução observada no grupo sem glúten é coerente, uma vez que a ausência desse componente dietético pode impactar diretamente na manutenção da atividade celular, justificando a menor densidade de células de Paneth em relação aos grupos experimentais que receberam glúten. A análise histológica indicou manutenção da densidade de mastócitos (Fig.1. F) e de eosinófilos (Fig.1.H) evidenciando a estabilidade da resposta imunológica de base celular.

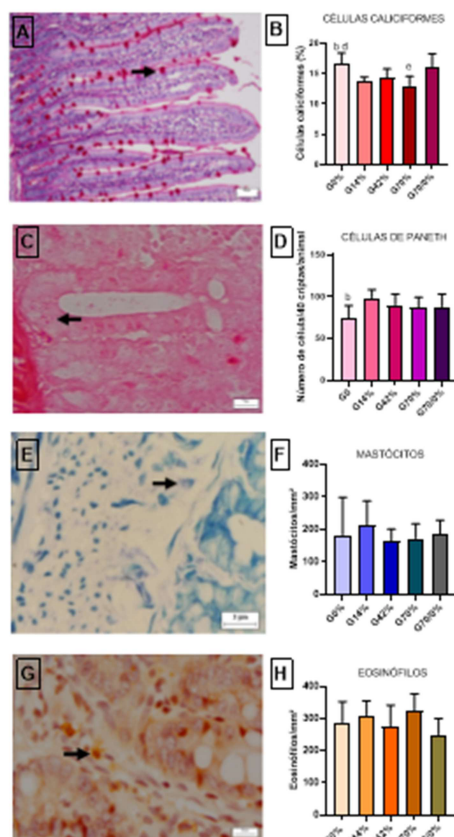


Figura 1 – Mucosa jejunal de ratos que receberam rações com diferentes níveis de glúten: G14, G42, G70 e G70/0. A. Caliciformes (seta), HE (20X). B. IC. C. Paneth (seta), Eosina (100X). D. N° de cél. de Paneth. E. Mastócitos (seta), Giemsa (100X) F. Mastócitos/mm². G. Eosinófilos (seta), Pagoda red (100X). H. Eosinófilos/mm². Análise One-way ANOVA e pós teste de Tukey. Letras distintas indicam $p < 0,05$, onde a = ≠ 0%; b = ≠ 14%; c = ≠ 42%; d = ≠ 70%; e = ≠ 70/0% (n=6/7 grupo).

CONCLUSÕES

Rações com níveis de 70% de glúten de trigo reduzem o número de células caliciformes produtoras de mucinas neutras, comprometendo a barreira intestinal, em contrapartida, células de Paneth indicam possível equilíbrio de respostas imunes devido a produção de defensinas no jejuno de ratos.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica: Texto & Atlas*. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

WALLAEYS, C.; GARCIA-GONZALEZ, N.; LIBERT, C. Paneth cells as the cornerstones of intestinal and organismal health: a primer. **EMBO Molecular Medicine**, v. 15, n. 2, e16427, 2023.