

AVALIAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NO FÍGADO DE RATOS SUBMETIDOS A UMA DIETA RICA EM CARBOIDRATOS REFINADOS

Luana da Silva Ferigato (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ana Luiza Russo Duarte, Amanda Braz Pires Fratti, Eduarda Santos, Fernanda Losi Alves de Almeida, Mariane Carneiro da Silva, Rodrigo Polimeni Constantin (Orientador). E-mail: rpconstantin@uem.br

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

Área: Morfologia. Subárea: Histologia.

Palavras-chave: metabolismo; morfologia; obesidade.

RESUMO

A obesidade, caracterizada pelo excesso de gordura corporal, está associada à esteatose hepática metabólica (MASH), marcada pelo acúmulo de lipídios no fígado, podendo evoluir para fibrose e cirrose. Este estudo avaliou os efeitos de uma dieta rica em carboidratos refinados no fígado de ratos Wistar, comparados a um grupo controle. A análise histopatológica investigou alterações morfológicas e danos celulares. Ratos Wistar, com 30 dias de vida, foram divididos em dois grupos: CON70D (controle) e HC70D (rica em carboidrato). Após 40 dias, os fígados foram coletados, fixados, seccionados e corados com hematoxilina-eosina (H&E) para análise microscópica. A contagem de hepatócitos foi realizada em área padronizada ($57.510,05 \mu\text{m}^2$), com imagens obtidas próximas à veia centrolobular. Observou-se redução significativa no número de hepatócitos no grupo HC-70D em relação ao controle, indicando que a dieta rica em carboidratos e hipoproteica pode induzir danos hepáticos e comprometer a função metabólica. Esses achados sugerem que a composição da dieta influencia a morfologia hepática, possivelmente por disfunção no metabolismo lipídico mediado pela acetil-CoA carboxilase. Estudos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos da perda celular e confirmar a relação com a MASH. Este trabalho reforça a importância da análise histológica na compreensão das complicações hepáticas associadas à obesidade e na validação de alvos terapêuticos.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma condição crônica caracterizada pelo excesso de gordura corporal, intimamente associada a complicações metabólicas, incluindo a esteatose hepática metabólica (MASH). A MASH, prevalente e marcada pelo acúmulo de gordura no fígado, pode evoluir para fibrose e cirrose (FRIEDMAN *et al.*, 2018). Um dos principais mecanismos bioquímicos envolvidos é a disfunção da acetil-CoA carboxilase (ACC), enzima chave no metabolismo lipídico, que converte acetil-CoA em malonil-CoA, precursor da biossíntese de ácidos graxos. Alterações na ACC

estão ligadas à obesidade e à esteatose, indicando que sua modulação pode ser estratégia terapêutica promissora (LIU *et al.*, 2020).

A análise histológica é fundamental no diagnóstico e monitoramento da MASH, permitindo avaliar esteatose, inflamação e fibrose. Técnicas como coloração com hematoxilina-eosina (H&E) e marcadores específicos diferenciam estágios da doença e avaliam intervenções terapêuticas (BRUNT *et al.*, 2011).

Assim, a integração do estudo da ACC com a histologia tecidual oferece uma abordagem abrangente para compreender e tratar complicações hepáticas associadas à obesidade, além de validar novos alvos terapêuticos e promover avanços na gestão clínica da MASH. Este trabalho avaliou os efeitos de uma dieta rica em carboidratos e hipoproteica sobre a morfologia hepática de ratos Wistar, com ênfase na contagem de hepatócitos em áreas padronizadas e na análise histológica dos cordões celulares e sinusóides, a fim de identificar possíveis alterações estruturais associadas a danos hepáticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais, condições experimentais e dieta

Foram utilizados ratos Wistar, criados no Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá e, aos 25 dias, transferidos para o Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica. Após cinco dias de adaptação, ao trigésimo dia iniciou-se o protocolo experimental, com divisão em dois grupos: 1) CON-70D – dieta controle (Nuvital®, Curitiba/PR, Brasil), com procedimentos experimentais aos 70 dias; 2) HC-70D – dieta hipercalórica (73% carboidratos, 10% proteína e 17% lipídios – Figura 1) dos 30 aos 60 dias, com procedimentos aos 70 dias.

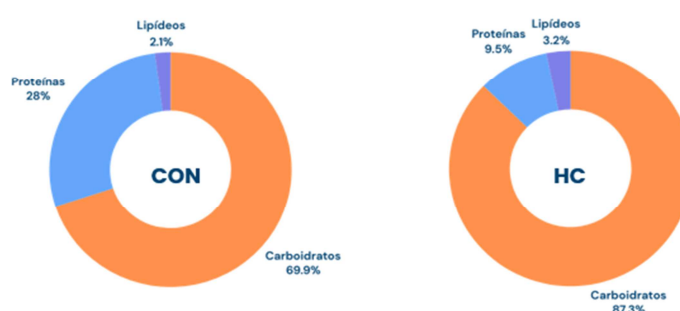


Figura 1 - Valores dos ingredientes e composição das dietas hipoproteica e normoproteica.

Os animais foram mantidos a 22 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 h (6:00–18:00), com livre acesso à água e ração. Os protocolos seguiram as normas do Comitê de Ética em Uso Animal da UEM (protocolo nº 1339190623).

Análise morfológica do fígado

Para análise histoquímica, ratos em jejum foram eutanasiados, e os fígados rapidamente removidos, congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80°C . Amostras ($n=6$ por grupo) foram fixadas em formalina 10% por 24 h, desidratadas em série crescente de etanol (80%, 90%, 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Cada fígado foi seccionado em micrótomo: 5 cortes contínuos iniciais ($5\text{ }\mu\text{m}$), após descarte de 50 cortes para atingir a porção central, outros 5 cortes adicionais. Os 10 cortes por animal foram distendidos em banho-maria e depositados individualmente em lâminas.

Os cortes foram hidratados, desidratados, corados com H&E e montados em Permunt. A captura das imagens foi feita em microscópio óptico Olympus América (32-0045C-721, Q Color 3, RTV-Canadá), objetiva $40\times$, via Q Capture Pro. As veias centrolobulares serviram como critério para seleção dos campos. As imagens foram analisadas com o programa Image Pro Plus (v.4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, MD).

Análise estatística

Os resultados serão expressos como médias $\pm$ erro padrão da média (SEM). Todas as análises estatísticas serão realizadas utilizando o pacote estatístico GraphPad Prism® (GraphPad Software Inc., EUA). Para todos os parâmetros, a análise de variância teste t de Student. Valores de $p \leq 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

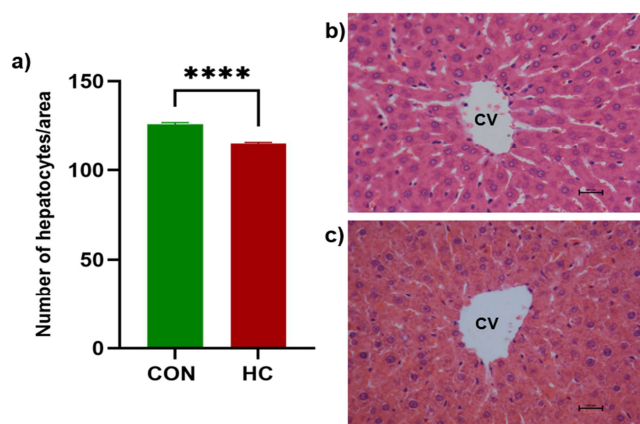


Figura 2 - Análises morfológicas hepáticas de ratos alimentados com dieta rica em carboidrato e hipoproteica. (a) número de hepatócitos em uma área padronizada de $57.510,05\text{ }\mu\text{m}^2/50$ imagens por animal; (b) cordões de hepatócitos e sinusóides convergindo para a veia central (CV), coloração H&E, objetiva de $40\times$, barra de escala = $50\text{ }\mu\text{m}$ grupo controle; (c) cordões de hepatócitos e sinusóides convergindo para a veia central (CV), coloração H&E, objetiva de $40\times$, barra de escala = $50\text{ }\mu\text{m}$ grupo dieta; Análise estatística teste t de student, expressos como média $\pm$ desvio-padrão ($n = 6$ animais por grupo) e $p \leq 0.05$.

A contagem de hepatócitos, realizada em uma área padronizada de 57.510,05 μm^2 a partir de 50 imagens por animal capturadas próximas à veia central, revelou uma diminuição significativa no número de células no grupo que recebeu a dieta HC em comparação ao grupo controle com dieta padrão. Por outro lado, a análise morfológica dos cordões de hepatócitos e dos sinusóides convergindo para a veia central não mostrou diferenças estruturais relevantes entre os grupos, sugerindo que a dieta rica em carboidratos e hipoproteica impacta principalmente a densidade celular, sem alterar de forma evidente a organização histológica do tecido hepático.

CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a dieta rica em carboidratos e com restrição proteica reduz o número de hepatócitos, podendo comprometer a capacidade metabólica hepática e a distribuição sistêmica de metabólitos. Investigações adicionais são necessárias para elucidar os mecanismos subjacentes à perda celular e confirmar essa hipótese.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Oxidações Biológicas e ao Laboratório de Histotécnica Animal pelo suporte técnico e infraestrutura disponibilizados para a realização deste estudo. Agradecem também à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro e concessão de bolsas, bem como à empresa FortGreen pelo apoio institucional.

REFERÊNCIAS

BRUNT, Elizabeth M. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. **Hepatology**, v. 53, n. 3, p. 810-820, 2011.

FRIEDMAN, Scott L. *et al.* Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. **Nature medicine**, v. 24, n. 7, p. 908-922, 2018.

LIU, Tianya *et al.* Inhibition of acetyl-CoA carboxylase by PP-7a exerts beneficial effects on metabolic dysregulation in a mouse model of diet-induced obesity. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 20, n. 1, p. 521-529, 2020.