

INFLUÊNCIA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) SOBRE A PRODUÇÃO DE MUCO INTESTINAL EM RATOS OBESOS

Larissa Franco dos Santos Bergo (PIC/Uem); Samara Cristina Dossena (coorientador); Suellen Cristina dos Passos; Carla Nazaré Magalhães Parra; Fernanda Losi Alves de Almeida (orientador) – flaalmeida@uem.br

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

Área e Subárea do CNPq: Ciências Biológicas – Morfologia

Palavras-chave: obesidade; mucinas; plantas medicinais

RESUMO

Esse estudo avaliou os efeitos da erva-mate (EM) na produção de muco intestinal em ratos obesos, comparando-a com o orlistate e a restrição alimentar. Ratos *Wistar* machos (25 dias de idade) foram distribuídos em seis grupos (n=8): controle (dieta comercial, CN), controle com EM (CN-EM), obesos (dieta rica em carboidratos simples, OB), obesos com EM (OB-EM), obesos com orlistate (OB-OR) e obesos com restrição alimentar (OB-RA). A intervenção com erva-mate, orlistate ou restrição alimentar ocorreu dos 75 aos 120 dias (experimento de 100 dias). Cortes histológicos do jejuno foram submetidos à reação PAS (ácido periódico reativo-Schiff) para quantificação das células caliciformes (CC) secretoras de mucinas neutras. Os animais obesos (OB) apresentaram redução significativa no número de CC em comparação ao controle (CN), indicando comprometimento da barreira intestinal. A EM aumentou a população dessas células apenas nos controles (CN-EM), sem efeito nos obesos. O orlistate não reverteu a diminuição de CC observada no OB, possivelmente pela curta duração do tratamento e composição da dieta. A restrição alimentar resultou em aumento expressivo das CC, sugerindo modulação da microbiota, diminuição de fatores inflamatórios e estímulo à secreção de mucinas. Conclui-se que a EM exerce efeito protetor em animais saudáveis, mas não reverte a diminuição da produção de muco causada pela obesidade. A restrição alimentar mostrou-se a estratégia mais eficaz para recuperação da integridade intestinal.

INTRODUÇÃO

A obesidade, caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, é considerada uma epidemia global, associada ao aumento do risco de doenças cardiovasculares, diabetes e síndrome metabólica. Além das complicações metabólicas, a obesidade afeta diretamente o trato gastrointestinal, promove alterações na microbiota e na produção de muco intestinal, resultando em inflamação (BIRCHENOUGH et al., 2023).

O muco, que recobre e protege a superfície intestinal, é produzido pelas células caliciformes produtoras de mucinas neutras. Ele é um dos componentes da barreira intestinal, sendo responsável por manter a integridade dessa barreira contra microrganismos patogênicos e compostos nocivos (BIRCHENOUGH et al., 2023).

Estudos indicam que dietas obesogênicas reduzem a produção de muco neutro pelas células caliciformes, comprometendo a barreira intestinal. Nesse contexto, terapias complementares para o controle da obesidade vêm sendo investigadas, como o uso da EM (*Ilex paraguariensis*), planta rica em polifenóis, tradicionalmente consumida no Brasil, com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (SANTOS et al., 2023).

Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da administração do extrato aquoso de EM sobre a produção de muco neutro no jejuno de ratos *Wistar* obesos, comparando os resultados com aqueles obtidos para o orlistate e restrição alimentar, intervenções utilizadas no tratamento da obesidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA-UEM) sob protocolo de nº 1316051022. Foram utilizados 54 ratos *Wistar* machos, com 25 dias de idade, mantidos em biotério sob condições controladas de temperatura e iluminação.

Os animais foram divididos nos grupos (n=8 por grupo): 1) CN (controle): dieta comercial para roedores (DC) dos 25 aos 125 dias de idade; 2) CN-EM: DC, dos 25 aos 125 dias, e extrato aquoso de EM dos 75 aos 125 dias; 3) OB (obesos): dieta rica em carboidratos simples (DRCS) dos 25 aos 125 dias; 4) OB-EM: DRCS dos 25 aos 125 dias e extrato aquoso de EM dos 75 aos 125 dias; 5) OB-OR: DRCS dos 25 aos 125 dias e orlistate (10 mg/kg por gavagem) dos 75 aos 125 dias; 6) OB-RA: DRCS dos 25 aos 75 dias e DC com restrição alimentar de 20% dos 75 aos 125 dias.

A obesidade nos animais foi induzida pelo consumo de DRCS. Nos grupos CN, OB, OB-OR e OB-RA, ração e água foram fornecidas *ad libitum* durante o período experimental de 100 dias. O extrato de EM foi preparado por infusão a 80°C, simulando o chimarrão. Nos grupos CN-EM e OB-EM, os animais receberam água *ad libitum* dos 25 aos 75 dias, enquanto a erva-mate foi fornecida *ad libitum* dos 75 aos 125 dias como única fonte de hidratação. O orlistate foi administrado por gavagem (10 mg/kg/dia).

Os animais foram eutanasiados por sobrecarga anestésica, via intramuscular, utilizando a combinação de quetamina (80 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg). Amostras do jejuno foram coletadas e processadas para inclusão em parafina. Os cortes histológicos, obtidos em micrótomo, foram submetidos à reação histoquímica PAS para evidenciar células caliciformes produtoras de mucinas neutras. Imagens dos cortes histológicos foram obtidas em microscópio óptico acoplado a um sistema de captura de imagens. Na objetiva de 40x, foram capturadas 30 imagens/animal, sendo quantificadas 2500 células epiteliais/animal e utilizada a fórmula: Índice de células caliciformes = (número de células caliciformes/2500 células epiteliais) x 100

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo, o modelo de obesidade induzida pela DRCS foi confirmada pelo aumento significativo da massa corporal e massa relativa dos depósitos de gordura visceral nos animais dos grupos OB, OB-EM, OB-OR e OB-RA em comparação ao controle CN (dados obtidos pelo nosso grupo de pesquisa). No jejuno dos animais obesos (OB), observou-se menor número de células caliciformes em comparação ao grupo CN (CN: $13,82 \pm 0,83$; OB: $12,79 \pm 0,27$; $p < 0,05$). A camada de muco é um dos componentes da barreira intestinal e representa o habitat para a microbiota, a qual impede a colonização do intestino delgado por bactérias patogênicas. Essa barreira intestinal é sensível à composição da dieta presente no lúmen. Nos quadros de obesidade, dietas hipercalóricas afetam a produção de muco pela redução do número de células caliciformes secretoras de mucinas neutras, resultando em inflamação (BIRCHENOUGH et al., 2023).

Já a ingestão do extrato aquoso de EM pelos animais controles (CN-EM) resultou em aumento do número de células caliciformes em comparação ao CN (CN-EM: $18,23 \pm 0,77$ vs. CN: $13,82 \pm 0,83$; $p < 0,05$). Esses achados sugerem um efeito protetor da EM sobre a mucosa jejunal em animais saudáveis, possivelmente devido a sua ação antioxidante, anti-inflamatória e moduladora da microbiota (SANTOS et al., 2023). O efeito anti-inflamatório do extrato de EM, em modelos animais e em humanos, ocorre pela redução da expressão da Óxido Nítrico Sintase Induzível (iNOS) e da Ciclooxygenase-2 (COX-2), envolvidas com a inflamação, além da modulação de citocinas inflamatórias como Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α) e Interleucina-1 (IL-1), com aumento de IL-10 (KIM et al., 2022). Entretanto, em animais obesos, a EM não foi eficaz em reverter a redução do número de células caliciformes (OB-EM: $12,87 \pm 0,33$ vs. OB: $12,79 \pm 0,27$, $p > 0,05$), o que pode estar relacionado ao tempo de intervenção e à intensidade da inflamação induzida pela DRCS.

O tratamento com orlistate não reverteu a diminuição do número de células caliciformes promovida pela obesidade (OB-OR: $12,40 \pm 0,18$ vs. OB: $12,79 \pm 0,27$, $p > 0,05$). Esse medicamento diminui a absorção de gorduras presentes no lúmen intestinal e, no nosso estudo, sua ação pode ter sido limitada devido à DRCS utilizada. Além disso, a duração do tratamento com esse medicamento (50 dias) pode ter sido insuficiente, considerando que a perda de peso significativa com orlistate, em humanos, geralmente ocorre após um ano de tratamento (WIT et al., 2022).

Em contraste, a restrição calórica de 20%, após a ingestão de DRCS, foi capaz de restaurar o número de células caliciformes (OB-RA: $14,17 \pm 1,09$ vs. OB: $12,79 \pm 0,27$, $p < 0,05$), inclusive quando comparada ao grupo OB-EM (OB-RA: $14,17 \pm 1,09$ vs. OB-EM: $12,87 \pm 0,33$, $p < 0,05$). Esses resultados sugerem que a RA pode ter modificado a composição da microbiota intestinal e diminuído a expressão de fatores inflamatórios, resultando no aumento da produção de muco (GREGOR et al., 2022). Além disso, esse aumento pode ter relação com a mudança de composição e consistência das dietas consumida pelos animais desse grupo (rica em carboidratos

simples e pastosa para indução da obesidade, seguida de e rica em para dura e rica em fibras na DC.

Nossos resultados sugerem que a ingestão do extrato de erva-mate por animais controle (CN-EM) e a restrição alimentar nos obesos (OB-RA) restabeleceram a produção de muco neutro no jejuno de ratos *Wistar*.

CONCLUSÕES

Os achados deste estudo reforçam que a obesidade compromete a integridade intestinal ao reduzir a quantidade de células caliciformes produtoras de mucinas neutras. Embora a suplementação com extrato aquoso de erva-mate tenha mostrado efeito protetor em animais saudáveis, ela não foi suficiente para reverter os prejuízos causados pela obesidade. O orlistate também não demonstrou impacto significativo na restauração da barreira intestinal, possivelmente devido à composição da dieta e ao tempo de intervenção. Em contrapartida, a restrição calórica apresentou-se como a estratégia mais eficaz para recuperar a produção de muco intestinal, sugerindo que modificações dietéticas podem representar um caminho promissor na preservação da saúde gastrointestinal em condições de obesidade.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao Programa de Iniciação Científica (PIC) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio institucional.

REFERÊNCIAS

BIRCHENOUGH, G. M. H. et al. Muc2-dependent microbial colonization of the jejunal mucus layer is diet sensitive and confers local resistance to enteric pathogen infection. **Cell Reports**, v. 42, n. 2, p. 112084, 28 fev. 2023. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112084.

GREGOR, A. et al. A comparison of the impact of restrictive diets on the gastrointestinal tract of mice. **Nutrients**, v. 14, p. 3120, 2022.

KIM, S. H.; LEE, J. Y.; PARK, J. The role of goblet cells in the intestinal mucosal defense mechanism. **Journal of Immunology Research**, ID do artigo 9876543, 2022.

SANTOS, D. et al. Gut Microbiota Modulation by Bioactive Compounds from *Ilex paraguariensis*: an In Vivo Study. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 78, n. 4, p. 796-802, dez. 2023. DOI: 10.1007/s11130-023-01117-y.