

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CAMPUS PONTAL

TIAGO CEREZA RORIZ

**MORFOLOGIA DO CEREBELO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A
DIETA PADRÃO E DIETA RICA EM CARBOIDRATOS**

ITUIUTABA

2024

TIAGO CEREZA RORIZ

**MORFOLOGIA DO CEREBELO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A
DIETA PADRÃO E DIETA RICA EM CARBOIDRATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas

Orientadora: Gabriela Lícia Santos Ferreira

ITUIUTABA

2024

TIAGO CEREZA RORIZ

**MORFOLOGIA DO CEREBELO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A
DIETA PADRÃO E DIETA RICA EM CARBOIDRATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas

Ituiutaba, 2024

Banca Examinadora:

Neide Maria Silva –Doutora UFU

Luciana Karen Calábria – Doutora UFU

Gabriela Lícia Santos Ferreira – Doutora UFU

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Jesus Cristo por não ter me deixado desistir, por ter ficado comigo todo esse tempo, ter me dado a oportunidade de conhecer um lado do mundo completamente fora da minha realidade, me dar vida, saúde, bons amigos e ter me ajudado a entender que nada nesse mundo importa, pois, a vida é breve mas a salvação é eterna.

Aos meus queridos amigos(as) Giovana, Cauã, Gabriel, Vinícius, Ian e Eduardo por deixarem a graduação mais leve e divertida.

Agradeço aos meus pais por bancarem 100% da minha graduação e depositarem a confiança em mim acreditando que eu terminaria a faculdade com o diploma.

Aos meus professores queridos pois alguns deles conseguiram prender minha atenção e me encher de conhecimento, em especial, Luciana, Gabriela, Kátia G., Vanessa e Carla.

A todos as pessoas do Youtube que me ajudaram a entender uma grande parte dos conteúdos da graduação e a fazer uma grande parte do TCC.

Aos laboratórios que sempre estiveram em condições para trabalho e que me ajudaram a aprender em especial LAMIC e LAEBIO

Agradecer também ao momento que passei em Uberlândia que foi muito importante na minha vida. Em especial a tolerância do Cauã, meus momentos no Cheers Supreme principalmente com meu stand que foi a Brenda, Nath e Jean, as orientações do meu estágio com a Profa. Neide, Willian e Yasmin e aos amigos que fiz na igreja como o Wagner, Lucas, Pedro, Abraão, Neemias.

Agradeço aos meus amigos do Discord que sempre estavam lá para me desestressar e jogar um pouco como por exemplo o Antônio, Kerry, Marcus, Lucas, Attie, Ayres, Pedro, Estevan, Victor, Marco, Guilherme.

A minha orientadora que nunca desistiu de mim e sempre esteve ao meu lado.

E as igrejas que participei nessa caminhada, principalmente a da Pr. Simone por ter me dado uma das primeiras oportunidades que já tive em igreja, a da Pr. Leila também pela oportunidade, a igreja Videira e Assembleia de Uberlândia principalmente pelas amizades que construí lá e tantas outras que não conseguiria citar aqui.

“Todas as coisas cooperam para o bem
daqueles que amam a Deus.”

(Romanos 8:28)

RESUMO

O cerebelo é importante para o equilíbrio, aprendizagem motora e coordenação, impactando diretamente na qualidade de vida e na capacidade funcional dos indivíduos. Enquanto os efeitos das dietas ricas em gorduras são mais documentados, o impacto de dietas ricas em carboidratos sobre o cerebelo é menos conhecido. Estudos preliminares sugerem que tais dietas podem afetar diferentemente a bioquímica cerebral, incluindo alterações na composição de ácidos graxos cerebrais e na expressão de genes inflamatórios, o que pode influenciar tanto a morfologia quanto a função do cerebelo. Dada a importância dos carboidratos como principal fonte de energia, é fundamental investigar como essas dietas afetam a morfologia cerebelar, para entender possíveis impactos potenciais e orientar recomendações dietéticas que promovam a saúde cerebral e a funcionalidade motora. Assim, este trabalho teve como objetivos: descrever a histologia da camada molecular e das células de Purkinje do cerebelo de camundongos BALB/c submetidos a dieta rica em carboidratos e quantificar as células de Purkinje e células da camada molecular; definir o tamanho das células de Purkinje e o tamanho do núcleo das células de Purkinje de cerebelos de animais submetidos a dieta padrão e a dieta rica em carboidratos. As amostras submetidas a dieta rica em carboidratos, da quinta à décima terceira semana de vida foram processadas histologicamente, fotografadas e analisadas no software *ImageJ*[®]. A análise histológica não revelou diferença entre as células dos cerebelos dos grupos estudados, camundongos com dieta padrão e com dieta rica em carboidratos. A quantificação e o tamanho das células de Purkinje e da camada molecular de cerebelos de camundongos BALB/c submetidos a dieta padrão e dieta rica em carboidratos não apresentaram diferença estatística. Excetua-se a avaliação do tamanho do núcleo das células de Purkinje que demonstrou diferença significativa entre os grupos. Apesar de não haver diferenças estatísticas, os animais tratados com dieta rica em carboidrato exibiram uma tendência a diminuição do número de células de Purkinje e células da camada molecular.

Palavras-chave: Cerebelo; Histologia; Dieta rica em Carboidratos.

ABSTRACT

The cerebellum is important for balance, motor learning, and coordination, directly impacting the quality of life and functional capacity of individuals. While the effects of high-fat diets are more documented, the impact of high-carbohydrate diets on the cerebellum is less known. Preliminary studies suggest that such diets may differentially affect brain biochemistry, including alterations in the composition of brain fatty acids and the expression of inflammatory genes, which may influence both the morphology and function of the cerebellum. Given the importance of carbohydrates as the main energy source, it is essential to investigate how these diets affect cerebellar morphology to understand potential impacts and guide dietary recommendations that promote brain health and motor function. Thus, this study aimed to: describe the histology of the molecular layer and Purkinje cells of the cerebellum of BALB/c mice subjected to a high-carbohydrate diet and quantify Purkinje cells and cells of the molecular layer; define the size of Purkinje cells and the size of the nucleus of Purkinje cells of the cerebellum from animals subjected to a standard diet and a high-carbohydrate diet. The samples subjected to a high-carbohydrate diet, from the fifth to the thirteenth week of life, were processed histologically, photographed, and analyzed using ImageJ software. The histological analysis did not reveal a difference between the cells of the cerebellums of the studied groups, mice with a standard diet and with a high-carbohydrate diet. The quantification of Purkinje cells, of cells of the molecular layer, and the size of Purkinje cells of the cerebellum of BALB/c mice subjected to a standard diet and a high-carbohydrate diet did not show a statistically significant difference. Except for the evaluation of the size of the nucleus of Purkinje cells, which showed a statistically significant difference between the groups. Animals treated with a high-carbohydrate diet exhibited a trend of neuro-inflammatory signs such as a decrease in the number of Purkinje cells and cells of the molecular layer.

Keywords: Cerebellum. Carbohydrates. Histology. Diet. alterations

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	METODOLOGIA.....	12
5	RESULTADOS	13
6	DISCUSSÃO.....	19
7	CONCLUSÃO.....	21
	REFERÊNCIAS.....	21

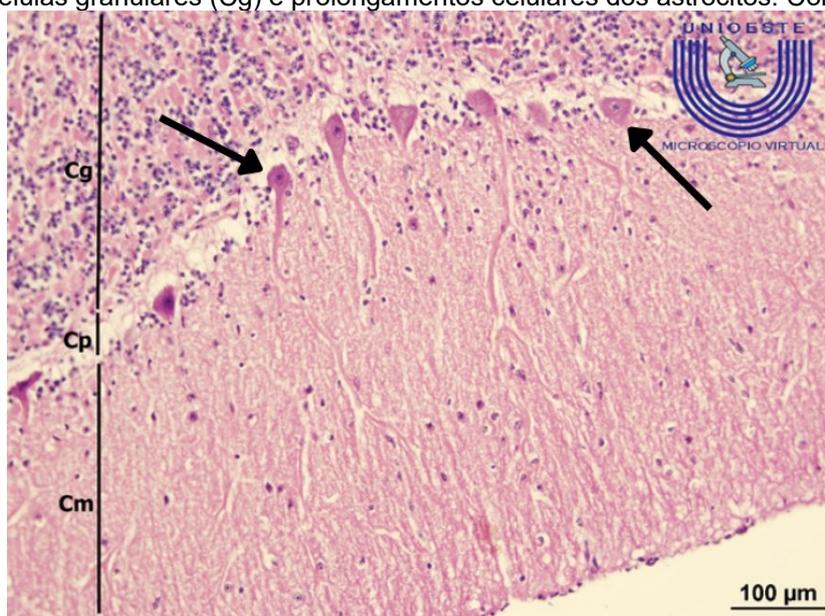
INTRODUÇÃO

O cerebelo destaca-se por sua anatomia singular e funções essenciais na coordenação motora e integração sensorial. Anatomicamente, o cerebelo encontra-se localizado na porção posterior do encéfalo do camundongo, abaixo do lobo occipital e é caracterizado pela presença de dois hemisférios cerebelares conectados pelo *vermis* (MONTANARI, 2016). A função do cerebelo é central na execução precisa dos movimentos corporais. Pesquisas, como as conduzidas por Apps e Garwicz (2005), destacam a contribuição do cerebelo para a aprendizagem motora e a adaptação contínua de camundongos a estímulos ambientais.

A organização histológica do cerebelo compreende três camadas principais de neurônios: camada molecular, camada de células de Purkinje e camada granular (Figura 1). Elas atuam na modulação da atividade neural e na coordenação eficaz de movimentos.

Estudos como o de Muñoz-Castañeda et al. (2018) lançaram luz sobre a importância da organização citoarquitetônica e laminar do cerebelo em mamíferos. Mais do que simples camadas, essa estrutura complexa revela uma gama de conexões neurais que moldam a capacidade de movimento e aprendizado.

Figura 1: Camadas do cerebelo de camundongos: camada molecular (Cm) com poucas células e abundante neurópilo, formado pelos dendritos das células de Purkinje (apontadas pelas setas, Cp), axônios das células granulares (Cg) e prolongamentos celulares dos astrócitos. Coloração com HE



Fonte: Ribeiro et al. (2016)

A arquitetura das células de Purkinje destaca-se por sua localização entre as camadas molecular e granular do cerebelo, conforme discutido por Palay e Chan-Palay (1974). Essas células possuem dendritos altamente ramificados e direcionados para a camada molecular, formando intrincada rede sináptica que as conecta a diversas outras células, contribuindo para a integração sensorial. Trabalhos como o de Apps e Garwicz (2005) indicam que a diversidade morfológica e funcional das células de Purkinje pode ser influenciada por fatores regionais, sugerindo que tais células sofrem especialização adaptativa de acordo com as demandas específicas de cada região cerebelar, podendo assim alterar a morfologia e a funcionalidade local.

A camada molecular do cerebelo, estrutura neural fundamental, participa do processamento sensorial e motor do sistema nervoso central. Sua arquitetura é rica em fibras neurais, proporcionando ambiente propício para a integração de estímulos de diversas partes do corpo (BASSAW et al., 2019). Esta camada é composta principalmente por fibras paralelas (axônios de células granulares) e fibras de escalada, originárias do núcleo olivar inferior, que se localiza no tronco encefálico e recebe informações especialmente da medula espinhal. As fibras paralelas correm horizontalmente, enquanto as fibras de escalada se projetam verticalmente, estabelecendo uma emaranhada rede sináptica. Essa complexidade estrutural contribui para a integração sináptica e a modulação das células de Purkinje, localizadas na camada adjacente.

A camada granulosa do cerebelo é composta principalmente por células granulares, que são essenciais no processamento sensorial e na integração de informações no cerebelo (BEAR et al., 2007). Estudos como os conduzidos por D'angelo; De Zeeuw (2009) têm se dedicado a investigar a organização, a função, o desenvolvimento e a plasticidade da camada granulosa. As células granulares, em particular, são centrais para a formação dos glomérulos cerebelares que são espaços com alta carga sináptica dentro da camada granulosa funcionando como centros de processamento neural (BEAR et al., 2007). Os glomérulos representam agrupamentos organizados de dendritos de células granulares e axônios de células de Golgi, que são interneurônios inibitórios. Pesquisas recentes, como as de Parasuram et al. (2018) têm explorado a importância funcional dessas estruturas na modulação das sinapses na camada granulosa, considerando sua relevância na organização espacial e eficiência na transmissão de sinais.

Outro aspecto que deve ser destacado é a influência ambiental na construção e manutenção do cérebro e cerebelo, como: estímulos físicos e psíquicos, uso de medicamentos, nutrição e outros. O cérebro é um órgão que pode sofrer alterações bioquímicas, morfológicas e/ou funcionais de acordo com a dieta. O conteúdo lipídico do cérebro pode representar mais da metade do peso seco total do órgão. Dessa maneira, dietas

com alto teor de gorduras, como ácidos graxos saturados, podem favorecer a deposição lipídica no cérebro e reduzir a flexibilidade de células nervosas causando neuroinflamações (GIMENEZ et al., 2018). Um estudo comparando dieta rica em carboidratos com dieta rica em gorduras comprovou que a proporção de gordura e carboidratos na alimentação modificou a velocidade de deposição de lipídios e a composição dos ácidos graxos cerebrais. Tais alterações foram associadas à expressão de genes inflamatórios (GIMENEZ et al., 2018).

O cerebelo é importante para o equilíbrio, aprendizagem motora e coordenação, impactando diretamente na qualidade de vida e na capacidade funcional dos indivíduos. Enquanto os efeitos das dietas ricas em gorduras são mais documentados, o impacto de dietas ricas em carboidratos sobre o cerebelo é menos conhecido. Estudos preliminares sugerem que tais dietas podem afetar diferentemente a bioquímica cerebral, incluindo alterações na composição de ácidos graxos cerebrais e na expressão de genes inflamatórios, o que pode influenciar tanto a morfologia quanto a função do cerebelo. Dada a importância dos carboidratos como principal fonte de energia, é fundamental investigar como essas dietas afetam a morfologia cerebelar, para entender possíveis impactos potenciais e orientar recomendações dietéticas que promovam a saúde cerebral e a funcionalidade motora.

Objetivos

Considerando o cerebelo de camundongos BALB/c submetidos a dieta padrão e a dieta rica em carboidratos, tem-se como objetivos:

- Descrever a histologia da camada molecular e das células de Purkinje;
- Quantificar as células de Purkinje e células da camada molecular;
- Definir o tamanho das células de Purkinje e do seu núcleo.

Metodologia

Análises morfológica e morfométrica

As amostras utilizadas neste estudo foram doadas pelo Prof. Dr. Stefany Bruno de Assis Cau, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os cérebros foram dissecados de camundongos machos da linhagem BALB/c com seis semanas de idade, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, e submetidos aos procedimentos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFMG sob o número de protocolo 389/2016.

Foram utilizados camundongos BALB/c mantidos em ciclos diários de doze horas com iluminação e doze horas sem iluminação a temperatura ambiente de 22°C e com dieta de água e ração *ad libitum* para ratos e camundongos. Um total de três camundongos foram submetidos a dieta rica em carboidratos, da quinta à décima terceira semana de vida. O grupo controle recebeu apenas dieta padrão, representado por dois camundongos.

Para a análise morfológica, os órgãos foram fixados em formalina 10% e desidratados. A desidratação ocorreu em três ciclos, de 30 minutos cada, utilizando-se etanol 70%, 85% e 95%, respectivamente. Posteriormente o material foi submetido a três ciclos, de 30 minutos cada, utilizando-se etanol absoluto e depois três banhos em xilol, durante 30 minutos cada. Em seguida, o material foi incluído em parafina (Paraplast Sigma®). Para evitar a análise das mesmas células foram utilizados cortes de 3 µm de espessura do material incluído em parafina, semi-seriados com intervalos mínimos de 30 µm, utilizando navalhas descartáveis para microtomia. Os cortes foram distendidos em banho-maria histológico à 37°C, coletados e depositados em lâminas histológicas e mantidos em estufa à 60°C, com o objetivo de aumentar a aderência do corte à lâmina e eliminar o excesso de parafina. Em seguida, os cortes foram desparafinizados, hidratados e corados por dez minutos com solução aquosa de Hematoxilina de Harris, seguido de eosina por um minuto, montados com Entellan® e analisados a microscopia de luz no Laboratório de Experimentação Biológica (LAEBIO) do campus Pontal da Universidade Federal de Uberlândia.

Após a microtomia, os cortes foram fotografados na objetiva de 40x com a ocular de 10x. Para análise das fotomicrografias foi utilizado o software *ImageJ*®.

Método de análise

As amostras foram fotografadas a microscopia de luz no aumento de 400x. O estudo considerou quatro parâmetros de análise: (1) contagem das células de Purkinje, (2) contagem de células da camada molecular, (3) tamanho das células de Purkinje e (4) tamanho do núcleo das células de Purkinje. Para contagem das células de Purkinje quinze lâminas do cerebelo de cada animal foram contadas. Em cada corte foram selecionados três campos aleatórios do cerebelo, priorizando a área na qual as células de Purkinje estivessem em linha reta. Todas as células visualizadas foram contadas. A definição do tamanho das células de Purkinje e do tamanho do núcleo das células de Purkinje seguiram a mesma metodologia: realizou-se uma circunferência ao redor da célula ou do envoltório nuclear e sua área foi medida utilizando a ferramenta *free hand selections* do programa *ImageJ*®. Por fim, para a contagem de células da camada molecular estabeleceu-se uma área retangular padrão, de

proporções 250x830 *pixels*, com auxílio da ferramenta *rectangle* do programa *ImageJ*[®], e todos os núcleos visualizadas neste campo foram contadas.

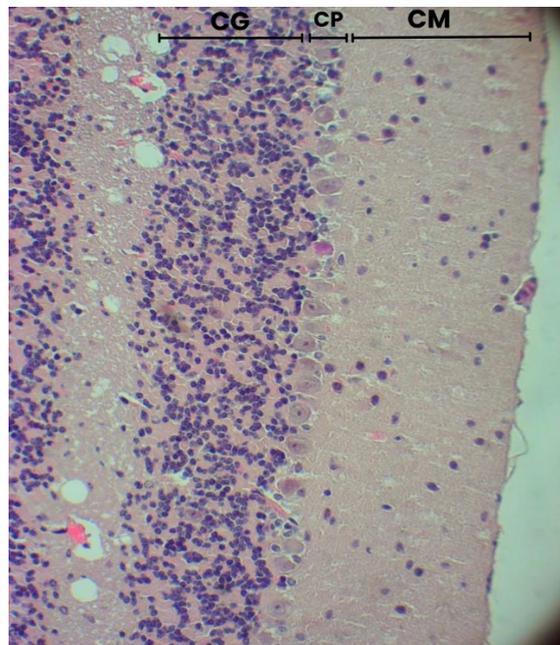
Os dados coletados foram tabulados no Excel e examinados no *software Jamovi* para análises estatísticas. Inicialmente, as amostras foram submetidas ao teste de Levene para verificar a homogeneidade e ao teste de Shapiro-Wilk em relação à normalidade, como pré-requisitos para a aplicação do teste ANOVA, utilizado para comparar o tamanho da área (μm^2) dos neurônios de Purkinje, o número dessas células e das células da camada molecular. No mais, para testar as hipóteses, estabeleceu-se o índice de significância de 95% ($p < 0,05$).

Resultados

O cerebelo é organizado histologicamente em três camadas: a camada molecular (CM), a camada de células de Purkinje (CP) e a camada granular (CG), adjacentes à pia máter, uma membrana delgada e transparente que tem função de proteção, isolamento, transporte de nutrientes e drenagem de líquido cefalorraquidiano (Figura 2).

Figura 2: Camadas do cerebelo de camundongo BALB/c macho, tratado com dieta padrão camada granular (CG), camada de células de Purkinje (CP) e camada molecular (CM). Coloração: HE.

Aumento: 400x

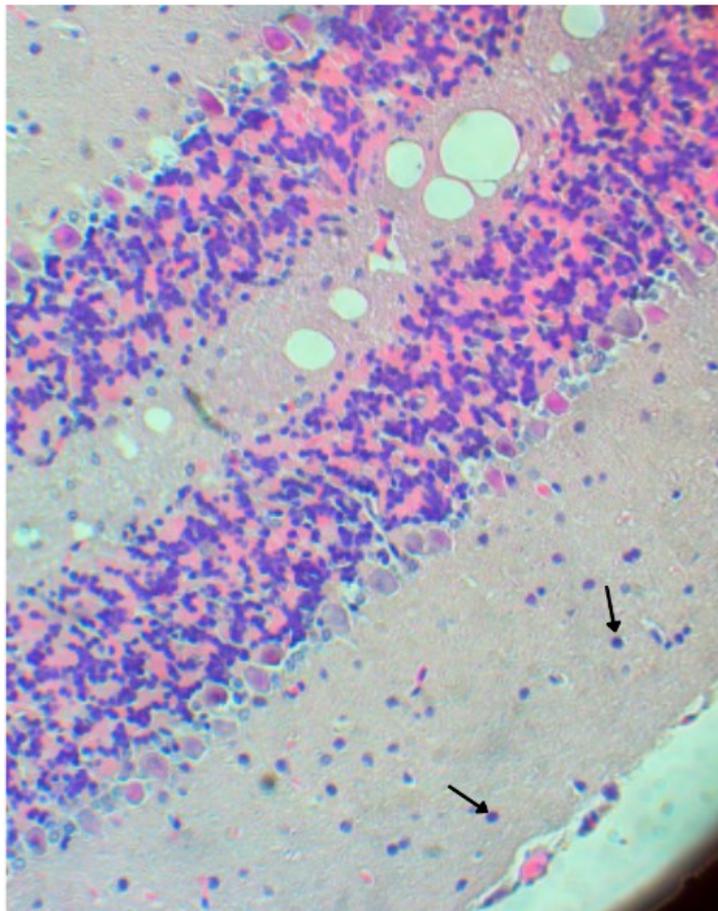


Fonte: o autor (2024)

Considerando que a análise histológica revelou semelhanças entre os camundongos alimentados com dieta padrão e aqueles alimentados com dieta rica em carboidratos, a descrição abaixo fará referência aos dois grupos.

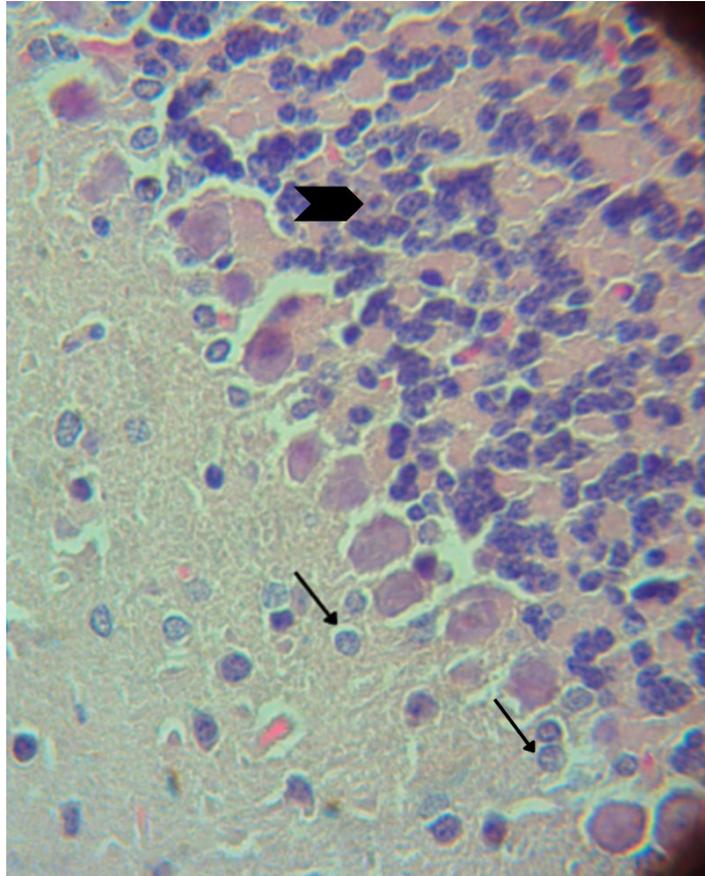
No córtex do cerebelo, em especial na camada molecular, observou-se matriz extracelular de caráter homogêneo, finamente granuloso e cor rosa com células da glia distantes umas das outras e em pouca quantidade. Características que revelam o predomínio de neurópilos, estruturas fibrosas como dendritos, axônios e sinapses, que geram aparência rica em prolongamentos celulares. Os núcleos das células da glia eram globosos, bem corados, de fácil visualização e de caráter eosinofílico. Os neurônios presentes nesta camada, classificados como estrelados (Figura 3), estavam presentes principalmente na porção mais externa e neurônios com detalhe em cesto (Figura 4) presentes na porção mais interna do órgão.

Figura 3: Neurônios estrelados (setas) presentes na camada molecular de cerebelo de camundongo BALB/c macho, tratado com dieta padrão. Coloração: HE. Aumento: 400x



Fonte: autor (2024)

Figura 4: Neurônio em cesto (setas) presente na camada molecular e corpos celulares das células de Golgi (cabeça de seta) na camada granulosa de cerebelo de camundongo BALB/c macho, tratado com dieta padrão Coloração: HE. Aumento: 1000x

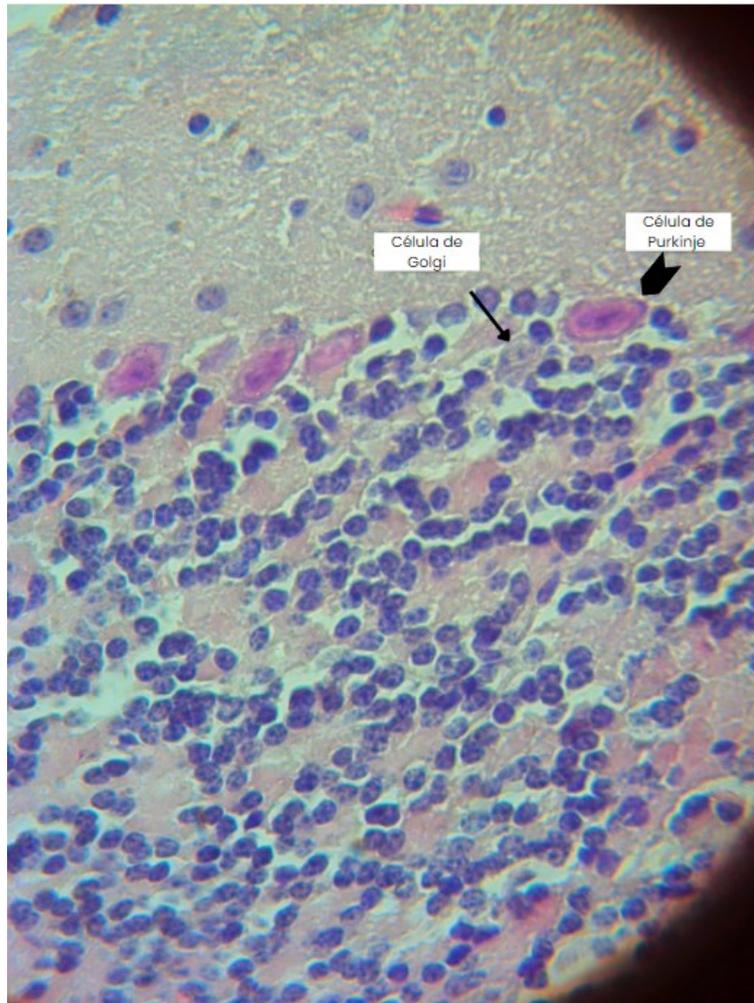


Fonte: autor (2024)

A camada subsequente à camada molecular é a delgada camada de células de Purkinje que exibiu neurônios com corpos celulares esféricos e volumosos, citoplasma homogêneo e núcleo, também esférico, grande e granuloso com nucléolo evidente.

E, por último, a camada granulosa com escassa matriz extracelular contendo numerosos pequenos neurônios (chamados de células granulosas) com núcleos bem visíveis. Entre estas células se localizam os glomérulos cerebrais responsáveis por significativa quantidade de sinapses. A camada granulosa apresentava ainda corpos celulares das células de Golgi (Figura 5) que, em sua maioria, apresentaram-se voltados para a região mais próxima à camada das células de Purkinje. Aparentemente, na camada granulosa notou-se escassez de neurópilo e abundância de células, se comparadas à camada molecular. As células mais abundantes da camada molecular são as células granulosas com aparência arredondada e axônios que fazem sinapses com células de Purkinje.

Figura 5: Célula de Golgi (seta) na camada granulosa e células de Purkinje (cabeça de seta) na camada das células de Purkinje de cerebelo de camundongo BALB/c macho, tratado com dieta padrão. Coloração: HE. Aumento: 1000x



Fonte: autor (2024)

Comparação entre a dieta padrão e a dieta rica em carboidratos

As células de Purkinje são as maiores do cerebelo com longo prolongamento dendrítico (Figura 1) e importantes para a integração sensorial com as demais células do cerebelo (KANDEL, 2014). Neste estudo, quatro parâmetros foram analisados no cerebelo de camundongos BALB/c submetidos a dieta padrão e dieta rica em carboidratos: (1) contagem das células de Purkinje, (2) contagem das células da camada molecular, (3) tamanho das células de Purkinje e (4) tamanho do núcleo das células de Purkinje, segundo

metodologia já descrita. A média do número das células de Purkinje contadas em camundongos com dieta padrão foi de 18,9 células, enquanto dos camundongos submetidos a dieta rica em carboidratos foi de 15,13 células. A contagem das células da camada molecular revelou que os animais com dieta padrão apresentaram 49,39 células e os animais alimentados com dieta rica em carboidratos tinham 46,51 células (Gráfico 1).

O tamanho das células de Purkinje de camundongos com dieta padrão foi de 131,43 μm^2 e de camundongos submetidos a dieta rica em carboidratos foi de 126,78 μm^2 (Gráfico 2). O núcleo das células de Purkinje de camundongos com dieta padrão exibiram tamanho de 62,21 μm^2 e de camundongos submetidos a dieta rica em carboidratos foi 47,54 μm^2 (Gráfico 2).

Gráfico 1: Média do número de células de Purkinje e de células da camada molecular do cerebelo de camundongos BALB/c submetidos a dieta padrão e dieta rica em carboidratos

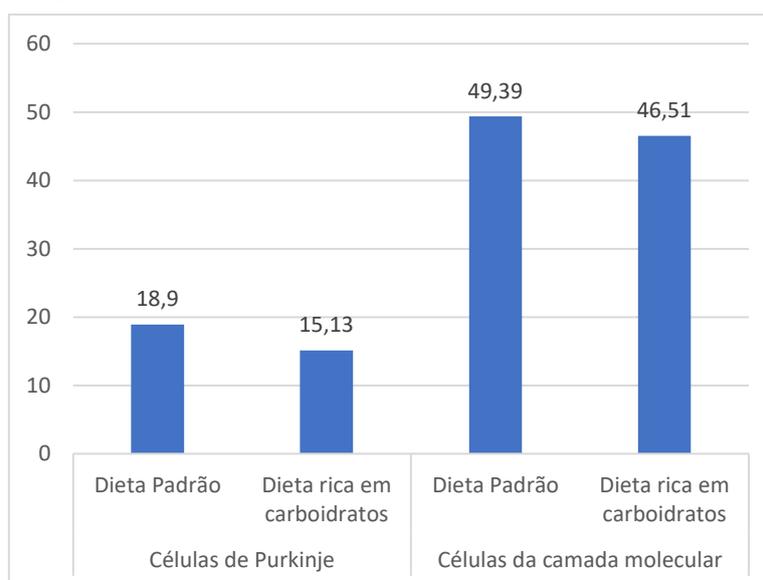
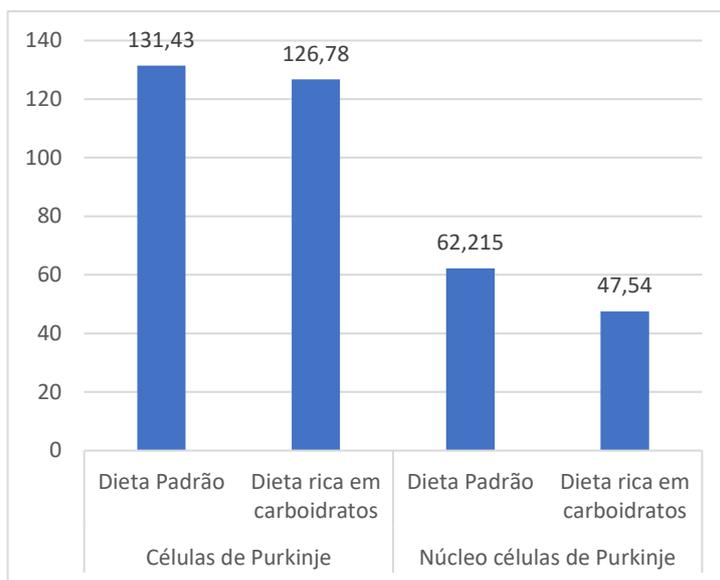


Gráfico 2 : Tamanho das células de Purkinje e dos núcleos das células de Purkinje, em μm^2 , de cerebelo de camundongos BALB/c submetidos a dieta padrão e dieta rica em carboidratos



Resultados estatísticos

A análise estatística foi realizada através de dois testes: teste de Shapiro-Wilk que é um método estatístico utilizado para verificar se uma amostra de dados segue uma distribuição normal e o teste de Levene também conhecido como teste de homogeneidade de variâncias, é um método estatístico utilizado para avaliar se as variâncias de duas ou mais amostras são iguais.

Para o teste de Shapiro-Will tanto o número de células de Purkinje quanto o número de células da camada molecular seguem a distribuição normal. Já para a área das células de Purkinje e a área o núcleo destas células temos distribuições fora da normalidade indicando que estas células podem ter sofrido alterações por causa da dieta. Para o teste de Levane, todos os valores foram maiores que 0,05 ($p > 0,05$) indicando que a homogeneidade é mais provável (Tabela 1).

Tabela 1: Teste de normalidade de homogeneidade de variâncias, Shapiro-Wilk e Levene, do número de células de Purkinje, número de células da camada molecular, tamanho das células de Purkinje e tamanho do núcleo das células de Purkinje em μm^2 de cerebelos de camundongos BALB/c submetidos a dieta padrão e dieta rica em carboidratos

Variável	Teste de Shapiro-Wilk (<i>p</i> -valor)	Teste de Levene (<i>p</i> -valor)
Número de células de Purkinje	0,504	0,254
Número de células da camada molecular	0,885	0,522
Área das células de Purkinje (μm^2)	0,112	0,106
Área do núcleo das células de Purkinje (μm^2)	0,07	0,439

Nota: um *p-value* baixo sugere a violação do pressuposto da normalidade.

Fonte: autor (2024).

Discussão

A análise histológica não revelou diferença entre as células dos cerebelos dos grupos estudados, camundongos com dieta padrão e com dieta rica em carboidratos. As três camadas do cerebelo: molecular, de células de Purkinje e granular apresentaram-se com mesma organização, coloração e consistência. As células dos dois grupos de camundongos, independentemente da camada, exibiram semelhanças no formato, tamanho, homogeneidade do citoplasma e características nucleares e nucleolares.

Ao se comparar a média do número de células de camundongos com dieta padrão: células de Purkinje (18,9 células) e células da camada molecular (49,39 células) em relação àqueles animais submetidos a dieta rica em carboidratos: células de Purkinje (15,13 células) e células da camada molecular (46,51 células) notou-se uma tendência de diminuição no número de células nos animais alimentados com dieta rica em carboidratos (Gráfico 1). A mesma tendência de diminuição se repetiu no tamanho das células de Purkinje e no tamanho do seu núcleo também em animais tratados com dieta rica em carboidratos (Gráfico 2). Em nenhum dos casos houve diferença significativa. Contudo há relatos na literatura que corroboram tais observações, como os estudos de Eluwa et al. (2013) que investigaram a ação da dieta com refrigerantes em ratas e observaram a perda de células de Purkinje e

desorganização da camada granular. Embora os mecanismos exatos pelos quais a dieta rica em carboidratos leve à diminuição das células de Purkinje ainda não estejam totalmente compreendidos, algumas hipóteses podem ser levantadas como o fato de a dieta aumentar a produção de radicais livres levando ao estresse oxidativo e à morte celular ou induzir inflamação crônica, que também contribui para a degeneração neuronal (ELUWA et al., 2013). Ebrahim; El-Gamal; Sherif (2021) também observaram a produção de radicais livres em ratos alimentados com dieta rica em gorduras, durante dezesseis semanas, além de atrofia no cerebelo com diminuição do número das células de Purkinje e inflamação caracterizada pelo aumento de Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), uma citocina inflamatória. Provavelmente este processo também esteja associado ao aumento da produção de radicais livres, em decorrência da dieta rica em gorduras, podendo causar danos celulares, e o cerebelo seja mais vulnerável a esta oxidação. Este evento, provavelmente, está associado à maior quantidade de ácidos graxos presentes no cerebelo, sugerindo que a dieta pode alterar sua morfologia e o número de células de Purkinje. Outro estudo investigou o metabolismo da frutose no cerebelo, um açúcar simples presente em frutas, adoçantes, xaropes, refrigerantes e alimentos processados e concluiu que esse monossacarídeo é metabolizado no cerebelo através de vias específicas que diferem do metabolismo da glicose com enzimas específicas, como a frutoquinase e a aldolase B, com potenciais efeitos sobre a função cerebelar ligados a distúrbios neurológicos e comportamentais (FUNARI; CRANDALL; TOLAN, 2007). Além de estudos do cerebelo, o cérebro foi analisado pelos pesquisadores Frasuto et al. (2021) que revelaram que a atuação de uma dieta rica em carboidratos pode estar associada a problemas na microbiota intestinal, no cérebro e no hipocampo, parte responsável pela memória e aprendizado. No estudo, foi analisado o eixo intestino-cérebro e os resultados indicaram que esta dieta pode proporcionar aumento no número de bactérias patogênicas no intestino (firmicutes), diminuir a quantidade de bactérias não patogênicas (bacteroidetes) e aumentar a produção de metabólitos nocivos. E ao considerar-se a associação entre o intestino e o cérebro essa desregulação intestinal pode causar um aumento de inflamação cerebral, estresse oxidativo, aumento de risco de doença de Alzheimer e diminuição do tamanho e da quantidade de células de Purkinje.

Drogas, como o álcool, também podem alterar a morfologia e a quantidade de células de Purkinje, segundo Apfel et al. (2002), que analisaram em seu estudo 48 ratos Wistar machos divididos em quatro grupos: um grupo controle e outros três grupos submetidos a intoxicação por bebida alcoólica com concentrações de 4%, 12% e 24%, via oral. O estudo demonstrou que a intoxicação alcoólica crônica em ratos levou a efeitos deletérios sobre a morfologia e a quantidade das células de Purkinje no cerebelo, havendo diminuição da densidade numérica e de superfície das células de Purkinje, indicando uma perda significativa

de neurônios cerebelares, o que pode gerar consequências graves para a função motora e cognitiva.

Conclusões

A análise histológica não revelou diferença entre as células dos cerebelos dos grupos estudados, camundongos com dieta padrão e com dieta rica em carboidratos. As três camadas do cerebelo: molecular, de células de Purkinje e granular apresentaram-se com mesma organização, coloração e consistência. As células dos dois grupos de camundongos, independentemente da camada, exibiram semelhanças no formato, tamanho, homogeneidade do citoplasma e características nucleares e nucleolares.

A quantificação das células de Purkinje, de células da camada molecular e o tamanho das células de Purkinje de cerebelos de camundongos BALB/c submetidos a dieta padrão e dieta rica em carboidratos não apresentaram diferença estatística significativa, possivelmente em decorrência da baixa amostragem. Todavia revelaram tendências descritas na literatura. Excetua-se a avaliação do tamanho do núcleo das células de Purkinje que demonstrou diferença estatística significativa entre os grupos. Os animais tratados com dieta rica em carboidrato exibiram tendência de diminuição do número de células de Purkinje e células da camada molecular.

Outro ponto a se considerar diz respeito ao tempo de tratamento, possivelmente um tratamento mais prolongado poderia mostrar efeitos mais marcantes. Conclui-se também a necessidade de mais estudos sobre o impacto do consumo de carboidratos no cerebelo.

Referências

APFEL, M. I. R. et al. Estudo estereológico das células de Purkinje cerebelares submetidas à intoxicação alcoólica em ratos Wistar. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 60, n. 2A, p. 258-263, 2002.

APPS, R.; GARWICZ, M. Anatomical and physiological foundations of cerebellar information processing. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 4, p. 297-311, 2005.

BASSAW, Jonathan Kofi. Efeitos da dieta rica em carboidratos refinados e da hiperóxia no fígado de camundongos Balb/c: estudo bioquímico e histopatológico. 2019. 38 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Escola de Farmácia, **Universidade Federal de Ouro Preto**, Ouro Preto, 2019.

D'ANGELO, E.; DE ZEEUW, C. I. Timing and plasticity in the cerebellum: focus on the granular layer. **Trends in Neurosciences**, v. 32, n. 1, p. 30-40, 2009.

- EBRAHIM, H. A.; EL-GAMAL, R.; SHERIF, R. N. Intermittent Fasting Attenuates High Fat Diet-Induced Cerebellar Changes in Rats: Involvement of TNF α , autophagy and oxidative stress. **Cells Tissues Organs**, v.5 n. 6, p. 351-367, 2021.
- ELUWA, M. et al. A comparative study of the effect of diet and soda carbonated drinks on the histology of the cerebellum of adult female albino Wistar rats. **African Health Sciences**, v. 13, n. 3, 2013.
- FRAUSTO, D. M. et al. Dietary regulation of gut-brain axis in Alzheimer's disease: Importance of Microbiota metabolites. **Frontiers in Neuroscience**. v. 15 n. 1 p. 51-76, 2021.
- FUNARI, V. A.; CRANDALL, J. E.; TOLAN, D. R. Fructose metabolism in the cerebellum. **The Cerebellum**, v. 6, n. 2, p. 130–140, 2007.
- GIMENEZ DA SILVA-SANTI, L. et al. **Brain Fatty Acid Composition and Inflammation in Mice Fed with High-Carbohydrate Diet or High-Fat Diet**. *Nutrients*, v. 10, n. 9, p. 1277, 10 set. 2018.
- KANDEL, E. et al. **Princípios de Neurociências** v. 5, n. 2, p 112-135, 2014.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências desvendando o sistema nervoso**. [s.l.] Porto Alegre] Artmed, 2007.
- MONTANARI, T. **Histologia Texto, atlas e roteiro de aulas práticas 3ª edição**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/livrodehisto/pdfs/livrodehisto.pdf>>. 2016.
- MUÑOZ-CASTAÑEDA, R. et al. Cytoskeleton stability is essential for the integrity of the cerebellum and its motor and affective-related behaviors. **Scientific reports**, v. 8, n. 1 p 33-43, 2018.
- PALAY, S. L.; CHAN-PALAY, V. **Cerebellar cortex: Cytology and organization**. 1974. ed. Berlim, Germany: Springer, 1974.
- PARASURAM, H. et al. Understanding cerebellum granular layer network computations through mathematical reconstructions of evoked local field potentials. **Annals of Neurosciences**, v. 25, n. 1, p. 11–24, 2018.
- RIBEIRO, L.F.C.; DE QUADROS, Â.A.G.; LIMA, B.; BRANCALHÃO, R.M.C.; KUNZ, R.I. **Tecido nervoso**, 2016. Disponível em: . Acesso em: 16 de jul. 2023.