



ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO GLÚTEN NOS PARÂMETROS OXIDATIVOS INTESTINAIS DE CAMUNDONGOS

**Ana Caroline dos Santos, Marcia Maria de Souza, Tauani Caroline Santos França, Karollyne
Emanuela Coelho Gonçalves, Bruna da Luz de Moraes**
Farmacologia - Neuropsicofarmacologia

O presente estudo investigou a influência do glúten sobre parâmetros oxidativos intestinais em camundongos C57BL/6J fêmeas, submetidos a dietas rica, normal e isenta de glúten. Observou-se que a dieta rica em glúten promoveu aumento dos níveis de malondialdeído (MDA) e da atividade da enzima GST, indicando maior estresse oxidativo e tentativa de compensação enzimática, enquanto a dieta isenta de glúten elevou os níveis de glutathione reduzida (GSH), reforçando a defesa antioxidante e preservação da mucosa intestinal. Além disso, verificou-se aumento da atividade de mieloperoxidase (MPO) no grupo isento de glúten, sugerindo maior migração de neutrófilos e possível influência do glúten na modulação da resposta imune inata. Os achados indicam que tanto o excesso quanto a ausência total de glúten podem alterar o equilíbrio oxidativo intestinal, reforçando a importância do consumo equilibrado, exceto em casos de doença celíaca, nos quais a exclusão do glúten é essencial. O glúten é uma proteína insolúvel, formada por outras duas: uma pertencente ao grupo das prolaminas e outra das gluteninas, ambas insolúveis em água. A aparência do glúten é de uma massa pegajosa e elástica, e o mesmo é formado quando as proteínas que o constituem são colocadas em presença de água e sofrem ação mecânica. Salienta-se que o glúten é formado apenas quando são utilizados cereais que contenham as proteínas do grupo das prolaminas e gluteninas. (ARAÚJO et al, 2010) No Brasil, de acordo com a Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003, é obrigatório que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva para portadores da doença celíaca (BRASIL, 2003). O glúten nada mais é que uma cadeia elástica e flexível que dá estrutura à massa, isso ocorre por causa. A Doença celíaca pode se manifestar de acordo com a faixa etária do paciente. Nas crianças podem ocorrer a diarreia, distensão abdominal e problemas de desenvolvimento. Além disso, vômitos, irritabilidade, falta de apetite e mesmo prisão de ventre podem fazer parte do quadro. Na puberdade e adolescência é comum a anemia, baixa estatura e alguns sintomas neurológicos. Nos adultos, a apresentação clássica da DC é de crises de diarreia acompanhadas de dor e desconforto abdominal. E outras manifestações mais silenciosas como: anemia por deficiência de ferro, osteoporose, emagrecimento, dermatites, redução dos níveis de cálcio, alterações hepáticas, sintomas neurológicos e constipação. (GUANDALINI 2020) O organismo possui um complexo sistema de proteção antioxidante, como mecanismo de defesa contra os radicais livres, que são formados constantemente no metabolismo celular normal e em vários eventos patológicos e, quando em excesso, podem ocasionar a oxidação de moléculas biológicas. O desequilíbrio entre o desafio oxidativo e a capacidade de defesa antioxidante do organismo é denominado de estresse oxidativo (MACHADO et al., 2009). Neste cenário, o presente estudo teve como objetivo elucidar os efeitos de uma dieta rica em glúten em parâmetros oxidativos a fim de avaliar se, mesmo em indivíduos saudáveis, há algum impacto oxidativo na mucosa intestinal. Para este propósito, camundongos C57BL/6J fêmeas (25–30 g), mantidos em condições controladas de temperatura, ciclo claro/escuro e alimentação ad libitum, conforme aprovação do CEUA/UNIVALI (005/20). Os animais foram divididos em três grupos: dieta normal (Nuvilab®), dieta enriquecida com glúten (75% de farinha de glúten adicionada à ração padrão) e dieta isenta de glúten (Alcon Club®), administradas do desmame à idade adulta (3 meses). Após o tratamento, duodeno e cólon foram coletados para obtenção dos homogenatos e análises bioquímicas. Foram determinados os níveis de glutathione reduzida (GSH) e malonaldeído (MDA) como indicadores do estado oxidativo, e as atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) e mieloperoxidase (MPO). As quantificações foram realizadas por espectrofotometria, utilizando métodos clássicos de Sedlak & Lindsay (1968), Percário et al. (1994), Marklund & Marklund (1974), Habig et al. (1974) e Bradley et al. (1982). A concentração proteica foi avaliada pelo método de Bradford, e os dados foram expressos como média \pm EPM, analisados por ANOVA de uma via seguida do teste de Bonferroni, considerando significância estatística para $p < 0,05$. O aumento de GSH nos camundongos expostos a dieta isenta de glúten é consideravelmente positivo, pois este tripeptídeo protege de forma eficaz todas as células do corpo, incluindo a mucosa intestinal, sendo assim, os camundongos com maiores índices de GSH tem



24º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

13ª Mostra Científica de Integração
entre Pós-Graduação e Graduação
3ª Jornada de Tecnologia e Inovação

maiores chances de preservação e recuperação celular. Favorável no combate aos radicais livres. Conforme Park, 2010, o nível intracelular de glutathione pode ser preditivo para a longevidade dessa célula e neste caso a isenção de glúten aumenta a defesa antioxidante da mucosa duodenal mesmo em animais saudáveis. Percebe-se que os níveis de GSH na dieta controle são similares comparando com os níveis da dieta rica em glúten, neste caso, a dieta isenta de glúten foi favorável. Com esse aumento dos níveis de MDA duodenal e no cólon, presume-se a resposta inflamatória que uma dieta rica em glúten pode desencadear. Em contrapartida a dieta controle e isenta de glúten não houve alteração significativa. Conforme Moretti et al. (2018), partindo de análises de biópsias duodenais e amostras de sangue periférico de pacientes celíacos, o estresse oxidativo está fortemente associado a distúrbios relacionados ao glúten. O desequilíbrio do sistema oxidativo desempenha um papel fundamental na patogênese de diferentes distúrbios gastrointestinais, e neste caso, estendendo os resultados de Moretti e colaboradores (2018) m, nossos resultados com os níveis de MDA indicam que uma dieta rica em glúten também pode promover aparecimento de estresse oxidativo mesmo em um indivíduo saudável. A atividade de GST está baixo no grupo que recebeu dieta isenta de glúten, o que poderia significar 2 cenários: (1) uma reduzida capacidade detoxificante do tecido por meio desta enzima ou (2) que não há necessidade de processos de detoxificação neste tecido e por isso a atividade da enzima está reduzida. A segunda hipótese parece ser mais aceitável, dado que no grupo que recebeu dieta isenta em glúten, os níveis de GSH estão aumentados, o que também se correlaciona com a atividade de GST reduzida, haja visto que o GST utiliza o GSH como coo fator. Além disso é importante ressaltar que nesse grupo os níveis de malondialdeído não estão aumentados, indicando que neste grupo não há evidente estresse oxidativo nos tecidos analisados. De forma interessante, houve o aumento da atividade de MPO nos animais tratados com dieta isenta de glúten, indicando maior migração de neutrófilos no duodeno e cólon desses animais. Há muito tempo é sabido que o soro de pacientes celíacos inibe a migração de leucócitos de pacientes não celíacos incubados com este soro e que esta inibição in vitro também ocorre por efeito de antígenos presentes no glúten (Simpson et al., 1983). Diante disso é possível inferir que, ainda que danoso em pacientes celíacos, e que a dieta rica em glúten tenha favorecido parâmetros de estresse oxidativo, a presença de glúten em níveis normais também é importante para uma resposta imune inata mediada por neutrófilos adequada devido a capacidade que componentes do glúten possuem em inibir migração de leucócitos. Mesmo em animais saudáveis, os resultados obtidos neste estudo confirmaram que a presença excessiva ou a ausência de glúten pode alterar parâmetros de estresse oxidativo no duodeno e cólon. Desta forma, o aumento de GSH nos camundongos exposto a dieta isenta de glúten, demonstra que a isenção de glúten na dieta aumenta a disponibilidade deste importante tripeptídeo na defesa antioxidante da mucosa intestinal. Por outro lado, o aumento dos níveis de MDA duodenal e no cólon nos camundongos que consumiram a dieta rica em glúten é um importante indicador de dano oxidativo nestas mucosas em consequência do consumo excessivo de glúten. Da mesma forma, o aumento da atividade de GST nos camundongos expostos a dieta rica em glúten sugere que as atividades destas enzimas possam ter aumentado para compensar o estresse oxidante causado pelo aumento de toxidade causada pela dieta. Contudo, o aumento da atividade de MPO nos animais tratados com dieta isenta de glúten, indica maior migração de neutrófilos no duodeno e cólon desses animais, e isso pode ser devido a capacidade que componentes do glúten possam em inibir migração de leucócitos, assim presença de glúten em níveis normais também é importante para uma resposta imune inata. Diante dessa análise, é importante observarmos atentamente para cada detalhe. Sendo que o equilíbrio na dieta seria o ideal para não haver danos, em exceção a doença celíaca que deve aderir a dieta isenta de glúten total sem hesitação.

Palavras-chave: Glúten; Intestino; Estresse oxidativo

Referências

- ARAÚJO, W. M. C. et al. Glúten: aspectos tecnológicos e nutricionais. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 69, n. 1, p. 49–57, 2010. BRADLEY, P.P.; PRIEBAT, D.A.; CHRISTENSEN, R.D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. Journal Investigative of Dermatology., v.78, p. 206-209, 1982.
- BRASIL. Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados



24º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

13ª Mostra Científica de Integração
entre Pós-Graduação e Graduação
3ª Jornada de Tecnologia e Inovação

informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 maio 2003.

GUANDALINI, S. Celiac disease: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, v. 70, n. 1, p. 3–9, 2020.

HABIG, W.H., PABST, M. J., JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal Biological Chemistry, v.249, p.7130–7139, 1974.

MACHADO, A. K. et al. Estresse oxidativo e doenças crônicas: revisão de literatura. Revista Brasileira de Nutrição Clínica, v. 24, n. 3, p. 195–202, 2009.

MARKLUND, S., MARKLUND, G. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. European Journal of Biochemistry, v.47, p. 469-474, 1974.

MORETTI, D. et al. Oxidative stress in celiac disease: role of the gluten-free diet. Antioxidants, v. 7, n. 8, p. 100–112, 2018.

PARK, S. K. Glutathione and cellular longevity: mechanisms and implications. Journal of Cellular Biochemistry, v. 109, n. 2, p. 408–416, 2010.

PERCÁRIO, S., VITAL, A., JABLONKA, F. Dosagem do malondialdeído. Newslab., v. 2, n 6, p. 46-50, 1994.

Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Universidade do Vale do Itajaí (Univali)