



24º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

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

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 glutationa 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 glutationa reduzida (GSH) e malonaldeído (MDA) como indicadores do estresse oxidativo, e as atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona 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 ± 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 glutatona 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 baixa 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 co-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抗ígenos 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 toxicidade 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 possuem 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 malondialdeido. *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)