

Efecto de una Dieta Rica en Gliadina sobre las Defensas Antioxidantes de Ratones PAM Adultos

Effect of a Diet Rich in Gliadin on Antioxidant Defenses of Adult PAM Mice

Estefanía Díaz del Cerro y Ana González Manteiga

Tutoras:

Noemi Ceprian y Mónica De la Fuente

Universidad Complutense de Madrid

Resumen

El deterioro de los sistemas homeostáticos, nervioso e inmunitario, y de su comunicación supone una peor salud y el consecuente aumento de morbilidad y mortalidad, hechos que suceden con el envejecimiento. Se ha establecido un modelo de envejecimiento prematuro en ratones, en el que los animales adultos que responden peor al estrés de una actividad novedosa (explorar un laberinto en T) tienen un sistema inmunitario envejecido, un peor estado redox y una menor esperanza de vida que los que los de la misma edad que responden adecuadamente. En esos animales, denominados *Prematurely Aging Mice* (PAM), las células inmunitarias expuestas *in vitro* a péptidos de gliadina mostraron una alteración funcional que se asemejaba a la que tiene lugar en la enfermedad celiaca. Por ello se propuso a los PAM como un posible modelo para el estudio de esa enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de una dieta rica en gliadina sobre las defensas antioxidantes de ratones PAM adultos. Para ello se emplearon 14 hembras PAM adultas (32±4 semanas de edad) que recibieron durante 4 semanas una dieta enriquecida con gluten (PAMGLU, 120gr/kg dieta) o una dieta estándar (PAMC). Al finalizar, se midieron parámetros de estado redox (enzimas antioxidantes glutatión reductasa y glutatión peroxidasa). Los resultados mostraron que los PAMGLU, respecto a los PAMC, tienen menor actividad enzimática de la glutatión reductasa y peroxidasa en pulmón, bazo, hígado y corazón. Por tanto, se puede concluir que la dieta rica en gliadina podría disminuir las defensas antioxidantes, lo cual se correspondería con las alteraciones periféricas de individuos celíacos.

Palabras clave: enfermedad celiaca, PAM, defensas antioxidantes, glutatión reductasa, glutatión peroxidasa.

Abstract

The deterioration of homeostatic, nervous and immune systems, and their communication is a worse health and the consequent increase in morbidity and mortality, made that happen with aging. He has been a model of premature aging in mice, in which adult animals that respond worse to the stress of an activity novel (explore a maze t) have an aging immune system, a redox worse state and lower life expectancy which are of the same age respond adequately. In those animals, called *Prematurely Aging Mice* (PAM), immune cells exposed *in vitro* to gliadin peptides showed a functional alteration that resembled which occurs in celiac disease. By this is proposed to the PAM as a possible model for the study of that disease. The objective of the present study was to determine the effect of a diet rich in gliadin on antioxidant defenses of mice PAM adults. So were 14 females PAM (32±4 weeks old) adults who received a gluten-enriched diet for 4 weeks (PAMGLU, 120 gr/kg diet) or a standard diet (PAMC). At the end, redox State (glutathione reductase and Glutathione peroxidase antioxidant enzymes) parameters were measured. The results showed that the PAMGLU, with respect to the PAMC, have lower enzymatic activity of glutathione reductase and peroxidase in lung, spleen, liver and heart. Therefore, it can conclude that the diet rich in gliadin could decrease the defenses antioxidant, which is would correspond with the alterations peripheral of individuals celiac.

Keywords: celiac disease, PAM, antioxidant defenses, glutathione reductase, glutathione peroxidase.

Introducción

La Enfermedad Celíaca (EC) es una enfermedad inflamatoria crónica del intestino delgado debida a una respuesta inmunológica inadecuada frente al gluten, concretamente a la gliadina, que afecta a individuos genéticamente predisuestos en cualquier época de la vida (Ferretti, Bacchetti, Masciangelo y Saturni, 2012). La interacción desfavorable entre genes de predisposición y factores ambientales da como resultado esta enfermedad (Ferretti et al., 2012), cuyo síntoma característico es la desaparición de las microvellosidades del intestino, lo cual conduce a una mala absorción de los nutrientes. Esta alteración e inflamación de la mucosa intestinal también se ve reflejada a nivel periférico, donde se ha observado un descenso de la actividad de enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión reductasa (GR) y un incremento de compuestos oxidantes. Dicha relación entre el daño oxidativo y la enfermedad celíaca está respaldada por varios estudios en células intestinales y circulantes (De Palma et al., 2014).

La enfermedad celíaca, inicialmente diagnosticada en la infancia está siendo cada vez más detectada en la edad adulta, atribuyéndose a la inadecuada respuesta al estrés un papel relevante en la etiología de la enfermedad. El estrés provoca una alteración en la comunicación entre los sistemas homeostáticos, nervioso e inmunitario, conllevando un aumento de la morbilidad y mortalidad. Esta alteración se ejemplariza en un modelo de envejecimiento prematuro, en el que los ratones adultos que responden peor al estrés de una actividad novedosa (explorar el laberinto en T) tienen un sistema inmunitario más envejecido, un peor estado redox y una menor esperanza de vida que los de la misma edad que responden bien. Por ello se denominaron *Prematurely Aging Mice* (PAM) (Vida y De la Fuente, 2013). Además, las células inmunitarias de PAM expuestas *in vitro* a péptidos de gliadina han mostrado una alteración funcional que se asemeja a la que tiene lugar en la enfermedad celíaca, por lo que se propuso a los PAM como posible modelo de esta enfermedad (De Palma et al., 2014).

Por todo ello, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la ingestión de una dieta rica en gliadina sobre las defensas antioxidantes de ratones PAM.

Material y métodos

Muestra

Ratones hembra ICR-CD1 adultas (32±4 semanas) se sometieron a la prueba conductual del laberinto en T, 4 veces durante 4 semanas consecutivas a la misma hora. Tras ello se seleccionaron 14 hembras PAM (aquellas que recorrieron el brazo largo del laberinto en más de 10 segundos), a las que se dividió en dos grupos. Uno recibió una dieta rica en gliadina (120gr/kg dieta) durante 4 semanas (PAMD) y el

otro una dieta control (PAMC). Posteriormente se sacrificó a dichos animales y se extrajeron los órganos a estudiar: bazo, pulmón, corazón, riñón e hígado. En el caso del riñón se estudió el órgano completo así como diferenciado en sus partes: corteza y médula. En toda la experimentación se siguió la normativa vigente al respecto (Real Decreto 53/2013).

Glutatión peroxidasa

La actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) se valoró por espectrofotometría siguiendo el protocolo descrito por Lawrence y Burk (1976), con pequeñas modificaciones.

Glutatión reductasa

La actividad de la glutatión reductasa (GR) se valoró por espectrofotometría siguiendo el protocolo descrito por Massey y Williams (1965), con pequeñas modificaciones.

Análisis estadístico

Los datos se representan como media ± desviación estándar. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 21.0. Tras comprobar la normalidad y la homocedasticidad de los datos (tests de Kolmogorov-Smirnov y de Levene, respectivamente), las diferencias entre grupos se analizaron usando la prueba t-Student para muestras independientes. En todos los casos la significación estadística se consideró a partir de un valor $p < 0,05$.

Resultados

La actividad de la enzima glutatión peroxidasa (*Figura 1*) en los PAM con dieta rica en gliadina (PAMD) fue significativamente menor que en los PAMC, tanto en pulmón (** $p=0,000$) como en bazo (** $p=0,001$), corazón (** $p=0,001$) e hígado (** $p=0,006$). Mientras que, en riñón completo, en corteza y en médula de riñón no se obtuvieron diferencias significativas.

La actividad de la enzima glutatión reductasa (*Figura 2*) en los PAMD fue significativamente menor que en los PAMC en corazón (** $p=0,000$) e hígado (** $p=0,000$), mientras que fue superior en pulmón (* $p=0,022$). Por su parte, en bazo, riñón completo y corteza de este órgano no se observaron diferencias significativas. Además, en la médula de riñón se apreció una tendencia estadística ($p=0,087$).

Discusión

Los resultados del presente estudio muestran que una dieta rica en gliadina tiene un efecto negativo sobre las defensas antioxidantes de los PAM, concretamente sobre la actividad enzimática de la glutatión reductasa y la glutatión peroxidasa, aunque esto no se observa en todos los tejidos analiza-

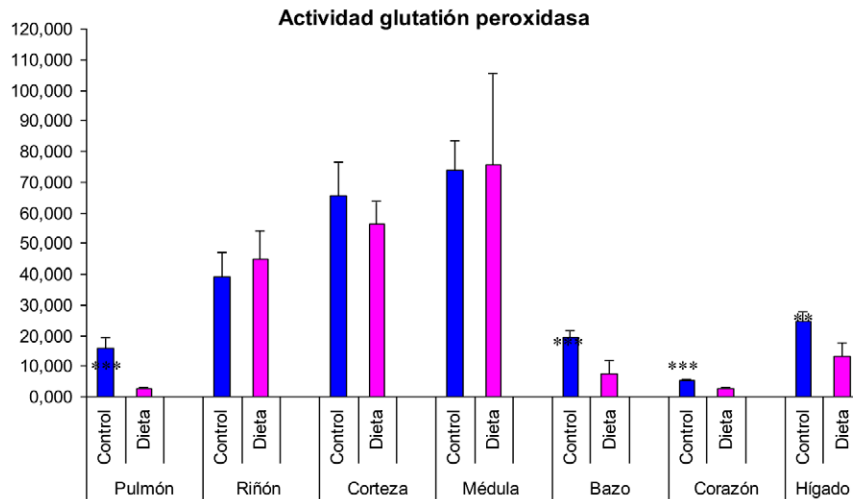


Figura 1. Actividad enzimática de glutatión peroxidasa en los órganos estudiados. *** $p \leq 0,001$, ** $p \leq 0,01$ representa valores significativos entre los PAM dieta y los PAM controles.

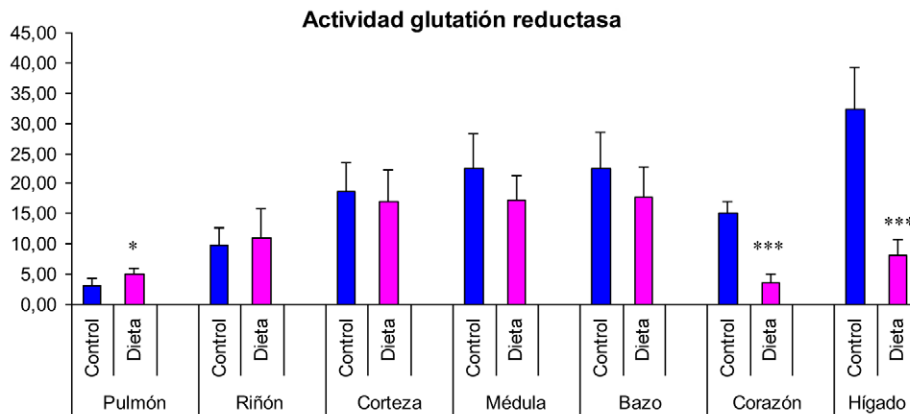


Figura 2. Actividad enzimática de glutatión reductasa en los órganos estudiados. *** $p \leq 0,001$, * $p \leq 0,05$ representa valores significativos entre los PAM dieta y los PAM controles.

dos. Esa menor actividad de las enzimas antioxidantes parece apuntar a que los PAM, que ya tienen *per se* un peor estado redox que los ratones adultos sin envejecimiento prematuro (De la Fuente y Miquel, 2009) pueden empeorar tal estado por la ingestión de dieta con gluten. Estos resultados obtenidos *in vivo* parecen reproducir los previamente obtenidos en células *in vitro* de PAM frente a la gliadina (Ferretti et al., 2012). Dado que un estado de oxidación e inflamación es típico de la celiaquía, los PAM parecen ser sensibles al desarrollo de esta enfermedad, pudiendo ser, por tanto, un buen modelo para el estudio de la enfermedad celíaca.

Conclusión

La dieta rica en gliadina disminuye las defensas antioxidantes de PAM, lo cual se corresponde con las alteraciones periféricas de individuos celíacos, siendo, por tanto, los

PAM un buen modelo para el estudio del desarrollo de esta enfermedad celíaca en adultos.

Referencias

- De la Fuente, M., & Miquel, J. (2009). An update of the oxidation-inflammation theory of aging: The involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Current Pharmaceutical Design*, 15, 3003-3026.
- De Palma, G., Vida, C., Santacruz, A., De Castro, N. M., De la Fuente, M., & Sanz, Y. (2014). Impaired responses to gliadin and gut microbes of immune cells from mice with altered stress-related behavior and premature immune senescence; *Journal of Neuroimmunology*, 276, 247-257. <http://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2014.08.007>
- Ferretti, G., Bacchetti, T., Masciangelo, S., & Saturni, L. (2012). Celiac disease, inflammation and oxidative damage: A

- nutrigenetic approach. *Nutrients*, 4(4), 243–257. <http://doi.org/10.3390/nu4040243>
- Lawrence, R. A., & Burk, R. F. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71(4), 952-958. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(76\)90747-6](https://doi.org/10.1016/0006-291X(76)90747-6)
- Massey, V., & Williams, C. H., Jr. (1965). On the reaction mechanism of yeast glutathione reductase. *The Journal of Biological Chemistry*, 240(11), 4470-4480.
- Vida, C., & De la Fuente, M. (2013). Stress-related behavioural responses, immunity and ageing in animal models. In J. A. Bosch, A. C. Phillips, & J. M. Lord (Eds.), *Immunosenescence: Psychosocial and behavioral determinants* (pp. 125-144). Nueva York, NY: Springer, Science+Business Media.