

ALTERAÇÕES INTESTINAIS INFLAMATÓRIAS DO ESTRESSE OXIDATIVO NA SÍNDROME DA HIPERTENSÃO PORTAL: AÇÃO DA GLUTAMINA

INFLAMMATORY BOWEL AND OXIDATIVE STRESS CHANGES IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF PORTAL HYPERTENSION: ACTION GLUTAMINE

Ariane Tainá da Silva^{1,2}, Rebeca Loureiro Rebouças^{3*}, Francielli Licks⁴, Henrique Fillmann⁵, Norma Anair Possa Marroni^{1,2}

¹Laboratory of Hepatology and Experimental Gastroenterology, Hospital das Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Porto Alegre/Brasil

²PPG em Ciências Biológicas: Fisiologia - UFRGS, Porto Alegre/Brasil

³Departamento de Medicina, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná - FEMPAR, Curitiba/Brasil

⁴Centro Universitário Metodista - IPA, Porto Alegre/Brasil

⁵Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Porto Alegre/Brasil

*Autor para correspondência: Rebeca Loureiro Rebouças

Endereço para correspondência: Rua Pe. Anchieta 2770, Bigorriho, Curitiba, PR, CEP 80730-000.

Tel: +55 (41) 3240-5500

Endereço eletrônico: rebecareboucas@gmail.com

RESUMO

A hipertensão portal (HP) é caracterizada por um aumento patológico da pressão portal, envolvendo distúrbios hemodinâmicos e redox. Para a HP, a suplementação com a glutamina (GLU) tem potencial terapêutico, principalmente por sua ação antioxidante. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação antioxidante da GLU sobre o estresse oxidativo e o papel do óxido nítrico (NO) no intestino no modelo de HP. Para isso, foi realizado um experimento que contou com 28 ratos *Wistar* machos divididos em grupos: o primeiro *Sham-operated* (SO), SO + GLU e o segundo da ligadura parcial da veia porta (LPVP), LPVP + GLU. Foram realizadas as seguintes análises: histológica, estresse, oxidativo e nitrosativo. Os resultados da investigação mostraram que houve estatisticamente o aumento significativo da pressão portal nos grupos com LPVP. Na avaliação histológica, houve alterações patológicas no grupo LPVP, enquanto no grupo LPVP + GLU a mucosa foi semelhante aos controles. Quanto aos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no intestino, houve uma elevação estatisticamente significativa no grupo LPVP em relação ao LPVP + GLU. Por outro lado ocorreu o declínio significativo na enzima superóxido dismutase e nos metabólitos do NO, ao comparar com os mesmos grupos. Conseqüentemente, a GLU foi eficaz na redução dos danos decorrentes do modelo de HP no intestino pelo LPVP e, portanto, pode ser sugerida como alternativa terapêutica na atenuação da HP.

Palavras-chaves: Hipertensão Portal; Glutamina; Ratos *Wistar*, Estresse Oxidativo, Óxido Nítrico.

ABSTRACT

A prior portal hypertension (PH) characteristic is a pathological increase in portal pressure involving hemodynamic and redox disorders. For PH, glutamine (GLU) supplementation has therapeutic potential, mainly due to its antioxidant action. Therefore, this study aimed to evaluate the

antioxidant action of GLU on oxidative stress and the role of nitric oxide on the intestine in the PH model. The experiment divided 24 male Wistar rats into groups: Sham-operated (SO), SO + GLU, partial portal vein ligation (PPVL), PPVL+GLU. Analyzes were performed: on histological, oxidative, and nitrosative stress. There was a statistically significant increase in portal pressure in the groups with PPVL. There were pathological alterations in the PPVL group in the histological evaluation, while in the PPVL +GLU group, the mucosa was like the controls. For the levels of TBA-RS in the intestine, statistically, the increase was significant in the PPVL group compared to PPVL+GLU. While there was a notable decrease in SOD enzyme and nitric oxide metabolites, comparing the same groups. Therefore, GLU effectively reduced the damage resulting from the PH model in the intestine by PPVL; thus, the study results suggested it as a therapeutic alternative for the attenuation of PH.

Keywords: Hypertension, Portal; Glutamine; Rats, Wistar, Oxidative Stress, Nitric Oxide.

INTRODUÇÃO

A veia porta hepática é um vaso formado pelas veias mesentéricas superiores e esplênicas, que move o sangue do baço e do trato gastrointestinal para o fígado, fornecendo 75% do sangue do fígado. A medida da pressão entre a veia porta e a veia cava inferior, definida como o gradiente de pressão venosa hepática, representa a de perfusão portal do fígado e, fisiologicamente, varia de 1 a 4 mm Hg (SIMONETTO et al., 2019)

Quando ocorre aumento anormal dessa pressão no sistema portal, com valores superiores a 5 mm Hg, é caracterizado como hipertensão portal (HP). Uma vez que valores maiores que 10 mm Hg se correlacionaram com manifestações clínicas significativas como ascite, varizes gastroesofágicas, esplenomegalia, trombocitopenia, encefalopatia portossistêmica e síndrome hepatopulmonar. (SIMONETTO et al., 2019). Essa patologia se deve ao aumento do fluxo sanguíneo portal e/ou resistência vascular. A resistência ao fluxo, na maioria das vezes, apresenta uma obstrução mecânica e um componente bioquímico devido à diminuição da síntese do óxido nítrico (NO), que resulta em contração reversível ativa do leito porto-hepático. A elevação gradual da pressão no sistema porta leva ao desenvolvimento de vasos colaterais, com o objetivo de redistribuir o fluxo sanguíneo do sistema venoso portal para uma circulação maior (BOSCH et al., 2008) e (TETANGCO; et al., 2016).

A repercussão da HP em nível gastrointestinal, explicada principalmente pela vasodilatação, angiogênese e estase esplâncnica prolongada, atinge toda a extensão desse trato, inclusive o intestino delgado. Desse modo, pode gerar prejuízo funcional, decorrente de alteração eletrofisiológica por redução da atividade mioelétrica, possibilitando a evolução para íleo paralítico e favorecendo a translocação bacteriana. Além disso, há a chance de apresentar manifestações enterorrágicas, por sangramento, ao nível da lâmina própria dos vasos varicosos que se rompem (BOSCH et al., 2008) e (FERRAZ et al., 2011).

O sangramento digestivo está presente em 80-90% dos pacientes com HP, isso deve-se por se tratar de uma manifestação clínica associada à elevada morbimortalidade, essa alta prevalência, indica e necessidade de melhor elucidar os mecanismos fisiopatológicos da HP. Com o intuito de tentar estabelecer estratégias terapêuticas, que minimizem as consequências, decorrentes dessa alteração hemodinâmica (MAJID et al., 2009).

Os modelos de pesquisa com animais demonstraram ser eficazes na modelagem da progressão da doença e na decifração de vias moleculares específicas e, portanto, contribuíram para diferentes estratégias terapêuticas em distintas etiologias da enfermidade. O modelo experimental de ligadura parcial da veia porta (LPVP) é o mais usado para estudar HP pré-hepática. Este modelo foi desenvolvido por Sikuler et al (KÖNIGSHOFER et al., 2019) e (SIKULER et al., 1985).

Alguns fatores, entretanto, já foram identificados como desencadeadores e responsáveis pela progressão da HP, como o estresse oxidativo, que está relacionado à evolução da circulação colateral. Portanto, a terapia antioxidante tornou-se um alvo no desenvolvimento terapêutico (BOYER-DIAZ et al., 2020).

Com isso, aminoácidos como a glutamina (GLU) têm sido utilizados como agentes antioxidantes, que têm mostrado resultados promissores na atenuação dos processos inflamatórios intestinais e na ação sobre os radicais livres de oxigênio (GUIZONI et al., 2020) e (ZABOT et al., 2017).

Em enfermidades que apresentam um componente inflamatório, como a HP, os radicais livres e outros oxidantes são determinantes críticos das vias de sinalização celular. O próprio organismo dispõe de meios para regular o processo de oxidação-redução para manter a homeostase, uma das enzimas que desempenha o papel de antioxidante, é a superóxido dismutase (SOD), que desempenha um papel patogênico essencial em doenças inflamatórias, não apenas catalisando a conversão de superóxido em peróxido, de hidrogênio e oxigênio, mas também afetando as respostas imunológicas. As enfermidades que apresentam um componente inflamatório, como a HP, os radicais livres e outros oxidantes são determinantes críticos das vias de sinalização celular (NGUYEN et al., 2020).

As enzimas SOD controlam os níveis de uma variedade de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio, limitando assim a toxicidade potencial dessas moléculas e controlando amplos aspectos da vida celular (WANG et al., 2018).

No entanto, existem outros mecanismos envolvidos, como a regulação da vasorreatividade pelo óxido nítrico, que desempenha um papel importante na fisiopatologia da HP, uma vez que foi encontrada redução na atividade da NO endotelial hepática sintase (eNOS), juntamente com o aumento do NO, derivado da eNOS geradas nas circulações esplâncnica e sistêmica na evolução da doença (FIORUCCI; DISTRUTTI, 2016).

Assim, o objetivo geral deste estudo foi avaliar a ação antioxidante da GLU, sobre o estresse oxidativo, e o papel do NO no intestino em modelo de HP, submetido ao modelo experimental de LPVP e no Sham-operated (SO). Os objetivos específicos foram analisar entre os diferentes grupos experimentais: a pressão portal; a lipoperoxidação intestinal pela técnica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); a atividade da enzima antioxidante SOD intestinal; os metabólitos do NO (nitritos / nitratos) em intestino; e as alterações histológicas entéricas.

MATERIAIS E MÉTODOS

ÉTICA

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com a legislação brasileira vigente para a prática de pesquisa científica com animais (Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, 2013, Diretrizes

brasileiras para o cuidado e uso de animais para fins científicos e educacionais e diretrizes CONCEA 2013 para a prática de eutanásia) e de acordo com a Declaração de Helsinque revisada em 2013

ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados vinte e oito ratos *Wistar* machos pesando entre 200 e 300 gramas, adquiridos de fornecedores cadastrados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os animais foram divididos em 4 grupos de 7. Durante o experimento, os ratos foram mantidos em grupos de 3 ou 4 animais por caixa, essas por sua vez, eram plásticas com medidas de 47 cm × 34 cm × 18 cm e forradas com madeira, além disso, permaneceram em um ciclo claro / escuro de 12 horas (luz de 7h00 às 19h00), temperatura de 22 ± 4 ° C. Alimentados com água e ração são fornecidas à vontade.

Por último, os ratos foram alocados aleatoriamente nos seguintes grupos: (1) *Sham-operated* (SO) + Veículo (NaCl); (2) SO + GLU; (3) LPVP + NaCl; (4) LPVP + GLU.

DESENVOLVIMENTO DO MODELO DE HP POR LPVP

Os animais foram sedados com anestésico de indução (4-5%) e manutenção (2-3%) com isoflurano diluído em O₂ 100% (fluxo de O₂ = 0,5L / min). Após receber a anestesia, foi realizada uma laparotomia e o intestino foi retraído suavemente com uma compressa de gaze embebida em solução salina. No grupo SO, foi efetuada apenas a manipulação da veia porta, enquanto nos demais grupos, a veia foi vinculada à indução experimental de HP. A agulha 20G foi colocada paralela à veia porta e ambas foram amarradas com fio de seda 3.0. Em seguida, a agulha foi retirada, deixando o vaso parcialmente obstruído para a indução da HP experimental. O modelo experimental utilizado neste estudo foi descrito pela primeira vez por Sikuler et al. (1985).

ADMINISTRAÇÃO DE VEÍCULOS E GLU

Foram permitidos sete dias para o estabelecimento da colonopatia hipertensiva portal antes do início do tratamento. GLU na dose de 25mg / Kg, o qual foi dissolvido em 0,6 mL de NaCl a 0,9% foi administrado por via intraperitoneal em concordância com estudos anteriores de Marques et al. (2011) e Zobot et al. (2017). Os animais controles receberam o veículo (solução salina - NaCl 0,9%) em um volume de 0,6 mL, por via intraperitoneal, pelo mesmo período. O tratamento foi continuado por 7 dias, completando assim toda a etapa experimental de 15 dias.

MEDIÇÃO DA PRESSÃO VENOSA PORTAL

No 15º dia de pós-operatório, os animais foram novamente sedados com anestesia de indução (4-5%) e manutenção (2-3%) com isoflurano diluído em O₂ 100% (fluxo de O₂ = 0,5L / min). Novamente, uma incisão mediana foi feita no abdômen (na linha alba), e posteriormente a veia mesentérica foi localizada, onde a medição da pressão portal foi feita, com um cateter calibre 21G inserido na veia mesentérica, conectado a um polígrafo que registrou a pressão no sistema portal (Blood Pressure XDCR, Kentc Scientific, Litchfield, CT, EUA)(MARQUES et al., 2011). Foi necessário um grupo piloto composto por 5 animais para a adequação do equipamento de avaliação de pressão.

MORTE ANIMAL E OBTENÇÃO DE AMOSTRAS

Após os procedimentos de medição, o intestino grosso foi coletado, para posterior análise.

1ª) Um pequeno fragmento das amostras foi retirado e imerso em formol a 10%, para posterior análise histológica;

2ª) O restante foi pesado e congelado a -80°C , para análise de lipoperoxidação, enzimas antioxidantes, nitritos e nitratos e milliplex.

AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS

Determinação do estresse oxidativo

O estresse oxidativo do intestino grosso foi avaliado medindo a concentração de TBARS. Resumidamente, o tecido congelado foi homogeneizado em 1,15% KCl (5 mL por g de tecido), 100 mM em isopropanol de fluoreto de fenil metil sulfonina (10 μL por mL de KCl adicionado) e centrifugado a 10 minutos a 3000 rpm (1110 xg) (LLESUY *et al.*, 1985). Para a análise de TBARS, a quantidade de produtos aldeídicos, gerados pela peroxidação lipídica, foi medida pela reação com ácido tiobarbitúrico utilizando 0,25 mL da proteína homogeneizada por amostra (BRADFORD, 1976).

As amostras foram incubadas a 100°C por 15 minutos após a adição de 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,67% em ácido tricloroacético 15% e, a seguir, centrifugadas por 10 min a 3000 rpm (1110 x g). A absorbância espectrofotométrica foi determinada no sobrenadante a um comprimento de onda de 535 nm. A concentração de TBARS é expressa em nmoles / mg de proteína (BUEGE; AUST, 1978).

Determinação da atividade da enzima SOD

A SOD citosólica foi avaliada espectrofotometricamente pela taxa de auto-oxidação da adrenalina (50 mM glicina-NaOH, pH 9,6) com 50 mL de adrenalina (60 mM, pH 2,0), correspondendo a 100% da reação. Que é progressivamente inibido por quantidades de SOD no homogenato. A atividade enzimática será expressa em unidades de SOD / g de tecido (quantidade de SOD que inibe em 50% a velocidade de redução da adrenalina) (MISRA; FRIDOVICH, 1972).

Medidas de nitrito e nitrato

A produção de NO no tecido intestinal foi medida indiretamente pela estratégia de detecção colorimétrica de radicais hidroxila com base na reação de Griess. Para realizar a técnica, foram necessários 500 mL de amostra, 100 mL de NADPH (0,2 mM), 70 mL de tampão Tris 1M, pH 7,5, 230 mL de uma mistura formada por glicose 6-fosfato (50 mM) e glicose 6-fosfato desidrogenase (100 U / mL), 100 mL de nitrato redutase (10 / mL), esta mistura foi incubada em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, foram utilizados 750 mL dessa mistura e foram adicionados 750 mL do reagente de Griess, incubando novamente em temperatura ambiente por 10 minutos. A leitura foi realizada em 550 nm e uma curva padrão foi feita para a determinação de nitritos e nitratos (MIURA *et al.*, 2003).

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO INTESTINO POR HEMATOXILINA E EOSINA

Para dissecação anatômica, as amostras de intestino foram colocadas em formalina a 10%. Na etapa seguinte, os blocos de parafina foram fixados no Micrótomo (Leitz®1512) e foram feitos cortes com 3 microns (3 μ). Na fase de coloração, as lâminas foram imersas em corantes de hematoxilina-eosina por 5 minutos cada, intermediado por banho de água corrente. Na fase de desidratação, as estruturas passaram por três recipientes com álcool absoluto e dois com xilol. A lamínula foi colocada na lâmina usando Balsam Canada ou Entellan, completando assim o processo de preparação.

As lâminas foram analisadas em microscópio binocular Nikon Labophot em diferentes aumentos, no serviço de patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por patologista cego para o experimento.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

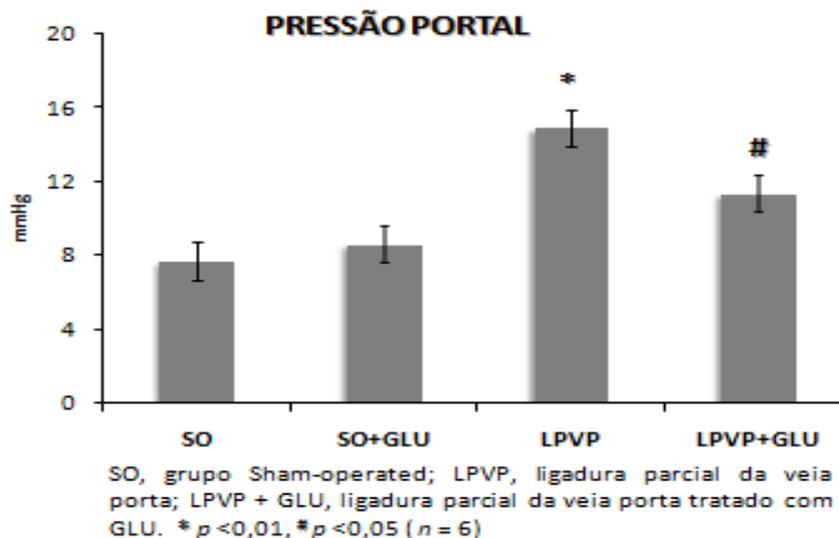
A partir dos dados coletados, foram calculadas as médias e desvios-padrão de cada grupo utilizando para a análise estatística o GrapPad Instat versão 3.0. O teste usado para a análise de variância dos resultados foi o ONEWAY ANOVA, seguido do exame de Student-Newman-Keuls para dados paramétricos. Portanto, os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando obtivemos nível de significância de pelo menos 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

VERIFICAÇÃO DE PRESSÃO PORTAL

Como pode ser observado na Figura 01, houve um aumento cativo estatisticamente significativo na pressão portal dos grupos de LPVP em relação aos demais grupos experimentais. E foi observado que ocorreu uma diminuição significativa nos valores de pressão portal em animais do grupo LPVP + GLU.

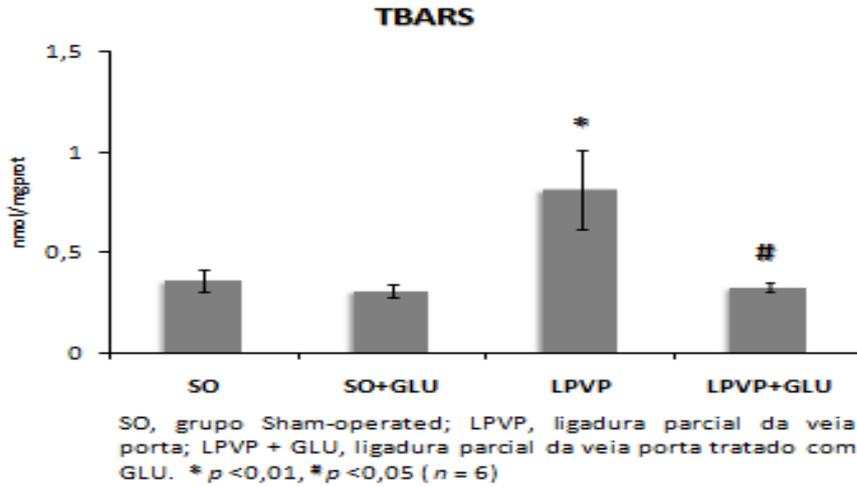
Figura 01 - Efeito da administração de GLU nos níveis de pressão portal nos grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média \pm desvio padrão, $n = 7$ animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo LPVP em relação aos demais grupos ($P < 0,01$). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP ($P < 0,05$).



MEDIÇÃO DE TBARS

Os valores de lipoperoxidação intestinal (Figura 02) apresentaram aumento estatisticamente significativo no grupo LPVP, com $P < 0,01$ em relação a todos os outros grupos (SO, SO + GLU e LPVP + GLU). Os animais LPVP + GLU apresentaram diminuição significativa quando comparados ao grupo LPVP.

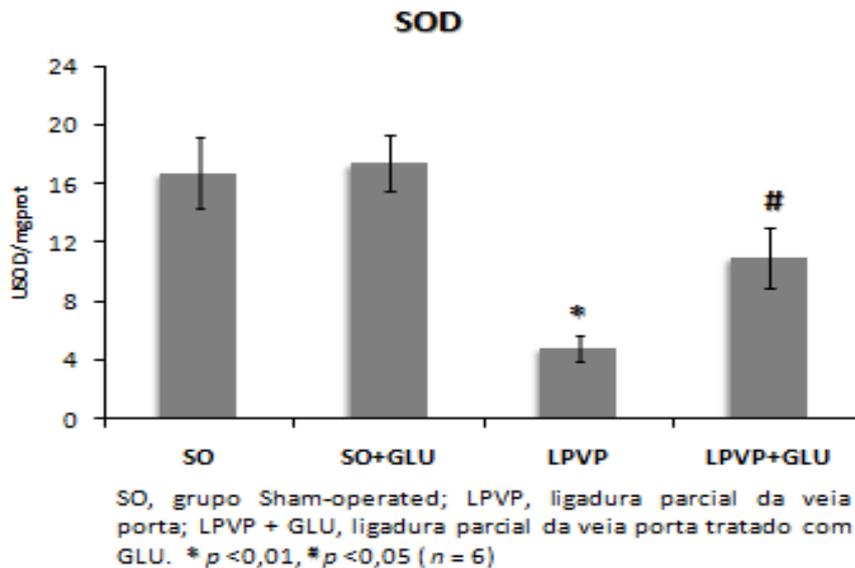
Figura 02 - Efeito da administração de GLU nos níveis de TBARS em grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média ± erro padrão, n = 7 animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo LPVP em relação aos demais grupos (P <0,01). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP (P <0,05)



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SOD

A Figura 03 mostra os resultados da atividade da enzima SOD no homogenato intestinal dos animais nos diferentes grupos, que revelaram uma diminuição significativa no grupo LPVP em relação aos demais.

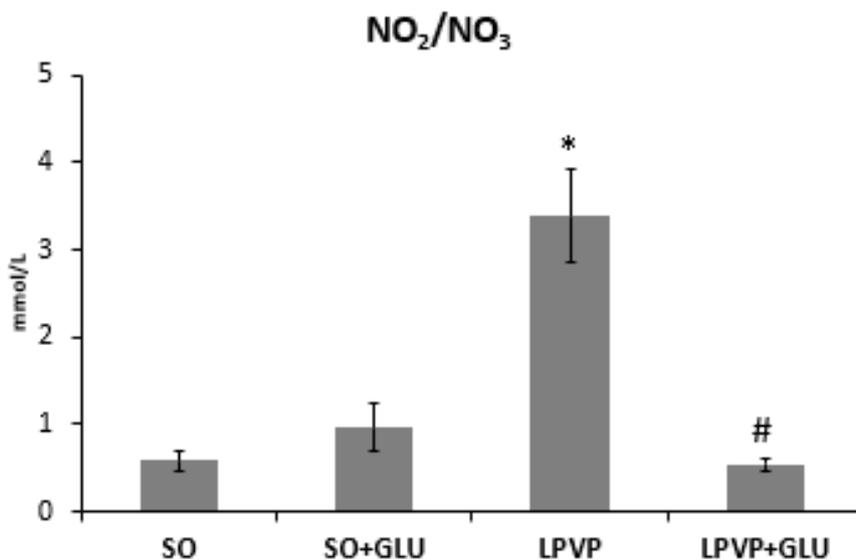
Figura 03 - Efeito da administração de GLU nos níveis de SOD em grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média ± erro padrão, n = 7 animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo VPPB em relação aos demais grupos (P <0,01). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP (P <0,05)



AVALIAÇÃO DE METABÓLITOS DE NO

Na Figura 04, observamos os valores referentes aos nitritos e nitratos no homogenato do intestino de animais dos diferentes grupos experimentais. Desse modo, foi perceptível um aumento significativo das taxas metabólicas nos grupos LPVP em relação aos grupos SO, SO + GLU. Em contrapartida, houve uma diminuição significativa quando administrado GLU, no grupo LPVP + GLU.

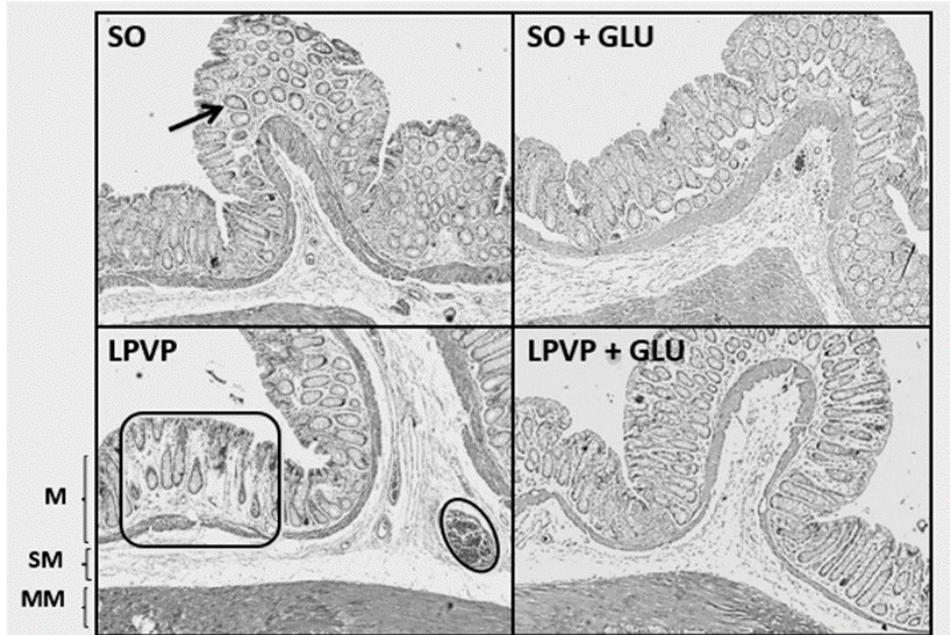
Figura 04 - Efeito da administração de GLU nos níveis de NO nos grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média \pm erro padrão, n = 7 animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo VPPB em relação aos demais grupos (P <0,01). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP (P <0,05)



HISTOLOGIA INTESTINAL

A fotomicrografia do intestino dos animais (Figura 05) dos grupos controle (SO) e SO + GLU mostra o intestino com padrão normal apresentando criptas, células caliciformes, mucosa normal e submucosa sem edema. No grupo (LPVP), mostra alterações na mucosa, com diminuição das células caliciformes, dilatação dos vasos sanguíneos e edema. Na fotomicrografia do intestino dos animais do grupo LPVP tratado com GLU (LPVP + GLU), observa-se redução do edema, desaparecimento dos vasos sanguíneos dilatados e reestruturação da mucosa, à semelhança dos grupos controle.

Figura 05 - Observa-se a estrutura microscópica do intestino dos animais SO, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU.



DISCUSSÃO

O estudo da colopatia devido à HP é desafiador porque não existe um sistema de classificação universalmente aceito para classificar a gravidade das anormalidades da mucosa (URRUNAGA; ROCKEY, 2014). No presente estudo, utilizamos o modelo LPVP para induzir HP pré-hepática não cirrótica e foi realizada suplementação com GLU. O resultado obtido demonstrou que o GLU desempenha um papel antioxidante e possivelmente antiinflamatório no cólon.

Os resultados da pressão portal demonstraram a eficácia do modelo experimental em aumentar a pressão no sistema venoso. O tratamento com a GLU, observamos que houve redução do valor da pressão portal, uma vez que o grupo LPVP apresentou pressão elevada significativa em relação aos demais grupos. Além disso, é importante ressaltar que a GLU, no grupo controle, não tem efeito sobre a pressão na veia mesentérica dos animais. Os resultados alcançados estão de acordo com os obtidos por Marques *et al* (MARQUES *et al.*, 2011) quando utilizou o mesmo modelo experimental.

Em relação à lipoperoxidação, o estudo de Zobot *et al.* (ZABOT *et al.*, 2017), na HP, em modelo semelhante ao presente estudo, constatou-se aumento da lipoperoxidação nos animais submetidos ao procedimento de ligadura. Isso já era visto desde estudos mais antigos, como o realizado por Schimpl *et al.* (SCHIMPL *et al.*, 1996), em que a GLU reduziu a complicação da translocação bacteriana, bem como as atividades do malondialdeído (MDA) e da mieloperoxidase (MPO) da mucosa ileal. Mesmo usando outros parâmetros de verificação bioquímica, chegamos a como mudar o uso de GLU. Eles mediram a atividade de MDA e MPO na mucosa intestinal como um indicador de peroxidação lipídica.

Quanto aos resultados da atividade da enzima SOD no intestino, o estudo de Marques *et al.* (MARQUES *et al.*, 2011) também mostrou uma redução importante na atividade SOD gástrica no grupo

LPVP. A enzima SOD é a única que interage especificamente com o superóxido e, portanto, controla os níveis de ROS e espécies reativas de nitrogênio e, quando seus níveis são drasticamente alterados, causam efeitos nocivos notáveis (WANG *et al.*, 2018), como aconteceu no Grupo LPVP.

Quanto aos parâmetros de estresse nitrosativo, os elevados valores de nitrito e nitrato estão relacionados à produção de citocinas, perda da integridade da barreira intestinal e processo de translocação bacteriana. A morte dessas bactérias resulta na liberação de toxinas e estimula células do sistema imune inato a produzir citocinas, incluindo TNF- α e estimula o aumento da produção de NO, (SHENODA; BOSELLI, 2019) este aumento pode ser visto indiretamente, neste estudo, devido ao aumento de nitrito e nitrato. Atenuando esse mecanismo, a suplementação com GLU foi eficaz, determinando menores valores de compostos nitrogenados. Corroborando esse resultado, o estudo de Zobot *et al.* (ZABOT *et al.*, 2017) mostraram, neste mesmo modelo de HP, redução da atividade da iNOS e indução da iNOS pelo uso de GLU. E isso resulta da suplementação com aminoácido, não se restringindo ao GLU, como também foi observado com o conjugado de taurina para promover efeitos vasodilatadores por meio da modulação do NO derivado do endotélio intestinal (GUIZONI *et al.*, 2020).

Com relação aos resultados histopatológicos, foi possível perceber as alterações ocasionadas pelo LPVP, confirmando o sucesso da indução, além da percepção quanto reestruturação da mucosa devido ao uso de GLU. Essas alterações histopatológicas estão de acordo com outros estudos, sendo a ectasia capilar da mucosa colônica a principal alteração patológica, mas foi encontrado em biópsias de cólon de pacientes com HP, edema, aumento da infiltração de células mononucleares e proliferação fibromuscular na lâmina própria (URRUNAGA; ROCKEY, 2014).

CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos nos valores da pressão portal, concluímos que o grupo LPVP demonstrou um aumento significativo da pressão no sistema portal, podendo a GLU reduzir os valores neste modelo experimental. Ao avaliarmos a lipoperoxidação no grupo LPVP, pela técnica TBARS, concluímos que houve um aumento, sendo que o GLU foi eficaz na redução desse dano. A enzima antioxidante SOD apresentou diminuição significativa nos animais do grupo LPVP em relação aos demais. Enquanto no grupo LPVP + GLU a atividade dessa enzima foi restaurada. Ao avaliar metabólitos de NO, nitritos e nitratos, observamos um aumento significativo nos animais LPVP. O GLU foi capaz de reduzir a biodisponibilidade do NO. Na análise histológica, o grupo LPVP apresentou desarranjo da mucosa intestinal, com aumento do edema na submucosa. Contudo, o GLU foi capaz de restaurar a histologia semelhante aos controles. Com base nos resultados alcançados, descobrimos que o GLU minimizou os danos à mucosa intestinal, avaliados pela histologia, acompanhados por uma melhora nos parâmetros de estresse oxidativo (avaliados por TBARS e SOD) e uma redução nos metabólitos de NO. Assim, concluímos e sugerimos que a GLU foi eficaz na redução dos danos decorrentes do modelo no intestino e, portanto, pode ser proposta como alternativa terapêutica na atenuação desta doença.

REFERÊNCIAS

BOSCH, J. *et al.* The management of portal hypertension: Rational basis, available treatments and future options. **Journal of Hepatology**, [s. l.], vol. 48, no. SUPPL. 1, p. 68–92, 2008. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.01.021>

- BOYER-DIAZ, Z. et al. Oxidative stress in chronic liver disease and portal hypertension: Potential of dha as nutraceutical. **Nutrients**, [s. l.], vol. 12, no. 9, p. 1–13, 2020. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu12092627>
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], vol. 72, no. 1–2, p. 248–254, 1976. Available at: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Biomembranes - Part C: Biological Oxidations. **Methods in Enzymology**, [s. l.], vol. 52, p. 302–310, 1978. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687978520326>
- FERRAZ, A. A. B. et al. Atividade mioelétrica do intestino delgado de cães submetidos à oclusão parcial da veia porta. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, [s. l.], vol. 24, no. 1, p. 20–25, 2011. Available at: <https://doi.org/10.1590/s0102-67202011000100005>
- FIORUCCI, S.; DISTRUTTI, E.. Targeting the transsulfuration-H₂S pathway by FXR and GPBAR1 ligands in the treatment of portal hypertension. **Pharmacological Research**, [s. l.], vol. 111, p. 749–756, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.07.040>
- GUIZONI, D.M. et al. Modulation of endothelium-derived nitric oxide production and activity by taurine and taurine-conjugated bile acids. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, [s. l.], vol. 94, p. 48–53, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.10.008>
- KÖNIGSHOFER, P. et al. Animal models of portal hypertension. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, [s. l.], vol. 1865, no. 5, p. 1019–1030, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.07.018>
- LLESUY, S. F. et al. Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. **Tumori**, [s. l.], vol. 71, no. 3, p. 241–249, 1985. Available at: <https://doi.org/10.1177/0300089168507100305>
- MAJID, S. et al. Factors determining the clinical outcome of acute variceal bleed in cirrhotic patients. **Indian Journal of Gastroenterology**, [s. l.], vol. 28, no. 3, p. 93–95, 2009. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12664-009-0034-z>
- MARQUES, C. et al. Glutamine prevents gastric oxidative stress in an animal model of portal hypertension gastropathy. **Annals of Hepatology**, [s. l.], vol. 10, no. 4, p. 531–539, 2011. Available at: [https://doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)31522-4](https://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)31522-4)
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], vol. 247, no. 10, p. 3170–3175, 1972. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)45228-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)45228-9)
- MIURA, T.; MURAOKA, S.; FUJIMOTO, Y. Inactivation of creatine kinase induced by quercetin with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide: Pro-oxidative and anti-oxidative actions of quercetin. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], vol. 41, no. 6, p. 759–765, 2003. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(03\)00005-X](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(03)00005-X)
- NGUYEN, N. H.; TRAN, G. B.; NGUYEN, C. T.. Anti-oxidative effects of superoxide dismutase 3 on inflammatory diseases. **Journal of Molecular Medicine**, [s. l.], vol. 98, no. 1, p. 59–69, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00109-019-01845-2>

SCHIMPL, G. et al. Allopurinol and glutamine attenuate bacterial translocation in chronic portal hypertensive and common bile duct ligated growing rats. **Gut**, [s. l.], vol. 39, no. 1, p. 48–53, 1996. Available at: <https://doi.org/10.1136/gut.39.1.48>

SHENODA, B.; BOSELLI, J.. Vascular syndromes in liver cirrhosis. **Clinical Journal of Gastroenterology**, [s. l.], vol. 12, no. 5, p. 387–397, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12328-019-00956-0>

SIKULER, E.; KRAVETZ, D.; GROSZMANN, R. J. Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s. l.], vol. 11, no. 6, 1985. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1985.248.6.g618>

SIMONETTO, D. A. et al. Portal Hypertension and Related Complications: Diagnosis and Management. **Mayo Clinic Proceedings**, [s. l.], vol. 94, no. 4, p. 714–726, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.12.020>

TETANGCO, E. P. et al. Portal hypertension: Etiology, evaluation, and management. **Disease-a-Month**, [s. l.], vol. 62, no. 12, p. 411–426, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2016.08.001>

URRUNAGA, N. H.; ROCKEY, D. C. Portal hypertensive gastropathy and colopathy. **Clinics in Liver Disease**, [s. l.], vol. 18, no. 2, p. 389–406, 2014. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cld.2014.01.008>

WANG, Y. et al. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. **Journal of Cell Biology**, [s. l.], vol. 217, no. 6, p. 1915–1928, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1083/jcb.201708007>

ZABOT, G. P. et al. Glutamine prevents oxidative stress in a model of portal hypertension. **World Journal of Gastroenterology**, [s. l.], vol. 23, no. 25, p. 4529–4537, 2017. Available at: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i25.4529>