

Efeito *in vitro* de altas concentrações de ácidos graxos sobre a barreira epitelial intestinal em células Caco-2.

Leandro Pereira Canuto (IC), Ricardo Beltrame de Oliveira (PG), Carla Beatriz Collares-Buzato (PQ)

Resumo

O presente estudo teve como objetivo investigar o efeito *in vitro* de altas concentrações de ácidos graxos sobre a barreira epitelial intestinal, em células Caco-2. Em conjunto, os dados obtidos sugerem um reforço da barreira epitelial nas células tratadas com ácido palmítico e uma redução dessa barreira em nível molecular, nas células tratadas com ácido oleico.

Palavras Chave: Junção de Oclusão, Ácidos graxos, Barreira Epitelial.

Introdução

Estudos recentes têm demonstrado um possível papel da barreira epitelial intestinal no desenvolvimento da diabetes melito, porém a maior parte dos dados presentes na literatura, referem-se à diabetes tipo 1 (1). As dietas ricas em lipídeos estão diretamente associadas com o desenvolvimento da Diabetes melito tipo 2 (2), sendo que o ácido oleico e o ácido palmítico constituem um dos principais componentes lipídicos da dieta hiperlipídica utilizada para induzir essa doença em modelos experimentais (3), estando associados à dislipidemia diabética (4). Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo investigar o efeito *in vitro* de ácidos graxos (ácido palmítico e ácido oleico), nas concentrações de 200 μ M e 400 μ M sobre a barreira epitelial intestinal, mediadas pelas junções de oclusão (JO) em células Caco-2, linhagem derivada de adenocarcinoma de col-retal humano.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos mostraram redução significativa da resistência elétrica transepitelial (Rt) nas monocamadas de células Caco-2 tratadas com 400 μ M de ácido palmítico, porém sem alteração do fluxo transepitelial (Ft) de *phenol red*. A análise molecular de duas das proteínas constituintes da JO, por imunocitoquímica, mostrou aumento no conteúdo juncional de Claudina-1 e Ocludina, nas células submetidas a 400 μ M de ácido palmítico. Embora tenha sido observada uma redução significativa da Rt, nas monocamadas tratadas com o ácido palmítico, essa medida não é específica da via paracelular, podendo indicar uma alteração da permeabilidade da membrana plasmática nas células tratadas, com um aumento compensatório do conteúdo juncional de Claudina-1 e Ocludina.

Nas monocamadas tratadas com ácido oleico não foi observado alteração da Rt, porém houve um aumento significativo do Ft de *phenol red*, nas monocamadas tratadas com 200 μ M. Esses resultados foram acompanhados por uma diminuição significativa do conteúdo juncional de Claudina-1 (na concentração de 400 μ M) e Ocludina. As alterações moleculares observadas podem indicar um comprometimento da estrutura das JOs, induzido pelo tratamento; no entanto como essas alterações não foram muito severas, não houve diferenças detectáveis na Rt entre as monocamadas dos grupos tratados e controle.

Conclusões

Em conjunto, os dados obtidos sugerem uma ação antagonista dos ácidos graxos testados sobre a função *in vitro* de barreira epitelial intestinal: um reforço dessa barreira com ácido palmítico, que pode ser compensatório a uma possível alteração na permeabilidade da membrana plasmática das células e uma redução dessa barreira em nível molecular, nas células tratadas com ácido oleico.

Agradecimentos

FAPESP (Procs. n° 2013/ 15676-0 e 2013/ 16662).

¹ Sapone, A.; Magistris, L.; Pietzak, M.; Clemente, M.G.; Tripathi, A.; Cucca, F.; Lampis, R.; Krysak, D.; Carteni, M.; Generoso, M.; Iafusco, D.; Prisco, F.; Laghi, F.; Riegler, G.; Carratu, R.; Counts, D.; Fasano, A. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes*. **2006**, *55*, 1443-1449.

² McGarry, J.D. Dysregulation of Fatty Acid Metabolism in the Etiology of Type 2 Diabetes. *Diabetes*. **2002**, *51*, 7-18

³ Fonseca, H.; Gutierrez, L.E.. Composição em ácidos graxos de óleos vegetais e gorduras animais. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*. **2002**, *31*, 485-490.

⁴ Wu, L.; Parhofer, K.G.. Diabetic dyslipidemia. *Metabolism*. **2014**, *63*, 1469-1479.