



AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS QUANTITATIVOS DOS ÁCINOS DA GLÂNDULA SALIVAR PARÓTIDA DE RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM RESVERATROL

Erick Yamamoto (PIBIC/CNPq/Uem), Cassiano Christmann, Eder Paulo Belato Alves, Evandro José Beraldi, Nilza Cristina Buttow, Helaine Maruska Vieira Silva, Angela Maria Pereira Alves (Orientador), e-mail: angela.01.com@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá/ Departamento de Ciências Morfológicas /Maringá, PR.

Ciências Biológicas e Morfologia

Palavras-chave: glândula parótida, resveratrol, diabetes mellitus

Resumo:

O estresse oxidativo que é intensificado pelo quadro de diabetes em animais e humanos pode estar atrelado às desorganizações metabólicas e funcionais significativas nas glândulas salivares. Antioxidantes como o resveratrol que reduzem o estresse oxidativo podem ter um papel crucial no tratamento das complicações do diabetes. Sendo assim, a densidade acinar média da glândula salivar parótida de ratos foi analisada nos grupos: C (normoglicêmico); CR (normoglicêmico tratado com RSV); D (diabético) e DR (diabético suplementado com RSV). Os ratos dos grupos CR e DR foram tratados com resveratrol (via gavagem), na dose de 0,5 mg/Kg de peso corporal, diariamente até o final do experimento. Os ratos do grupo D foram os que apresentaram menor densidade acinar. Observou-se preservação da densidade dos ácinos ($p < 0.05$) nos animais do grupo DR em relação ao grupo D. O tratamento com RSV amenizou a perda de ácinos da glândula parótida de ratos diabéticos.

Introdução

No estado diabético, a glândula salivar parótida pode apresentar modificações morfofisiológicas decorrentes do acúmulo de lipídeos no parênquima, mudanças na concentração proteica da saliva e degeneração celular extensa com substituição de células parenquimais por tecido conjuntivo fibroso.

As modificações estruturais e funcionais observadas em glândulas salivares de diabéticos estão em parte, relacionadas com o aumento do estresse



oxidativo e a redução nos níveis de antioxidante do organismo. Espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas pelas glândulas salivares em situações fisiológicas, na infecção microbiana e em resposta à hiperglicemia causada pelo diabetes mellitus (DM).

Substâncias com atividade antioxidante como o resveratrol (RSV) podem ser de grande valia como adjuvante no tratamento das complicações crônicas do DM.

O RSV (3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbene) é um polifenol encontrado em altas concentrações na casca e sementes de uvas e no vinho tinto. Diversos estudos reportam que o RSV possui propriedades farmacológicas que o faz atuar de forma benéfica sobre os sistemas biológicos. Foram relatadas atividades antimutagênicas, cardioprotetoras, antiplaquetárias, anticancerígenas e anti-inflamatórias (KUMAR et al., 2007). Este trabalho objetiva avaliar os efeitos do tratamento com resveratrol sobre os ácinos da glândula salivar parótida de ratos com DM induzido por estreptozotocina, através de análise quantitativa.

Materiais e métodos

Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, com 90 dias de idade, os quais foram distribuídos em quatro grupos: C (normoglicêmico); CR (normoglicêmico tratado com RSV); D (diabético) e DR (diabético tratado com RSV).

A indução do diabetes foi realizada nos ratos dos grupos D e DR pela administração endovenosa de estreptozotocina na dosagem de 35 mg/Kg de peso corporal. A partir do quarto dia de indução do diabetes, os animais dos grupos CR e DR receberam diariamente resveratrol na dosagem de 10 mg/Kg de peso corporal, via gavagem.

Após 120 dias de experimento os ratos foram sacrificados, sendo previamente pesados e anestesiados com uma dose de 40 mg kg⁻¹ de peso corporal de tiopental. As parótidas extraídas foram lavadas em solução salina (NaCl 0,9%) e imediatamente transferidas para solução de formalina 10% por um período de 12 horas. Sequencialmente, as glândulas passaram por lavagem em água corrente e armazenamento em álcool 70%. A seguir, as peças foram submetidas à rotina histológica. Os cortes com 6µm de espessura foram submetidos à coloração em hematoxilina-eosina (HE). As imagens dos ácinos foram capturadas por câmara de alta resolução acoplada ao microscópio Olympus BX40, e transmitidas para microcomputador e gravadas em compact disc. Por meio do programa de análise de imagens Image-Pro-Plus, foram quantificados todos os ácinos de 20 imagens capturadas por animal em aumento de 20X, com a finalidade de



delinear a densidade de ácinos. Os resultados são expressos como ácinos/mm². Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação dos aspectos quantitativos dos ácinos glandulares entre os grupos. O nível de significância foi de 5%.

Resultados e Discussão

A análise quantitativa dos ácinos glandulares demonstrou diminuição da densidade acinar ($p < 0.05$) nos ratos do grupo D ($1250 \pm 7,5$) em relação aos do grupo C ($1315 \pm 18,5$). A diminuição na densidade acinar das glândulas salivares de animais com diabetes crônico é um achado frequente nesta patologia. A formação de produtos de glicosilação avançadas (AGEs), a peroxidação lipídica e o estresse oxidativo estão elencados como fatores que incidem nesta redução (VINCENT et al., 2004). Deste modo, as células acinares ao sofrerem intensa ação dos radicais livres, exibem debilitada capacidade em neutralizá-los e eliminá-los, podendo ocorrer danos em diversos componentes intracelulares, tais como DNA, lipídeos e proteínas, culminando em morte celular por necrose ou apoptose (OBROSOVA et al., 2002).

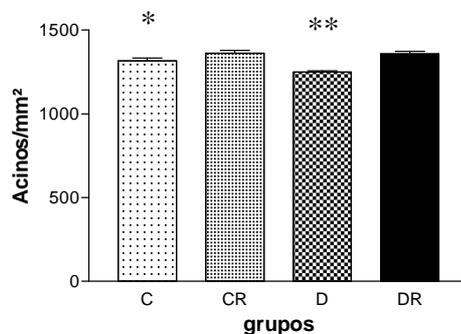


Figura 1 – Média da densidade dos ácinos glandulares da parótida dos ratos nos grupos: normoglicêmico (C), normoglicêmico tratado com RSV (CR), diabético (D) e diabético tratado com RSV (DR). N=6. * $P < 0,05$ quando comparados os grupos C e D. ** $P < 0,05$ quando comparados os grupos D e DR.

A análise estatística não mostrou diferença significativa entre os grupos C ($1315 \pm 18,5$) e CR ($1364 \pm 15,5$). No entanto, observou-se preservação da densidade dos ácinos nos animais do grupo DR ($1359 \pm 14,3$) em relação ao grupo D ($1250 \pm 7,5$) ($p < 0.05$) (Figura 1). A maior densidade acinar no grupo DR, quando comparada ao grupo D, pode ser atribuída ao efeito protetor do resveratrol devido à sua capacidade de neutralização do estresse oxidativo, ao varrer espécies reativas de oxigênio (EROs), inibir a peroxidação lipídica



e regenerar antioxidantes endógenos como GSH, SOD e CAT (ZHENG, 2010). Além disso, o RSV é um inibidor do fator NF- κ B, diminuindo a expressão de vários genes associados com a inflamação e estresse oxidativo (LEIRO et al., 2005). Desta forma, ao aumentar as defesas celulares, o RSV promove proteção contra a injúria oxidativa e consequentemente atenua a morte das células acinares.

Conclusões

Na condição de diabetes, o tratamento com resveratrol, preveniu a perda dos ácinos das glândulas parótidas. Essa preservação acinar deve-se provavelmente à atuação do antioxidante do resveratrol, ao reduzir principalmente os danos causados pelo estresse oxidativo.

Agradecimentos

Ao PIBIC/UEM e à Fundação Araucária.

Referências

KUMAR, A. et al. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy. **Life Sci**, v. 80, n. 13, p. 1236-1244, 2007.

LEIRO, J. et al. Effect of cis-resveratrol on genes involved in nuclear factor kappa B signaling. **Int Immunopharmacol**, v. 5, n. 2, p. 393-406, 2005.

OBROSOVA, I. G. et al. An aldose reductase inhibitor reverses early diabetes-induced changes in peripheral nerve function, metabolism, and antioxidative defense. **FASEB J**, v. 16, n. 1, p. 123-125, 2002.

VINCENT, A. M. et al. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. **Endocr Rev**, v. 25, n. 4, p. 612-628, 2004.

ZHENG, Y. et al. Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. **Mol Vis**, v. 16, p. 1467-1474, 2010.