



EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA E GLUTAMINA DIPEPTÍDEO SOBRE A AORTA DE RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA.

Nájla Nonis Zucoloto (PIBIC/CNPq/Uem), Célia Regina de Godoy Gomes (Orientador), Vilma Aparecida Godoi, e-mail: crggomes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR

Ciências Biológicas – Morfologia

Palavras-chave: aorta, glutamina, diabetes melito.

Resumo:

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com glutamina sobre a aorta torácica de ratos diabéticos. Foram utilizados 30 ratos Wistar machos adultos. Os animais foram tratados por 30 dias com salina, Lglutamina 248 mg/Kg ou glutamina dipeptídeo 400 mg/Kg. Uma parte dos animais (30 ratos), após jejum noturno, foi anestesiada com injeção intraperitoneal de ketamina/xilazina (100/10 mg/Kg) e diabetizada por injeção endovenosa (veia peniana) de estreptozotocina (35 mg/kg de peso corporal). Após 30 dias de tratamento, os animais foram pesados, anestesiados. Após realização de laparotomia e incisão torácica foi feita a coleta do sangue por punção cardíaca, sendo destinada a análise da glicemia. As aortas torácicas foram coletadas e fixadas em formol a 10% e realizado a rotina histológica. Foi realizado a morfometria da parede da aorta torácica, e a densidade de volume (Vv) do colágeno e do músculo liso. No final do experimento houve diferença significativa no peso final dos animais. O maior peso ocorreu no grupo CGDP (305,2±11,81) e o menor peso no grupo DGDP (162,6±26,93). Em relação a glicemia quando confrontados os controles e diabéticos houve diferenças estatísticas entre as médias. A densidade de volume do colágeno foi menor no grupo CG (32,2±5,71) e o maior no grupo C (43,6±2,88), estas médias apresentaram significância estatística entre si. No Vv do músculo liso obtivemos diferenças estatísticas entre os grupos DGDP (25,6±5,77) e C (18,6±2,5). Concluímos que a glutamina não foi capaz de alterar significativamente os dados de peso, glicemia e as alterações no vaso.

Introdução



Evidências experimentais indicam que o aumento da disponibilidade de glutamina às células pode aumentar a expressão das “proteínas de estresse”, o que mantém a capacidade da célula em resistir a lesões (SANDRES et al., 1991). A glutamina está envolvida em diferentes funções, tais como a proliferação e desenvolvimento de células, o balanço acidobásico, o transporte da amônia entre os tecidos, a doação de esqueletos de carbono para a gliconeogênese, a participação no sistema antioxidante e outras. Estudos demonstram que a glutamina pode também influenciar diversas vias de sinalização celular, em especial a expressão de proteínas de choque térmico, que contribuem para a manutenção da homeostasia da célula na presença de agentes estressores, tais como as espécies reativas de oxigênio (ERO). (CRUZAT et al., 2009). Considerando-se o poder antioxidante da L-glutamina, o objetivo desse estudo foi verificar o efeito da suplementação oral com L-glutamina e glutamina dipeptídeo (L-alanil-L-glutamina), sobre a morfologia da aorta torácica de ratos diabéticos.

Materiais e métodos

Este estudo que envolve a utilização de animais obedeceu aos princípios éticos adotados pelo CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal) e foram submetidos à análise pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá.

Foram utilizados 30 ratos Wistar machos adultos com 50 dias/180 gramas. Os animais receberam ração padronizada (Nuvital – Nuvilab, Colombo, PR, Brasil) e água ad libidum. Os animais foram tratados por 30 dias com salina, L-glutamina 248 mg/Kg ou glutamina dipeptídeo 400 mg/Kg (L-alanil-L-glutamina) por via oral (gavagem).

Os 30 animais foram distribuídos em seis grupos experimentais: grupo C: animais não diabéticos que receberam solução salina 0,9 % por gavagem por 30 dias (n=5); grupo D: animais diabéticos que receberam solução salina 0,9% por gavagem por 30 dias (n=5); grupo CG: animais não diabéticos que receberam 248 mg/kg de L-glutamina por gavagem por 30 dias (n=5); grupo DG: animais diabéticos que receberam 248 mg/kg de L-glutamina por gavagem por 30 dias (n=5); grupo CGDP: animais não diabéticos que receberam 400 mg/kg de glutamina dipeptídeo (Lalanil-L-glutamina) por gavagem por 30 dias (n=5); grupo DGDP: animais DM1 que receberam 400 mg/kg de glutamina dipeptídeo (L-alanil-L-glutamina) por gavagem por 30 dias (n=5).

Uma parte dos animais (30 ratos), após jejum noturno (15 h), foi anestesiada com injeção intraperitoneal (ip) de ketamina/xilazina (100/10 mg/Kg) e diabetizada por injeção endovenosa (veia peniana) de estreptozotocina (35 mg/kg de peso corporal) dissolvida em tampão citrato, pH 4,5 (10 mM).



Após 30 dias de tratamento, os animais foram pesados e anestesiados, e foi realizada a laparotomia para a coleta do sangue por punção cardíaca. As aortas torácicas foram coletadas e fixadas em formol a 10% por 48 horas e em seguida foi realizada a rotina histológica.

Para a morfometria da parede da aorta torácica, foi feita a medida íntima-média. Foi estudado também a densidade de volume (Vv) do colágeno e do músculo liso na túnica média da aorta torácica, por contagem de pontos realizada através de um sistema-teste com 36 pontos, totalizando 324 pontos. Os dados foram tratados pela análise de variância (ANOVA), com teste de comparação múltipla, prefixando-se o nível de significância em 95% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Ao final do experimento, de acordo com a tabela 1, houve diferença significativa no peso final dos animais. O maior peso ocorreu no grupo CGDP ($305,2 \pm 11,81$) e o menor peso no grupo DGDP ($162,6 \pm 26,93$); observamos que a glutamina nas suas duas formas de aplicação nos animais não foi capaz de restabelecer o peso nos grupos diabéticos.

Em relação à glicemia não ocorreu diferença significativa entre os grupos controles, assim como entre os grupos diabéticos, mas quando confrontados os controles e diabéticos houve diferenças estatísticas entre as médias.

Tabela 1. Média e desvio padrão do peso e glicemia final

Grupo (n=5)	Peso final (g)	Glicemia Final (mg/dl)
C	$277 \pm 19,83^a$	$76,6 \pm 6,8^a$
D	$192,4 \pm 7,12^{a,b,c}$	$385,8 \pm 22,88^{a,b,c}$
CG	$296,2 \pm 13^{b,c}$	$67 \pm 5,7^{b,c}$
DG	$165,8 \pm 41,8^{a,c,d}$	$374,2 \pm 125,2^{a,c,d}$
CGDP	$305,2 \pm 11,81^{b,d,e}$	$82 \pm 6,51^{b,c,d,e}$
DGDP	$162,6 \pm 26,93^{a,c,e}$	$356,6 \pm 29,09^{a,c,e}$

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna apresentam diferença estatística significativa ($p > 0,05$), pelo teste de Tukey

Na tabela 2 estão descritos os valores da morfometria da parede e quantificação do colágeno e do músculo liso. Obtivemos a menor espessura da parede no grupo D ($69,84 \pm 7,9$) e maior no grupo CGDP ($98,63 \pm 13,82$), e verificamos estatisticamente que estas médias foram significativas entre si ($p > 0,05$).

Em nossos resultados pela análise da densidade de volume do colágeno observamos menor porcentagem no grupo CG ($32,2 \pm 5,71$) e o maior no grupo C ($43,6 \pm 2,88$), estas médias apresentaram significância estatística



entre si. Em relação ao músculo liso obtivemos diferenças estatísticas entre os grupos DGDP ($25,6 \pm 5,77$) e C ($18,6 \pm 2,5$).

Tabela 2. Média e desvio padrão da espessura íntima-média e densidade de volume (Vv) do colágeno e músculo liso.

Grupo (n=5)	Média de Espessura (um)	Vv Colágeno (%)	Vv Muscular Liso (%)
C	$89,38 \pm 11,62$	$43,6 \pm 2,88^a$	$18,6 \pm 2,5^a$
D	$69,84 \pm 7,9^a$	$33,6 \pm 8,02$	$22 \pm 2,12$
CG	$95,42 \pm 15,07$	$32,2 \pm 5,71^a$	$24 \pm 1,58$
DG	$83,43 \pm 9,86$	$36,8 \pm 5,58$	$23 \pm 3,8$
CGDP	$98,63 \pm 13,82^a$	$37,8 \pm 3,34$	$20,2 \pm 2,86$
DGDP	$82,77 \pm 18,54$	$37,2 \pm 5,63$	$25,6 \pm 5,77^a$

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna apresentam diferença estatística significativa ($p > 0,05$), pelo teste de Tukey

Conclusões

Tendo em vista os aspectos observados nos resultados obtidos pelo experimento, pode-se concluir que a suplementação oral tanto com L-glutamina quanto com glutamina dipeptídeo não foi capaz de alterar significativamente os dados de peso corporal final, de glicemia e de características morfométricas da parede do vaso dos animais estudados.

Agradecimentos

Ao CNPq, pela concessão de bolsa.

Referências

- CRUZAT, V. F.; PETRY, É. R.; TIRAPEGUI, J. **Glutamine: Biochemical, Metabolic, Molecular aspects and Supplementation**. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2009.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C. **Robbins e Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- SANDRES, M. M.; KON, C. Glutamine is a powerfull effector of heat shock protein expression in drosophila Kc cells. **Am J Cell Physiol.**, 146:180-90.1991