



EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA LIVRE E DIPEPTÍDEO SOBRE PARÂMETROS DA FUNÇÃO RENAL DE RATOS WISTAR DIABÉTICOS INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA.

Ana Beatriz Canassa Martins (PIBIC/UEM-UEM), Edmara Aparecida Baroni (Orientadora), e-mail: eabaroni@gmail.com, Vilma Aparecida Ferreira de Godoi (Co-orientadora)

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Ciências Fisiológicas.

Área: Fisiologia de órgão e sistemas; Sub-área: Fisiologia Renal

Palavras-chave: diabetes mellitus, função renal, glutamina

Resumo

Várias substâncias têm capacidade de reduzir o estresse oxidativo causado pelo Diabetes Mellitus. O aminoácido glutamina se destaca por ser capaz de minimizar complicações dessa patologia. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação da glutamina livre e glutamina dipeptídeo, sobre a função renal de ratos Wistar diabéticos. Foram utilizados ratos com 49 dias, separados em 6 grupos: C-S (n=7); D-S (n=7); C-G (n=7), C-GD (n=7), D-G (n=7) e D-GD (n=7). Os grupos C-S e D-S receberam diariamente, por gavagem, salina 0,9%, os C-G e D-G receberam glutamina livre (200mg/Kg) e os C-GD e D-GD receberam glutamina dipeptídeo (400mg/Kg). Após 4 semanas de tratamento, realizou-se coleta da urina e sangue, para análise da taxa de filtração glomerular e proteinúria. Os resultados mostraram que a glutamina não alterou nem o fluxo urinário (C-S: $0,0235 \pm 0,0022^a$; D-S: $0,0194 \pm 0,0054^a$, C-G: $0,0294 \pm 0,0408^a$, D-G: $0,0172 \pm 0,0040^a$ mL/min), nem a TFG (C-S: $0,4 \pm 0,06^a$, D-S: $0,3 \pm 0,06^a$, C-G = $0,6 \pm 0,07$; C-GD: $0,6 \pm 0,12^a$; D-G = $0,4 \pm 0,13$; D-GD: $0,5 \pm 0,14^a$ mL/min/100 pc) e nem a proteinúria (C-S: $1,7 \pm 0,4^a$, D-S: $1,9 \pm 0,71^a$, C-G = $3,4 \pm 0,6$; C-GD: $2,0 \pm 0,08^a$, D-G = $1,6 \pm 0,43$; D-GD: $2,2 \pm 0,38^a$ mg/12 h). A suplementação, por 4 semanas, tanto com glutamina livre como com a conjugada, não teve efeito sobre o fluxo urinário, a TFG e a proteinúria dos ratos Wistar diabéticos.

Introdução



Alterações na função renal causam importantes prejuízos ao organismo, pois os rins exercem várias funções importantes, como a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico e a excreção de produtos do metabolismo¹. A ocorrência de lesão renal pode levar à perda progressiva e irreversível da função dos rins, caracterizando a doença renal crônica (DRC), cujos sintomas manifestam-se de forma insidiosa, sendo a hipertensão arterial e o diabetes mellitus os principais fatores de risco para o desenvolvimento da DRC³.

A nefropatia diabética (ND) acontece em decorrência de alterações hemodinâmicas, que unidas aos efeitos da hiperglicemia, geram lesões na microcirculação renal². Muitas substâncias podem reduzir o estresse oxidativo do diabético. O aminoácido L-glutamina se destaca por ser capaz de reduzir complicações crônicas associadas ao diabetes.

Materiais e métodos

Foram usados 42 ratos Wistar machos com 49 dias provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Esses animais foram divididos nos grupos: Grupo C-S (Controle/salina - n= 7); D-S (diabético/salina n=7-); C-G (controle glutamina livre – n=7); C-GD (controle/glutamina dipeptídeo – n=7); D-G (diabético/glutamina livre – n=7) e D-GD (diabético/glutamina dipeptídeo – n=7). Os animais dos grupos C-S e D-S receberam diariamente, por gavagem, 0,6ml de salina 0.9%. Os dos grupos C-G e D-G receberam diariamente, por gavagem, 200mg/kg de L-glutamina e os dos grupos C-GD e D-GD receberam diariamente, por gavagem, 400mg/kg de glutamina dipeptídeo (L-alanil-L-glutamina - Dipeptiven[®]). A indução do diabetes foi pela estreptozotocina (35mg/kg de massa corporal; Sigma, St. Louis, MO, EUA). A confirmação do estado diabético foi feita 4 dias após a indução. Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicemia de jejum ≥ 300 mg/dL.

Após o período de quatro semanas, os animais foram colocados na gaiola metabólica para coleta da urina. O sangue foi coletado através de punção cardíaca. Para isso os animais foram anestesiados (i.p.) com tiopental sódico (120 mg/Kg de pc). A análise da proteinúria foi feita por método colorimétrico (“Kit” Analisa). E a Taxa de Filtração glomerular (TFG) foi medida pela análise da creatinina urinária e plasmática, quantificadas por metodologia colorimétrica (“Kit” Analisa).

Os dados foram previamente submetidos a análise descritiva com resultados expressos como média +/- desvio padrão da média). Em seguida submetidos à Análise de Variância (ANOVA de uma via) com nível de significância adotado de $p < 0,05$).



O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo 069/2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Peso corporal e fluxo urinário: A análise do fluxo urinário e peso corporal dos grupos C-S, C-G, C-GD, D-S, D-G e D-GD não mostrou diferença significativa (Tabela 1).

Tabela 1. Peso corporal final (g), fluxo urinário (ml/min) dos animais dos grupos C-S (n=7), C-G (n=7), C-GD (n=7), D-S (n=7), D-G (n=7) e D-GD (n=7).

GRUPOS	Peso corporal (g)	Fluxo urinário (mL/min)
C-S (n=7)	273,6 ± 16,2 ^a	0,0235 ± 0,0022 ^a
C-G (n=7)	307,0 ± 10,6 ^a	0,0245 ± 0,0022 ^a
C-GD (n=7)	293,8 ± 17,0 ^a	0,0294 ± 0,0408 ^a
D-S (n=7)	189,0 ± 16,0 ^b	0,0194 ± 0,0054 ^a
D-G (n=7)	182,2 ± 48,9 ^b	0,0159 ± 0,0026 ^a
D-GD (n=7)	153,8 ± 26,0 ^b	0,0172 ± 0,0040 ^a

Valores estão expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significante ($p < 0.05$).

Taxa de filtração glomerular e proteinúria

Na nefropatia diabética o glomérulo é a principal estrutura renal acometida, pois o quadro de hiperglicemia sérica constante ou em picos, com o tempo leva à proteinúria e à diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG)². A glutamina reduz complicações crônicas associadas ao diabetes, como a neurodegeneração e suas consequências.

A suplementação tanto com a glutamina livre como com a conjugada, não alterou nem a taxa de filtração glomerular (TFG) nem a proteinúria dos animais controle (grupos C-G e C-GD). Também não houve alteração na TFG e proteinúria dos animais diabéticos que foram suplementados com glutamina livre (grupo D-G) e conjugada (grupo D-GD) (Tabela 2).

Tabela 2. TFG (ml/min/100 pc) e proteinúria (mg/12h) dos animais grupos C-S (n=7), C-G (n=7), C-GD (n=7), D-S (n=7), D-G (n=7) e D-GD (n=7).

	TFG (mL/min/100 pc)	Proteinúria (mg/12 h)
C-S (n=7)	0,4 ± 0,06 ^a	1,7 ± 0,4 ^a



C-G (n=7)	$0,6 \pm 0,07^a$	$3,4 \pm 0,6^a$
C-GD (n=7)	0.6 ± 0.12^a	2.0 ± 0.08^a
D-S (n=7)	0.3 ± 0.06^a	1.9 ± 0.71^a
D-G (n=7)	$0,4 \pm 0,13^a$	$1,6 \pm 0,43^a$
D-GD (n=7)	0.5 ± 0.14^a	2.2 ± 0.38^a

Valores estão expressos em média \pm desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significante ($p < 0.05$).

Conclusão:

A suplementação tanto com glutamina livre (L- glutamina) como com a conjugada (L-alanil-L-glutamina), por 4 semanas, não teve efeito sobre o fluxo urinário, a TFG e a proteinúria dos ratos Wistar diabéticos adultos.

Agradecimentos

Apoio: FADEC UEM e Laboratório Carlos Chagas de Maringá

Referências

1. ALVES, E.P; ALVES, A.M.; PEREIRA, R.V.; DE MIRANDA NETO, M.H., ZANONI, J.N. Immunohistochemical study of vasoactive intestinal peptide (VIP) enteric neurons in diabetic rats supplemented With L-glutamine. **Nutr. Neurosci**, v. 13, n. 1, p. 43-51, 2010.
2. ANTÃO, C. F.; GALLEGU, R.; CALDEIRA, J. Complicações Renais da Diabetes Mellitus. **Rev. Port. Clin. Geral**, v. 23, p. 577-594, 2007.
3. BASTOS, M. G.; CARMO, W. B.; ABRITA, R. R.; ALMEIDA, E. C.; MAFRA, D.; COSTA, D. M. N.; GONÇALVES, J.; OLIVEIRA, L. A.; SANTOS, F. R.; PAULA, R. B. Doença Renal Crônica: Problemas e soluções. **J. Bras. Nefrol**, V. 26, p. 202-215, 2004.