

EFEITOS DO TRATAMENTO COM RESVERATROL SOBRE A INFILTRAÇÃO LINFOCÍTICA NO PARÊNQUIMA DA GLÂNDULA PARÓTIDA DE RATOS DIABÉTICOS.

Juliana Crivoi Fiori (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Éder Paulo Belato Alves, Nilza Cristina Buttow, Marcello Arnaldo Nunes Prado, Marli Aparecida Defani Angela Maria Pereira Alves (Orientador), e-mail: angela.01.com@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas e Morfologia

Palavras-chave: glândula salivar, antioxidante, hiperglicemia

Resumo:

O diabetes mellitus (DM) é responsável pelas alterações histopatológicas em diversos tecidos e órgãos. Nas glândulas salivares, estas alterações podem ser observadas pela redução quantitativa e morfométrica de ácinos e ductos; acúmulo de lipídeo intracelular e infiltração de linfócitos no parênquima e estroma. A cavidade oral manifesta-se revelando tais distúrbios, que se expressam como xerostomia, cáries, gengivite, doença periodontal, Cândida oral e edema da glândula parótida. Já que essas glândulas são importantes no processo digestivo e na manutenção da saúde bucal e sabendo da atuação benéfica do resveratrol em indivíduos diabéticos, onde o estresse oxidativo é elevado e produz radicais livres; objetivamos neste estudo investigar os efeitos do tratamento com resveratrol (RSV) sobre a infiltração linfocítica no parênquima da glândula salivar parótida de ratos diabéticos. Parecer do comitê de ética: 014/2013. Para tal, vinte e quatro animais foram distribuídos nos grupos: normoglicêmico (N), normoglicêmico tratado com resveratrol (NR), diabético (D) e diabético tratado com resveratrol (DR). Os ratos dos grupos NR e DR foram tratados com RSV, na dose de 10 mg/Kg de peso corporal, via gavagem, diariamente por 120 dias. Houve aumento significativo na densidade linfocítica média nas glândulas parótidas dos ratos do grupo D em relação aos demais grupos ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os ratos do grupo DR quando comparados aos dos grupos N e NR ($p > 0,05$). O tratamento com RSV apresentou efeitos positivos com relação à redução da infiltração linfocítica no parênquima das parótidas dos ratos diabéticos, ao atenuar os processos inflamatórios, bem como outros danos teciduais causados pelo estresse oxidativo.

Introdução

Em humanos o Diabetes Mellitus (DM) tem apontado para modificações significativas em muitos tecidos e órgãos, incluindo alterações na estrutura e

função as glândulas parótidas (ANDERSON et al., 1994). Neste contexto, pode-se elencar alterações na secreção de proteínas; acúmulo de lipídeos nas células secretoras; diminuição da resposta à estimulação parassimpática/simpática e aumento da atividade autofágica e lisossomal (MEDNIEKS et al, 2009). Essas mudanças estão em parte, relacionadas ao aumento do estresse oxidativo e à redução nos níveis de antioxidante do organismo. Substâncias antioxidantes como o resveratrol (RSV) podem ter papel relevante 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 objetivou investigar os efeitos do tratamento com resveratrol (RSV) sobre a infiltração linfocítica no parênquima da glândula salivar parótida de ratos diabéticos.

Materiais e métodos

Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, com 90 dias de idade, os quais foram distribuídos em quatro grupos: N (normoglicêmico); NR (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 NR 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). A contagem dos linfócitos foi realizada com auxílio de microscópio óptico BX40, sob objetiva de 100X. Foram contados os linfócitos encontrados em 30 campos microscópicos escolhidos ao acaso em cada lâmina. A área do campo do microscópio foi mensurada com uma régua micrometrada Zeiss. Os resultados foram expressos como número médio de linfócitos por mm².

Resultados e Discussão

Observamos aumento significativo na densidade linfocítica média nas glândulas parótidas dos animais do grupo D em relação aos demais grupos ($p < 0,05$). Não observamos diferença significativa entre os animais do grupo DR quando comparados aos dos grupos N e NR ($p > 0,05$) (Figura 1).

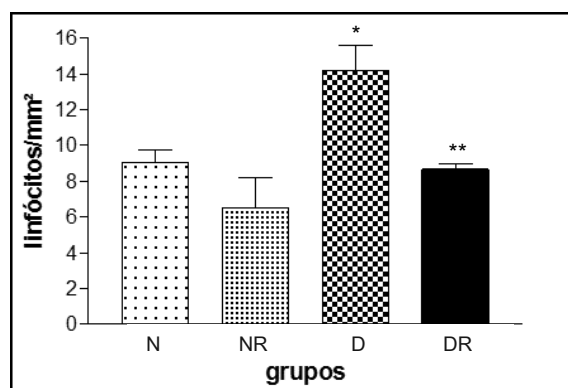


Figura 1 – Densidade linfocítica (linfócitos/mm²) nas parótidas dos animais dos grupos: normoglicêmico (N), normoglicêmico suplementado com resveratrol (NR), diabético (D) e diabético suplementado com resveratrol (DR). Dados expressos como média \pm EPM. n= 6 animais por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado com grupo N; ** $p < 0,05$ quando comparado com grupo D

Alterações morfofisiológicas nas glândulas salivares surgem tanto no processo de envelhecimento, bem como em várias condições patológicas como na síndrome de Sjögren e no diabetes mellitus (KURASHIMA et al. 1986; MARKOPOULOS; BELAZI 1998), com subsequente aparecimento de infiltração linfocítica.

Foi verificada infiltração de linfócitos em glândulas labiais de crianças com diabetes do tipo I, e constatou-se que a maioria das células nesses infiltrados eram os linfócitos T citotóxicos. De acordo com esses resultados, os autores sugeriram que a destruição do parênquima glandular seria mediada principalmente pelas células T.

A hiperglicemia tem contribuição relevante na patogênese das complicações diabéticas devido ao aumento da glicação proteica e pelo acúmulo progressivo de produtos finais de glicação avançada (AGEs) que atacam receptores presentes nas células endoteliais, nos monócitos, nas células mesangiais e nos linfócitos, fazendo-os liberar citocinas inflamatórias que estimulam o sistema imune. Um estudo examinou a prevalência da infiltração linfocítica focal na glândula salivar submandibular de humanos saudáveis, constatando significativo aumento da sua prevalência em idosos. Considerando que o estado diabético contribui para a aceleração do envelhecimento; um fator que deve ser ponderado quando se trata dessas duas condições, é que em ambas, há um expressivo aumento da produção de óxido nítrico (NO) e de outros radicais livres que medeiam a degeneração celular, alterando a morfofisiologia dos tecidos glandulares.

O tratamento com RSV para os animais diabéticos foi efetivo na redução da infiltração linfocítica em níveis equiparados aos dos animais normoglicêmicos. Esse resultado é sugestivo de que a ação benéfica do

RSV sobre as complicações típicas do diabetes tenha sido aplicada na prevenção de muitos processos degenerativos do tecido glandular oriundos do estresse oxidativo. Considerando que o estresse oxidativo é amplificado no diabetes e que também está intimamente ligado a processos inflamatórios, é de se supor que o RSV tenha conseguido inibir o surgimento desses infiltrados linfocíticos no parênquima glandular.

Conclusões

O tratamento com resveratrol, preveniu a infiltração linfocítica no parênquima das glândulas parótidas dos ratos diabéticos. Este achado deve-se provavelmente à atuação deste antioxidante, ao reduzir principalmente os processos inflamatórios, bem como outros danos teciduais causados pelo estresse oxidativo.

Agradecimentos

Ao PIBIC-AF-IS e à Fundação Araucária.

Referências

ANDERSON, L.C; SULEIMAN, A.H; GARRETT, J.R. Morphological effects of diabetes on the granular ducts and acini of the rat submandibular gland. **Microscopy Research and Technique**. Seattle, v. 27, n.1, p. 61-70, 1994.

MARKOPOULOS, A.K.; BELAZI, M. Histopathological and immunohistochemical features of the labial salivary glands in children with type I diabetes. **Journal Of Diabetes And Its Complications**. New York, v.12, p.39-42, 1998.

MEDNIEKS, M. I.; SZCZEPANSKI, A.; CLARK, B.; HAND, A. R. Protein expression in salivary glands of rats with streptozotocin diabetes. **International Journal Experimental Pathology**. Farmington, v.90, n.4, p. 412-422, 2009.

KUMAR, A.; KAUNDAL, R.K.; IYER, S.; SHARMA, S.S. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy. **Life Sciences**. Nagar, v.80, n.13, p. 1236-44, 2007.

KURASHIMA, C; HIROKAWA, K. Age-related increase of focal lymphocytic infiltration in the human submandibular glands. **Journal of Oral Pathology**. Tokyo, v.15, n.3, p. 172-178, 1986.