

AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DOS ÁCINOS SEROSOS DA GLÂNDULA SALIVAR PARÓTIDA DE RATOS DIABÉTICOS SUPLEMENTADOS COM L-GLUTAMINA E SUBMETIDOS À INSULINOTERAPIA

Lucas Henrique da Costa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Juliana Crivoi Fiori, Aline Rodrigues Lazarin, Silvia Carla Santana Ferreira Azevedo, Angela Maria Pereira Alves (Coautores), Eder Paulo Belato Alves (Orientador), e-mail: ederpaulo.uem@gmail.com.

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

Ciências Biológicas e Morfologia

Palavras-chave: diabetes mellitus, insulina, estresse oxidativo.

Resumo

Objetivou-se neste estudo avaliar a morfometria dos ácinos da glândula salivar parótida de ratos diabéticos suplementados com L-glutamina (GLN) e submetidos à insulino-terapia. Vinte e cinco ratos machos foram distribuídos em cinco grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE) e diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE). Durante 30 dias, houve suplementação diária com solução salina ou L-glutamina 400 mg/Kg (gavagem), e/ou injeção subcutânea de solução salina ou Insulina Tresiba® (5 U/kg de massa corporal). O grupo CCS mostrou maior área acinar média em relação aos demais grupos ($p < 0,001$). A área acinar média do grupo D-GLN-TRE foi maior comparada aos grupos DSS, D-GLN-S e D-S-TRE ($p < 0,001$). Estes dados apontam para o efeito protetor da L-glutamina combinada com a insulina ao prevenir a atrofia acinar da glândula parótida de ratos diabéticos.

Introdução

O comportamento das glândulas salivares em humanos e animais com diabetes induzido aponta níveis distintos de alterações morfofisiológicas e estruturais que comprometem a função das mesmas (NEGRATO; TARZIA, 2010). O surgimento destas alterações nas glândulas salivares tem sido atrelado à elevação dos níveis do estresse oxidativo que promove o aumento de moléculas altamente reativas dentro das células, reduzindo a capacidade celular em neutralizá-las e eliminá-las.

Os benefícios da administração de L-glutamina (GLN) em modelos de diabetes experimental foram demonstrados através de suas atividades biológicas tais como: antiulcerogênica, antimicrobiana, hepatoprotetora, cardioprotetora e antioxidante. Além dos antioxidantes que podem ser excelentes adjuvantes, a insulina é a substância mais eficaz na terapêutica do diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Embora a terapia com insulina atue de modo eficaz na redução dos níveis glicêmicos, a sua utilização frequentemente torna-se subutilizada no tratamento do diabetes, ou sua dosagem acaba sendo inadequada em decorrência de um possível quadro de hipoglicemia. Assim sendo, a existência de insulinas comercializadas com

capacidade de mimetizar a secreção basal de insulina, com ausência de picos após aplicação e com ação mais prolongada, como é o caso da insulina Tresiba[®], pode alavancar a expectativa de que essa substância promova um tratamento mais eficiente para o DM1. Frente o exposto, objetivou-se neste estudo avaliar a morfometria dos ácinos serosos da glândula salivar parótida de ratos diabéticos suplementados com L-glutamina e submetidos à insulino terapia.

Materiais e métodos

Foram utilizados 25 ratos adultos machos, da linhagem Wistar com 50 dias de idade, (CEUA nº 9584021115), que foram distribuídos em cinco grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético e com injeção subcutânea de insulina Tresiba[®] (D-S-TRE) e diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba[®] (D-GLN-TRE). Durante 30 dias, houve suplementação diária com solução salina 0,9% e/ou L-glutamina 400 mg/Kg (gavagem), e/ou injeção subcutânea de solução salina ou Insulina Tresiba[®] (5 U/kg de massa corporal).

Após 30 dias de experimento, os animais foram pesados, anestesiados com tiopental (40 mg/kg) intraperitoneal e sacrificados. As parótidas extraídas foram lavadas em solução salina 0,9%, e transferidas para solução fixadora contendo formol tamponado 10%. Cortes histológicos (6µm) foram corados em Hematoxilina-Eosina. Imagens dos ácinos capturadas por câmara acoplada ao microscópio foram transmitidas para computador. Para a análise morfométrica, foi mensurada a área (µm²) de 100 ácinos por animal, perfazendo o total de 500 ácinos em cada grupo estudado; expressando-se os resultados em área acinar média por grupo.

Os dados foram submetidos a testes estatísticos apropriados, como análise de variância, teste de normalidade e teste de Tukey para comparação dos aspectos morfométricos dos ácinos glandulares entre os grupos. O nível de significância foi de 5%.

Resultados e Discussão

A análise morfométrica dos ácinos glandulares (Figura 1) revelou maior área acinar média nos animais do grupo CSS em relação aos dos grupos DSS, D-GLN-S, D-GLN-TRE e D-S-TRE ($p < 0,001$). No entanto, a área acinar média do grupo D-GLN-TRE foi maior em relação aos grupos DSS, D-GLN-S e D-S-TRE ($p < 0,001$). Não foi observada diferença entre os grupos DDS e D-GLN-S ($p > 0,05$).

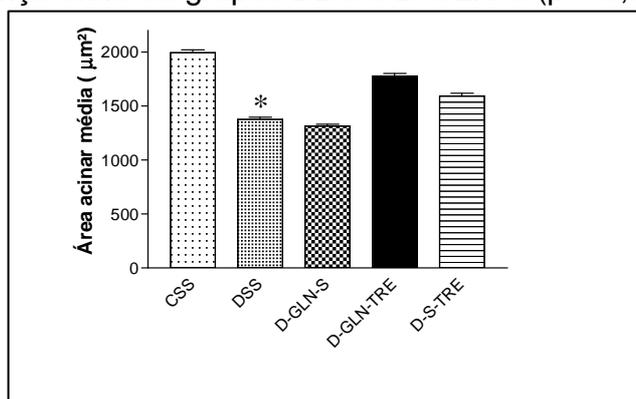


Figura 1. Área acinar média da glândula salivar parótida dos ratos nos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE) e diabético com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE). n=5. *p < 0.001 quando comparado aos grupos CSS, D-GLN-TRE e D-S-TRE.

A atrofia dos ácinos secretores pode ser decorrente de processos degenerativos provenientes do estado hiperglicêmico. Através da análise morfométrica, observamos maior atrofia acinar na glândula parótida dos animais dos grupos DSS e D-GLN-S, em relação aos demais grupos; e este dado pode estar relacionado a diversos fatores que influem diretamente na histofisiologia do parênquima glandular, sobretudo da glândula parótida. Tais fatores são elencados como: depleção crônica de sódio nas células acinares, o que gera desidratação das mesmas; redução e/ou modificação no conteúdo e síntese de proteínas, bem como, distúrbio no metabolismo de carboidratos; redução da resposta secretória da parótida às estimulações simpática e parassimpática devido a anormalidades neuroaxonais típicas da neuropatia diabética e a falta de insulina; uma vez que a manutenção da estrutura e função normal da glândula pode, em parte, ser dependente deste hormônio (HAND; WEISS, 1984). Este último fator, foi observado em nosso estudo, ao constatar que os grupos D-S-TRE e D-GLN-TRE exibiram áreas acinares maiores que os grupos DSS e D-GLN-S.

A suplementação apenas com L-glutamina (D-GLN-S) não evitou que os ácinos sofressem redução de suas áreas, possivelmente, pelo fato de que, neste período de trinta dias, a glutamina pode ter sido preferencialmente requerida para outros tecidos corporais e órgãos como o fígado, para atuar na reversão dos efeitos bioquímicos e o acúmulo hepático de glicogênio (glicogenose) favorecendo as vias anabólicas pelo aumento da razão $[NADH]/[NAD^+]$ e melhorando parâmetros envolvidos com o estresse oxidativo diabético (dados não apresentados). Assim podemos inferir que mesmo com a suplementação com GLN, a sua concentração plasmática ainda não foi suficiente para gerar efeitos benéficos expressivos, uma vez que em situações de estresse metabólico como queimaduras, traumas ou diabetes mellitus tipo 1, a demanda torna-se maior que a produção endógena e se estabelece um quadro de deficiência de GLN (RENNIE *et al.*, 2001).

Terapias adjuvantes através de suplementações, com o intuito de prevenir e/ou reduzir as complicações típicas do DM1, são geralmente insuficientes sem o uso de insulina exógena, uma vez que o organismo perde a capacidade de produzir esse hormônio. Essa condição também foi observada em nosso estudo, ao verificar que no grupo D-GLN-TRE, a ação combinada entre GLN e insulina Tresiba® atenuou a redução da área acinar em relação aos demais grupos diabéticos; e embora não tenha sido equiparada à morfometria acinar observada no grupo CSS (p < 0.001), podemos considerar alguns fatos na tentativa de elucidar a melhora deste parâmetro: 1) a GLN aumenta a síntese de glutatona, potencializando as defesas antioxidantes; 2) a GLN é o aminoácido mais eficaz para induzir a liberação do peptídeo-1 como glucagon (GLP-1) secretado pelas células enteroendócrinas L gastrintestinais e que tem papel relevante na mediação da liberação fisiológica de insulina após uma refeição (SAMOCHA-BONET, 2015); 3) a insulina aumenta os

níveis de DNA, RNA, proteína total e enzimas secretoras da glândula parótida de ratos diabéticos, desempenhando um papel importante na regulação do crescimento e função desta glândula (ANDERSON, 1983).

Conclusões

Os dados obtidos apontam para o efeito protetor da L-glutamina combinada com a insulina ao prevenir a atrofia acinar da glândula parótida de ratos diabéticos.

Agradecimentos

Ao PIBIC/UEM e à Fundação Araucária.

Referências

ANDERSON LC. Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on rat parotid gland. **American Journal of Physiology**. 245(3):G431-7,1983.

HAND, A.R.; WEISS, R.E. Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. **Laboratory Investigation**. 51(4), 429-40, 1984.

NEGRATO, C.A.; TARZIA, O. Buccal alterations in diabetes mellitus. **Diabetology & Metabolic Syndrome**. 2:3, pp. 1-11, 2010

RENNIE, M.; BOWTELL, J. L.; BRUCE, M.; KHOGALI, S. E. O. Interaction between glutamine availability and metabolism of glycogen, tricarboxylic acid cycle intermediates and glutathione. **The Journal of Nutrition**, 131, 2488-2490, 2001.

SAMOCHA-BONET, D.; CHISHOLM, D.J.; HOLST, J.J.; GREENFIELD, J.R. L-glutamine and whole protein restore first-phase insulin response and increase glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetes patients. **Nutrients**. 24; 7 (4):2101-8, 2015.