

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS UNIDADES SECRETORAS MUCOSAS DA GLÂNDULA SALIVAR SUBLINGUAL DE RATOS DIABÉTICOS SUPLEMENTADOS COM L-GLUTAMINA E SUBMETIDOS À INSULINO TERAPIA

Lucas Henrique da Costa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Juliana Crivoi Fiori, Aline Rodrigues Lazarin, Nilza Cristina Buttow, Angela Maria Pereira Alves, 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: antioxidante, diabetes mellitus, morfometria

Resumo

Nosso objetivo foi avaliar a morfometria dos ácinos mucosos da glândula salivar sublingual de ratos diabéticos suplementados com L-glutamina e submetidos à insulinoterapia. Vinte e cinco ratos machos foram distribuídos em cinco grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com GLN (D-GLN-S); diabético e com injeção subcutânea de insulina Tresiba[®] (D-S-TRE) e diabético suplementado com GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba[®] (D-GLN-TRE). Durante 30 dias, houve suplementação diária com solução salina e/ou L-glutamina 400 mg/Kg (gavagem), e injeção subcutânea de solução salina e/ou Insulina Tresiba[®] (5 U/kg de MC). A análise morfométrica não apontou diferença significativa das áreas médias acinares ao comparar todos os grupos entre si ($p > 0,05$). Nos ratos diabéticos tratados ou não com L-glutamina e/ou insulina, não foi evidenciada atrofia dos ácinos mucosos das glândulas salivares sublinguais, ressaltando a resistência desta glândula aos danos comumente gerados pelo DM.

Introdução

As complicações típicas do diabetes mellitus (DM) tem sido vinculadas ao aumento do estresse oxidativo, que é exacerbado no estado diabético (EVANS et al., 2002), podendo afetar vários órgãos e sistemas corporais; sobretudo as glândulas salivares.

A L-glutamina (GLN) é um das substâncias adjuvantes no tratamento do diabetes mellitus (DM) e seu emprego tem apontado para a prevenção ou neutralização da formação das espécies radicalares oriundas do estresse oxidativo; tendo em vista que a mesma participa de vários processos

metabólicos importantes, apresentando uma gama de efeitos benéficos aos sistemas biológicos; e servindo como substrato para a formação da glutathione, um potente antioxidante endógeno. Embora a terapia com insulina seja eficaz na redução dos níveis glicêmicos, a sua utilização muitas vezes, torna-se subutilizada no tratamento do diabetes ou sua dosagem torna-se inadequada em decorrência de um possível quadro de hipoglicemia. As atuais insulinas comercializadas com capacidade de mimetizar a secreção basal deste hormônio, como é o caso da insulina Tresiba[®], apresenta ausência de picos após aplicação e tem ação mais prolongada, o que pode impulsionar a perspectiva de que essa substância promova um tratamento mais eficiente para o DM, amenizando ou evitando suas complicações características. Frente o exposto, objetivamos avaliar a morfometria dos ácinos mucosos da glândula salivar sublingual 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 eutanasiados. As glândulas sublinguais 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 câmera acoplada ao microscópio foram transmitidas para computador. Para a análise morfométrica, foi mensurada a área (µm²) de 100 ácinos por lâmina, perfazendo o total de 500 ácinos em cada grupo estudado; expressando-se os resultados em média das áreas dos ácinos por grupo.

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

Resultados e Discussão

A área média dos ácinos mucosos das glândulas sublinguais não mostrou atrofia ($p > 0,05$) quando os ratos dos grupos DSS ($2506 \pm 74,16 \mu\text{m}^2$), D-GLN-S ($2326 \pm 85,66 \mu\text{m}^2$), D-GLN-TRE ($2349 \pm 61,08 \mu\text{m}^2$) e D-S-TRE

($2521 \pm 98,09 \mu\text{m}^2$) foram comparados entre si e com os ratos do grupo CSS ($2395 \pm 93,95 \mu\text{m}^2$), (Figura 1).

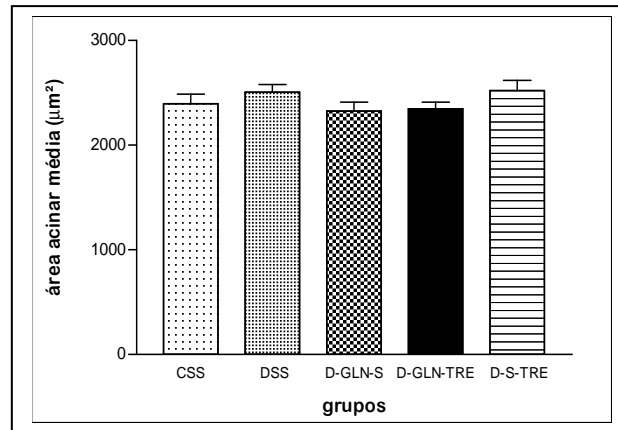


Figura 1. Área média dos ácinos mucosos da glândula sublingual dos ratos dos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE) e diabético com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE). n=5

As glândulas salivares apresentam sensibilidade seletiva às injúrias causadas por determinadas condições como o estado fisiológico de envelhecimento, Síndrome de Sjögren e DM. A glândula parótida é a mais afetada pelo estresse oxidativo gerado pelo diabetes (KNÁS et al., 2016), tanto que, em ratos com diabetes crônico, os ácinos desta glândula tem sua densidade média reduzida e os mesmos mostram-se atrofiados. Contudo; segundo (KAMATA et al., 2007) a glândula sublingual é a menos vulnerável aos danos celulares provenientes do DM, de modo que seu parênquima não parece ser potencialmente afetado em sua morfologia; e apenas em longo prazo, constatarem a formação de gotículas de lipídeos no citoplasma das células acinares, contribuindo para a disfunção acinar. Em nosso estudo, a análise morfométrica (Figura 1) não indicou atrofia dos ácinos mucosos nos ratos diabéticos (DSS), ressaltando a resistência da glândula sublingual frente aos danos causados pelo DM; bem como nos diabéticos tratados (D-GLN-S e D-GLN-TRE), quando comparados aos dos ratos do grupo normoglicêmico (CSS). Além disso, o tratamento com L-glutamina e insulina Tresiba® isoladas e/ou combinadas nos ratos diabéticos (D-GLN-S, D-S-TRE e D-GLN-TRE) manteve o perfil acinar, sem influenciar nesse quesito.

Os resultados obtidos em nosso estudo, corroboram os achados de (MORRIS et al., 1992), os quais não encontraram alterações morfológicas nas células parenquimais da glândula sublingual de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. Este achado nos permite inferir que, as glândulas sublinguais podem ser menos afetadas, em virtude de contribuírem com apenas 5% da produção diária de saliva, que é rica em mucinas, e cujo papel é mais direcionado a proporcionar viscosidade à saliva e manter a hidratação da mucosa oral; ao contrário das glândulas parótidas

que produzem saliva rica em enzimas, cujo processo de síntese e secreção é mais substancialmente comprometido em decorrência do quadro hiperglicêmico.

Embora nossos dados não tenham revelado efeito interventivo da L-glutamina sobre a morfometria dos ácinos mucosos das glândulas sublinguais; suas ações em outros órgãos e sistemas corporais tem sido enaltecida por suas atividades antiulcerogênica, antimicrobiana, hepatoprotetora, cardioprotetora e principalmente antioxidante, sobretudo em estudos relacionados ao diabetes.

Conclusões

Nos ratos diabéticos tratados ou não com L-glutamina e/ou insulina, não foi evidenciada atrofia dos ácinos mucosos das glândulas salivares sublinguais, ressaltando a resistência desta glândula aos danos comumente gerados pelo DM.

Agradecimentos

Ao PIBIC/UEM e à Fundação Araucária.

Referências

EVANS, J.L.; GOLDFINE, I.D.; MADDUX, B.A.; GRODSKY, G.M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. **Endocrine Reviews**. v. 23, n. 5, p. 599-622, 2002.

KAMATA, M.; SHIRAKAWA, M.; KIKUCHI, K.; MATSUOKA, T.; AIYAMA, S. Histological analysis of the sublingual gland in rats with streptozotocin-induced diabetes. **Okajimas Folia Anatomica Japonica**. v. 84 n. 2, p. 71-76, 2007.

KNÁS, M.; MACIEJCZYK, M.; DANISZEWSKA, I., et al. Oxidative Damage to the Salivary Glands of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes-Temporal Study: Oxidative Stress and Diabetic Salivary Glands. **Journal of Diabetes Research**. v. 2016, 2016.

MORRIS, P.A.; PROUT, R.E.; PROCTOR, G.B.; GARRETT, J.R.; ANDERSON, L.C. Lipid analysis of the major salivary glands in streptozotocin-diabetic rats and the effects of insulin treatment. **Archives of Oral Biology**. v. 37, n. 6, p. 489-494, 1992.