

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA SOBRE A DENSIDADE DAS UNIDADES SECRETORAS MUCOSAS DA GLÂNDULA SALIVAR SUBLINGUAL DE RATOS DIABÉTICOS E SUBMETIDOS À INSULINOTERAPIA.

Juliana Crivoi Fiori (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Lucas Henrique da Costa, Aline Rodrigues Lazzarin, Marli Aparecida Defani, Eder Paulo Belato Alves, Vilma Aparecida Ferreira de Godoi, Angela Maria Pereira Alves (Orientadora)
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: parênquima glandular, antioxidante, insulina

Resumo:

Objetivou-se, neste estudo, analisar os efeitos da suplementação com L-glutamina (GLN) sobre a densidade das unidades secretoras mucosas da glândula salivar sublingual de ratos diabéticos 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 e/ou L-glutamina 400 mg/Kg (gavagem) e injeção subcutânea de solução salina e/ou Insulina Tresiba® (5 U/kg de MC). Houve redução na densidade média ($p > 0.001$) dos grupos diabéticos (DSS, D-GLN-S e D-S-TRE) quando comparados aos ratos do grupo (CSS) e (D-GLN-TRE). O tratamento combinado de GLN e insulina Tresiba® minimizou os efeitos do DM e equiparou aos ratos normoglicêmicos a manutenção das unidades secretoras mucosas da glândula sublingual.

Introdução

A hiperglicemia gerada pelo diabetes mellitus (DM) predispõe a cavidade oral a uma série de alterações fisiopatológicas como xerostomia, periodontite, candidíase, entre outras. Essas alterações também estão relacionadas ao aumento do estresse oxidativo. Além da contribuição relevante dos antioxidantes que previnem e/ou reduzem as complicações geradas pelo estresse oxidativo oriundo do diabetes mellitus (DM); a insulina é a substância mais eficaz na terapêutica em diabetes, uma vez que esta patologia é uma das principais síndromes de evolução crônica caracterizada por deficiência absoluta ou relativa de insulina que interfere negativamente no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos e, que durante seu progresso, dependendo do controle metabólico, podem advir complicações agudas e crônicas, tais como hiperglicemia, glicosúria, complicações vasculares e

neuropáticas. Embora a insulinoterapia seja o tratamento mais eficaz para DM, o controle glicêmico isolado nem sempre é suficiente para resolver as diversas complicações dessa patologia. Substâncias com atividade antioxidante, como é o caso da L-glutamina (GLN), podem ser empregadas como terapia alternativa e/ou complementar com o intuito de auxiliar no tratamento do DM. Ainda, a insulina Tresiba® é uma nova geração de análogos à insulina basal, com farmacodinâmica aprimorada, ação biológica prolongada e consistente, com risco de hipoglicemia reduzido e dosagens mais flexíveis, que pode melhorar o controle glicêmico a longo prazo (VORA, et al., 2015). Neste estudo, objetivou-se analisar os efeitos da suplementação com L-GLN sobre a densidade das unidades secretoras mucosas da glândula salivar sublingual de ratos diabéticos e submetidos à insulinoterapia.

Materiais e métodos

Utilizou-se 25 ratos machos Wistar com 50 dias de idade (Nº de protocolo de aprovação CEUA: 9584021115), que foram distribuídos em 5 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 0,9% e/ou GLN 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 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.

As imagens foram capturadas por câmera de alta resolução acoplada ao microscópio Olympus BX20, em um aumento de 20X, e transmitidas para microcomputador e gravadas em compact disc. Das imagens capturadas, foram quantificados, pelo programa de análise de imagens *Image-Pro-Plus*, as unidades secretoras de 20 campos por animal de cada grupo, a fim de delinear a densidade das mesmas. Os dados foram submetidos a testes estatísticos apropriados, como análise de variância e teste de Tukey para comparação dos aspectos quantitativos das unidades secretoras glandulares entre os grupos. O nível de significância foi de 5%.

Resultados e Discussão

A análise quantitativa das unidades secretoras mucosas da glândula salivar sublingual (Figura 1) demonstrou redução na densidade média ($p > 0.001$) dos grupos diabéticos (DSS, D-GLN-S e D-S-TRE) quando comparados aos ratos dos grupos normoglicêmico (CCS) e diabético suplementado com GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE).

As glândulas sublinguais contribuem com apenas 5% da produção de saliva diária, sendo, por este motivo, pouco avaliadas quanto aos efeitos histopatológicos imputados pela condição de diabetes, quer seja agudo ou crônico. Além disso, observa-se que as complicações características de curto e longo prazos do diabetes, incluindo o estresse oxidativo, manifestam-se de modo diferencial nas glândulas

salivares, apontando que a parótida é a mais afetada quando comparada às glândulas submandibular e sublingual (KNÁS et al., 2016).

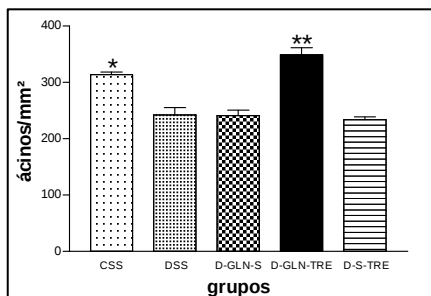


Figura 1. Densidade média das unidades secretoras mucosas da glândula salivar sublingual dos ratos nos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE) e diabético suplementado com GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE). N=5.

* e ** $p < 0.001$ quando comparados aos grupos DSS, D-GLN-S e D-S-TRE.

A literatura relata que, em ratos com diabetes crônico, os ácinos das glândulas parótida e submandibular tem sua densidade média reduzida e mostram-se atrofiados em decorrência das deficiências nos processos de manutenção do tecido glandular e na sua renovação celular; do aumento de infiltração linfocítica no parênquima glandular; e da amplificação do estresse oxidativo, gerando morte celular, com consequente redução da densidade acinar.

Os raros estudos compilados na literatura denotam que o parênquima da glândula sublingual é menos vulnerável aos efeitos do DM, tanto que Morris et al. (1992) não encontraram alterações morfológicas nas células parênquimas da glândula sublingual de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina, durante 7 semanas. Resultado similar foi obtido a partir de modelo experimental com ratos diabéticos crônicos (17 semanas) e com 90 dias de idade, realizado em experimentos anteriores no nosso laboratório (dados não publicados). Contudo, neste modelo experimental de diabetes em ratos com 50 dias de idade e duração de 30 dias, observamos perda numérica das unidades secretoras mucosas das glândulas sublinguais dos ratos dos grupos diabéticos (DSS, D-GLN-S e D-S-TRE) quando comparados aos ratos do grupo normoglicêmico (CSS) e diabético (D-GLN-TRE).

Essa ação seletiva do diabetes sobre o parênquima da glândula sublingual, em diferentes períodos de tempo de experimento e de idade dos animais, pode ser indicativo de que alguns fatores estejam subordinados à tal suscetibilidade, tais como: a) manutenção da integridade estrutural e funcional dos ductos intercalares e estriados que exibem papel essencial na renovação celular normal, podendo sofrer diferenciação em bloco para a substituir os ácinos; b) variações no suprimento sanguíneo devido às alterações vasculares; c) ação dos receptores de insulina que estariam ligados à modificação da sensibilidade celular; bem como, danos estruturais nos nervos autonômicos. Considerando nosso estudo, esses fatores poderiam ser indicativos de que a perda numérica observada no grupo DSS, depende do grau de plasticidade inerente à glândula salivar, diante das injúrias decorrentes do DM; já que as glândulas salivares parótidas de ratos diabéticos evidenciaram maior plasticidade parenquimal quando analisadas nas mesmas condições experimentais (dados não publicados).

Embora não tenhamos observado apontamento efetivo na administração isolada tanto da GLN quanto da insulina Tresiba[®] sobre a densidade média das unidades secretoras sublinguais dos ratos dos grupos D-GLN-S e D-S-TRE; a literatura evidencia ações salutares destas substâncias sobre os sistemas biológicos, tais como: atividades antiulcerogênica, antimicrobiana, hepatoprotetora, cardioprotetora e antioxidante da GLN; enquanto que a insulina Tresiba[®] ao apresentar alta similaridade com o perfil de sequenciamento da insulina humana, gera um efeito mais contíguo às necessidades metabólicas do organismo atenuando as complicações típicas do DM à longo prazo.

A maior densidade média das unidades secretoras sublinguais observada nos ratos do grupo D-GLN-TRE, em relação ao grupo D, pode ser atribuída ao fato de que a GLN tenha um papel crucial na síntese de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , favorecendo a limitação de processos inflamatórios; e na síntese da glutathiona (GSH), um potente antioxidante que possui alvos moleculares específicos, como fatores de transcrição (CURI, et al., 2005). Além disso, o tratamento com insulina combinada com GLN, pode ter um efeito expressivo na manutenção da estrutura do parênquima e função normal da glândula, já que estes parâmetros são parcialmente dependentes da ação deste hormônio.

Conclusões

O tratamento combinado de GLN e insulina Tresiba[®] minimizou os efeitos do DM e equiparou aos ratos normoglicêmicos a manutenção das unidades secretoras mucosas da glândula sublingual.

Agradecimentos

Agradecemos ao PIBIC-Af-IS/CNPq-Fundação Araucária-UEM

Referências

CURI, R.; LAGRANHA, C.J.; DOI, S.Q.; SELLITTI, D.F.; PROCOPIO, J.; PITHON-CURI, T.C.; CORLESS, M.; NEWSHOLME, P. Molecular mechanisms of glutamine action. **J Cell Physiol.**, v.204, p.392-401, 2005.

KNÁS, M.; MACIEJCZYK, M.; DANISZEWSKA, I.; MATCZUK, J.; KOTODZIEJ, U.; WASZKIEL, D. ; TADNY, J. R.; ZENDZIAN-PIOTROWSKA, M.; ZALEWSKA, A. Oxidative Damage to the Salivary Glands of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes-Temporal Study: Oxidative Stress and Diabetic Salivary Glands. **J. Diabetes Res.** v. 2016, 2016.

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

VORA, J.; CARIOU, B.; EVANS, M.; GROSS, J.L.; HARRIS, S.; LANDSTEDT-HALLIN, L.; MITHAL, A.; RODRIGUEZ, M.R.; MENEHINI, L. Clinical use of insulin degludec. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v.109, n.1, p.19-31, 2015.