

AVALIAÇÃO DA DENSIDADE MÉDIA DOS DUCTOS EXCRETORES DA GLÂNDULA PARÓTIDA DE RATOS DIABÉTICOS SUPLEMENTADOS COM L-GLUTAMINA (GLN) E SUBMETIDOS À INSULINOTERAPIA.

Anderson Jorge de Oliveira da Rocha (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Lucas Henrique da Costa, Juliana Crivoi Fiori, Marli Aparecida Defani, Angela Maria Pereira Alves, Éder 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, antioxidante

Resumo:

Objetivou-se neste estudo avaliar a densidade média dos ductos excretores da glândula parótida de ratos diabéticos suplementados com L-glutamina (GLN) e submetidos à insulinoterapia. Vinte e cinco ratos machos foram distribuídos em cinco grupos: normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético com GLN (D-GLN-S); diabético e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE) e diabético com GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE). Durante 30 dias, houve suplementação diária com solução salina 0,9% ou L-glutamina 400 mg/Kg (gavagem), e/ou injeção intraperitoneal ou subcutânea de solução salina e Insulina Tresiba® (5 U/kg), respectivamente. A densidade média dos ductos excretores da glândula parótida dos ratos do grupo (DSS) foi maior quando comparada ao grupo (CSS) ($p < 0.05$). Houve redução da densidade média desses ductos nos ratos do grupo (D-GLN-TRE) quando comparada aos do grupo (DSS) ($p < 0.01$). A análise quantitativa não apontou para diferença significativa ($p > 0,05$) na densidade entre os ductos excretores nos ratos dos grupos diabéticos tratados (D-GLN-S, D-S-TRE e D-GLN-TRE) em relação aos do grupo (CSS). A preservação da densidade dos ductos excretores da glândula salivar parótida nos animais diabéticos tratados com a terapia combinada (L-GLN / insulina) ou apenas com glutamina/insulina, pode estar associada à redução das injúrias geradas pelo DM, uma vez que o número desses ductos, mostrou-se equiparado ao do grupo normoglicêmico (CSS).

Introdução

O sistema de condução das glândulas salivares é composto por ductos de diferentes calibres e não apresenta somente esta função, conduzir, mas também a de produção e modulação salivar. Quanto aos diferentes calibres, do menor para o maior, são descritos: intercalares, estriados e excretores. Os ductos excretores são responsáveis por alterar a concentração salivar, tornando-a hipotônica. Esta por sua vez, é fundamental para preservação das estruturas dentais, digestão, paladar, reparação tecidual, lubrificação e limpeza e ação antimicrobiana (ALMEIDA et al.,

2008). Desse modo, desequilíbrios em sua manutenção, seja pelo envelhecimento, uso de algumas classes de medicamentos ou doenças crônicas como o diabetes mellitus (DM), poderão culminar em complicações à saúde oral.

Como tratamento terapêutico para o DM, uma nova geração de análogos da insulina basal, a insulina Tresiba[®], apresenta 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). Além disso, substâncias antioxidantes coadjuvantes no tratamento do DM, como a L-glutamina (L-GLN) tem mostrado resultados promissores. Frente o exposto, objetivamos avaliar a densidade média dos ductos excretores da glândula 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). 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). Aqueles animais foram distribuídos em cinco grupos: normoglicêmico suplementado por gavagem e injeção intraperitoneal de solução salina (CSS); diabético suplementado por gavagem e injeção intraperitoneal de solução salina (DSS); diabético suplementado por gavagem com GLN e injeção intraperitoneal de solução salina (D-GLN-S); diabético suplementado por gavagem com solução salina e com injeção subcutânea de insulina Tresiba[®] (D-S-TRE) e diabético suplementado com L-GLN por gavagem e com injeção subcutânea de insulina Tresiba[®] (D-GLN-TRE).

Após 30 dias de experimento, os animais foram pesados, anestesiados com tiopental (40 mg/kg) intraperitoneal e eutanasiados. As glândulas 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. 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, os ductos excretores de 20 campos por animal de cada grupo, a fim de delinear a densidade dos mesmos. Os dados coletados foram submetidos a testes estatísticos, como análise de variância e teste de Tukey para comparação dos aspectos quantitativos dos ductos excretores entre os grupos. O nível de significância foi de 5%.

Resultados e Discussão

A densidade média dos ductos excretores da glândula parótida dos ratos do grupo (DSS) foi maior quando comparada ao grupo (CSS) ($p < 0.05$). Houve redução da densidade média desses ductos nos ratos do grupo (D-GLN-TRE) quando comparada aos do grupo (DSS) ($p < 0.01$). A análise quantitativa não apontou para diferença significativa ($p > 0,05$) na densidade entre os ductos excretores nos ratos dos grupos diabéticos tratados (D-GLN-S, D-S-TRE e D-GLN-TRE) em relação aos do grupo (CSS); indicada na Figura 1.

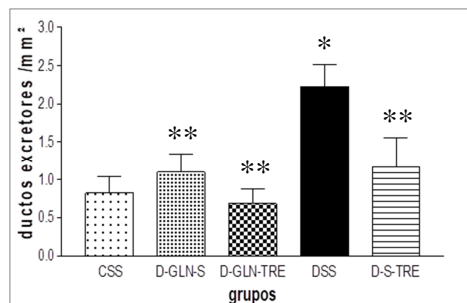


Figura 1 – Densidade ductal média da glândula salivar parótida dos ratos nos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE) e diabético e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE).

* $p < 0,05$ comparado com grupo CSS; ** $p > 0,05$ comparado com grupo CSS

A função primordial do sistema de ductos, intercalares, estriados e excretores respectivamente, é conduzir e alterar a saliva primária através de secreção e reabsorção de eletrólitos e secreção de glicoproteínas; além de outras funções cruciais na renovação celular do parênquima. Todavia, o DM está atrelado às alterações morfoestruturais que comprometem a função das glândulas salivares, mas os mecanismos moleculares envolvidos neste processo ainda não são totalmente elucidados (XIANG, et al., 2020).

A porção acinar da glândula parótida é mais susceptível à atrofia e perda numérica causada pelas complicações características do diabetes, como o estresse oxidativo, quando comparada às outras duas glândulas salivares maiores (KNÁS et al., 2016). Contudo, neste estudo ao analisar o comportamento dos ductos excretores da glândula parótida, constatou-se que a densidade média desses ductos nos ratos do grupo (DSS) foi maior quando comparada ao grupo (CSS) ($p < 0,05$) e não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na densidade entre os ductos excretores nos ratos dos grupos diabéticos tratados (D-GLN-S, D-S-TRE e D-GLN-TRE) em relação aos do grupo (CSS).

A equiparação da densidade média dos ductos excretores dos grupos diabéticos tratados (D-GLN-S, D-S-TRE e D-GLN-TRE) em relação aos do grupo normoglicêmico (CSS) (Figura 1), evidencia uma preservação desses ductos, sinalizando um efeito benéfico do tratamento com a insulina, com L-glutamina e com L-glutamina combinada com insulina; pois o aumento do número dos ductos, constatado no grupo diabético (DSS), denota, à exemplo do que ocorre na Síndrome de Sjögren, a presença de lesões linfoepiteliais e de densos infiltrados linfocitários que precedem a substituição do parênquima glandular (VERSTAPPEN et al., 2021). Isso demonstra que em todos os grupos de animais diabéticos tratados, os ductos excretores da glândula parótida mostraram-se menos acometidos pelos efeitos inflamatórios nocivos desta patologia.

Além disso, a literatura aponta para os efeitos benéficos destas substâncias, quer seja em virtude da efetiva contribuição da L-GLN na atenuação do estresse oxidativo

e dos biomarcadores inflamatórios (JAFARI-VAYGHAN, et. al., 2020); bem como pela ação da insulina na manutenção da estrutura e função do parênquima desta glândula (HAND; WEISS, 1984)

Conclusões

A preservação da densidade dos ductos excretores da glândula salivar parótida nos animais diabéticos tratados com a terapia combinada (L-GLN / insulina) ou apenas com insulina/glutamina, pode estar associada à redução das injúrias geradas pelo DM, uma vez que o número desses ductos, mostrou-se equiparado ao do grupo normoglicêmico (CSS).

Agradecimentos

Ao PIBIC-AF-IS-CNPQ/FA/UEM, pelo auxílio financeiro durante a realização deste trabalho.

Referências

- ALMEIDA, P.D.V.; GRÉGIO, A.M.T., MACHADO M.; LIMA, A.A.S., AZEVEDO, L.R. Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. **J Contemp Dent Pract**, v. 9, n.3, p 72-80, 2008.
- HAND, A. R.; WEISS, R. E. Effects of Streptozotocin-Induced Diabetes on the Rat Parotid Gland. **Lab. Invest.**, v. 51, n. 4, p. 429-438, 1984.
- JAFARI-VAYGHAN, HAMED ET AL. "A comprehensive insight into the effect of glutamine supplementation on metabolic variables in diabetes mellitus: a systematic review." *Nutrition & metabolism* 17: 80. pp. 1-14, 2020.
- 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. *J. Diabetes Res.* 2016, pp.1-13, 2016.
- VORA, J.; CARIU, B.; EVANS, M.; GROSS, J.L.; HARRIS, S.; LANDSTEDT-HALLIN, L.; MITHAL, A.; RODRIGUEZ, M.R.; MENEGHINI, L. Clinical use of insulin degludec. **Diabetes Research and Clinical Practice**. 109:1, pp.19-31, 2015.
- VERSTAPPEN, G.M.; PRINGLE, S.; BOOTSMAN, H.; KROESE, F.G.M. Epithelial-immune cell interplay in primary Sjögren syndrome salivary gland pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol*. 17(6):333-348, 2021.
- XIANG, R. L., HUANG, Y., ZHANG, Y., CONG, X., ZHANG, Z. J., WU, L. L.; YU, G. Y. Type 2 diabetes-induced hyposalivation of the submandibular gland through PINK1/Parkin-mediated mitophagy. **Journal of cellular physiology**, 235(1), 232–244, 2020.