

AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DOS DUCTOS ESTRIADOS DA GLÂNDULA SALIVAR PARÓTIDA DE RATOS DIABÉTICOS SUPLEMENTADOS COM L-GLUTAMINA E SUBMETIDOS À INSULINOTERAPIA.

Aline Rodrigues Lazarin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Eder Paulo Belato Alves (co-autor), Angela Maria Pereira Alves (co-orientadora), Marli Aparecida Defani (Orientadora) e-mail: maedefani@uem.com

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Biológicas/Maringá,
PR

Ciências Biológicas e Morfologia

Palavras-chave: *Diabetes mellitus*, antioxidante, insulina.

Resumo

Neste estudo, objetivamos investigar os efeitos da suplementação com L-glutamina sobre aspectos morfológicos dos ductos estriados da glândula salivar parótida de ratos Wistar diabéticos tipo 1, submetidos a insulino-terapia. Vinte e cinco ratos machos foram distribuídos em cinco grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementados com L-GLN (D-GLN-S); diabético 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). Houve redução significativa da área média dos ductos estriados da glândula parótida nos ratos do grupo DSS em relação aos do grupo CSS ($p < 0,001$). Não foi observada diferença significativa da área média dos ductos estriados do grupo diabético tratado D-GLN-TRE com o grupo CSS ($p > 0,05$). Contudo, quando comparado ao grupo DSS, o grupo diabético tratado D-GLN-TRE exibiu maior área média dos ductos estriados ($p < 0,001$). Esses dados apontam para a eficácia da ação combinada entre L-GLN e insulina Tresiba® que preveniu significativamente as alterações morfoestruturais desses ductos, inerentes ao quadro diabético.

Introdução

A glândula salivar parótida é caracterizada por ser uma glândula par e com secreção exócrina. Os constituintes dessa secreção possuem importância na constituição da saúde bucal, permitindo não apenas a proteção dentária, umedecimento e lubrificação da cavidade oral, mas contribui também com deglutição, início da digestão dos alimentos e prevenção contra infecções (possui componentes da imunidade). O *Diabetes mellitus* tipo I (DM1), como afecção metabólica em decorrência da disfunção na produção de insulina, leva o organismo a desenvolver hiperglicemia crônica. A glicose em excesso na corrente sanguínea, se associa a radicais livres formando produtos finais de glicação avançada (AGEs). Por isso, esse distúrbio leva ao aumento do estresse oxidativo celular crônico e aumento de processos inflamatórios com

manifestações a curto e a longo prazo tanto bucais, quanto de acometimento sistêmico de outros órgãos e tecidos (REIS et al., 2020). Em virtude disso, pesquisas de novas possibilidades de tratamento têm sido realizadas, principalmente relacionadas a fitoterápicos e substâncias isoladas, objetivando redução de efeitos colaterais e custos comparando-se as drogas sintéticas (BEHROUJ et al., 2018).

O controle da glicemia é de essencial importância na homeostase dos tecidos e, por isso, substâncias antioxidantes, como é o caso da L-glutamina (GLN), podem ser empregadas como terapia complementar com o intuito de auxiliar no tratamento do DM1. Ademais, a insulina Tresiba® (Insulina Degludeca), um análogo da insulina basal, além de ter um perfil farmacocinético prolongado, garantindo ao paciente vantagem sobre o tempo de ação e flexibilidade de aplicação, possui benefícios sobre o controle glicêmico, de acordo com a avaliação da hemoglobina glicada (SUCHOJ et al., 2018). À luz do exposto, objetivou-se neste estudo, avaliar aspectos morfométricos dos ductos estriados da glândula salivar parótida de ratos diabéticos suplementados com L-glutamina e submetidos à insulino terapia e possíveis repercussões sobre os efeitos nocivos causados pelo DM1 nessa estrutura.

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 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 mensuradas as áreas (µm²), pelo programa de análise de imagens Image-Pro-Plus, os ductos estriados de 20 campos por animal de cada grupo, a fim de delinear a morfometria dos mesmos, expressando-se os resultados em média das áreas dos ductos por grupo. Os dados coletados foram submetidos a testes estatísticos (análise de variância e teste de Tukey) para comparação dos aspectos morfométricos dos ductos estriados glandulares entre os grupos. O nível de significância foi de 5%.

Resultados e Discussão

A análise morfométrica mostrou redução significativa da área média dos ductos estriados da glândula parótida nos ratos do grupo DSS em relação aos do grupo CSS ($p < 0,001$). Na comparação da área média dos ductos estriados do grupo diabético tratado D-GLN-TRE, não foi observada diferença significativa com o grupo CSS ($p > 0,05$). Contudo, o grupo diabético tratado D-GLN-TRE exibiu maior área média dos ductos estriados em relação aos do grupo DSS ($p < 0,001$), (Figura 1).

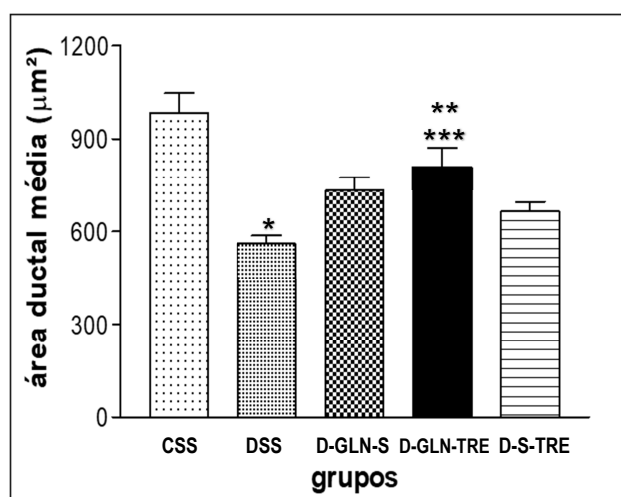


Figura 1. Análise morfométrica média dos ductos estriados da glândula salivar parótida dos ratos nos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE) e diabético com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE). * $p < 0,001$ quando comparado ao grupo CSS; ** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo DSS; *** $p > 0,05$ quando comparado ao grupo CSS

Em ratos *Wistars*, o DM1 resulta na degeneração tecidual e alteração da estrutura da glândula salivar parótida, com a redução da área dos ductos glandulares e em modificações na deposição laminar dessa glândula, com evolução progressiva no decorrer da história natural da doença (MONTEIRO et al., 2016). Ademais, em trabalhos realizados previamente pelo nosso grupo de estudos analisou-se que em animais diabéticos, a depender da duração do período experimental e da idade dos ratos, o surgimento de hiperplasia dos ductos estriados, em comparação ao dos normoglicêmicos; desse modo, em análises quantitativas, há uma maior densidade média ductal. Este fato é associado à uma relação compensatória, pois com a degradação acinar, a formação da saliva seria prejudicada e, na tentativa de compensar essa perda, os ductos exibiriam maior atividade secretora, mesmo que resultando apenas no aumento da secreção de água (REIS et al., 2020).

Nosso estudo demonstra que terapias adjuvantes por meio de suplementação com substâncias isoladas, são, em geral, insuficientes para reduzir ou prevenir as alterações nocivas do DM1; sendo necessária a utilização de insulina exógena. Isso pode ser exemplificado ao constatar a maior área média dos ductos estriados dos ratos do grupo diabético tratado D-GLN-TRE em relação ao do grupo DSS ($p > 0,001$), onde observou-se

que a ação combinada entre L-GLN e insulina Tresiba[®] preveniu significativamente a redução da área ductal. A preservação da área média dos ductos estriados observada no grupo diabético tratado D-GLN-TRE também foi evidenciada em relação aos demais grupos diabéticos, além de ter sua morfometria equiparada ao grupo CSS ($p > 0,05$).

A literatura ainda atenta para o fato da L-GLN aumentar síntese de glutathione e intensificar efeitos antioxidantes deletérios na estrutura glandular e da insulina aumentar de forma relevante 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). Nos animais tratados com a terapia combinada, o parênquima da glândula parótida mostrou-se menos acometido pelos efeitos nocivos metabólicos e oxidativos desta afecção. Desse modo, o efeito benéfico da associação destas substâncias deve-se a ampla utilização da L-GLN na atenuação do estresse oxidativo e, também, da insulina na manutenção da estrutura do parênquima e função normal desta glândula.

Conclusão

O tratamento com L-glutamina e insulina combinadas, nos animais diabéticos (D-GLN-TRE) sinalizou equiparação da área média dos ductos estriados aos dos ratos do grupo normoglicêmico (CSS). Além disso, o maior tamanho dos ductos estriados dos ratos do grupo diabético tratado D-GLN-TRE em relação ao do grupo DSS e aos demais grupos diabéticos, mostrou que a ação combinada entre L-GLN e insulina Tresiba[®] foi capaz de prevenir significativamente as alterações morfoestruturais desses ductos, inerentes ao quadro diabético.

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. Washington, v. 245, p. 431-437, 1983.

BEHROUJ H., ZIAMAJIDI N., ABBASALIPOURKABIR R., GOODARZI M.T., SAIDIJAM M. Hypoglycemic and antioxidant effects of oral administration of garlic extract in the livers of type 1 diabetic rats. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology. Paris, v. 2018, p. 245-250, 2018.

MONTEIRO, M.M., D'EPIRO, T.T., BERNARDI, L., FOSSATI, A.C., SANTOS, M.F., LAMERS, M.L. Long- and short-term diabetes mellitus type 1 modify young and elder rat salivary glands morphology. Archives of Oral Biology, Porto Alegre, v. 73, p. 40-47, 2016.

REIS, R.S.; LEMOS, L.I.C; PEDROSA, L.F.C; MEDEIROS, K.C.P; ABREU, B.J.; MAGALHÃES, C.P.; JÚNIOR, F.C.A.A; FARIAS, N.B.S; MEDEIROS, J. P. Influence of upplementation with methanolic extract of *Allium cepa* L. and S-Methyl-Cysteine on alterations caused by type 1 diabetes mellitus in

parotid glands of Wistar rats. Brazilian Journal of Development. Curitiba, v. 6, p. 51224-51235, 2020.

SUCHOJ, M., ALENCAR, A. P. Insulina degludeca em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1. Revista Saúde Univeritas Guarulhos. Guarulhos, v. 12, p. 47-53, 2018.