

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DOS ÁCINOS SEROSOS DA GLÂNDULA SALIVAR SUBMANDIBULAR DE RATOS DIABÉTICOS SUPLEMENTADOS COM L-GLUTAMINA E SUBMETIDOS À INSULINOTERAPIA.

Yasmin Morais Zanin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Alberto José Pelegrini, Anderson Jorge de Oliveira da Rocha, Silvia Carla Santana Ferreira Azevedo, Eder Paulo Belato Alves, Angela Maria Pereira Alves, Marli Aparecida Defani (Orientadora), e-mail: madefani@uem.br

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

Área e sub-área do conhecimento: Morfologia

Palavras-chave: glândula submandibular, antioxidante, insulinoterapia.

Resumo:

Este estudo teve por objetivo analisar a morfometria dos ácinos serosos da glândula salivar submandibular de ratos diabéticos suplementados com L-glutamina e submetidos à insulinoterapia. Para tal, vinte e cinco ratos foram distribuídos em cinco grupos (n=5): 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). Para a análise morfométrica, foi mensurada a área (μm^2) de 100 ácinos serosos por rato, perfazendo o total de 500 ácinos em cada grupo estudado; expressando-se os resultados da área acinar em μm^2 por grupo. Houve redução da área acinar média nos ratos dos grupos diabéticos D-GLN-S, D-S-TRE e DSS, quando comparados aos do grupo CSS ($p < 0,001$). Os ratos do grupo D-GLN-TRE evidenciou maior área média ($p < 0,001$) em relação a dos ratos dos grupos D-GLN-S, D-S-TRE e DSS, bem como equiparou-se à do grupo CSS ($p > 0,05$). Estes dados apontam para o efeito protetor da L-glutamina combinada com a insulina Tresiba[®] ao prevenir a atrofia das células acinares serosas da glândula submandibular de ratos diabéticos.

Introdução

As glândulas salivares, responsáveis pela produção de saliva, são importantes para a manutenção da saúde e da integridade funcional e estrutural da cavidade oral. Sendo uma solução hipotônica, a saliva é essencial nos processos de fala, deglutição, tamponamento para proteger os dentes de cáries; lubrificação, proteção das mucosas, sensibilidade gustativa, além de possuir atividade antimicrobiana e de reparo tecidual; no tubo digestório, é responsável pelo funcionamento esofágico,

pela digestão e proteção das células gástricas. A secreção salivar depende do estado geral de hidratação e pode ser afetada por doenças como o *Diabetes mellitus*. As modificações observadas nas glândulas salivares de indivíduos e animais diabéticos se relacionam em sua maioria, com o aumento do estresse oxidativo e redução dos níveis de antioxidantes no organismo.

Algumas substâncias produzem efeitos benéficos reduzindo as alterações causadas pelo diabetes, entre elas a L-glutamina que participa de vários processos metabólicos importantes servindo de substrato para a formação da glutatona, um potente antioxidante endógeno (ALVES, et al., 2010)

Considerando os benefícios da L-glutamina por sua capacidade antioxidante, entre outros efeitos benéficos sobre os sistemas orgânicos; este estudo teve por objetivo analisar a morfometria dos ácinos serosos da glândula salivar submandibular de ratos diabéticos suplementados com L-glutamina e submetidos à insulino-terapia.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 25 ratos adultos, da linhagem Wistar com 50 dias de idade, (CEUA nº 9584021115), e foram distribuídos em cinco grupos (n=5): 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 submandibulares 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 serosos capturadas por câmera 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 média acinar por grupo.

Os dados foram submetidos a testes estatísticos apropriados, como análise de variância 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

Houve redução da área média dos ácinos serosos das glândulas submandibulares (p<0,001) nos ratos dos grupos DSS (172,2 ± 1,88 µm²), D-GLN-S (178,3 ± 1,83 µm²) e D-S-TRE (178,4 ± 1,91µm²) quando comparada a dos ratos do grupo CSS (190,5 ± 1,20 µm²), (Figura 1).

No entanto, a área média dos ácinos serosos dos ratos do grupo D-GLN-TRE (188,2 ± 1,81µm²) não apresentou diferença em relação ao grupo CSS (p>0,05), no

entanto evidenciou-se maior área média ($p < 0,001$) em relação a dos ratos dos grupos D-GLN-S, D-S-TRE e DSS.

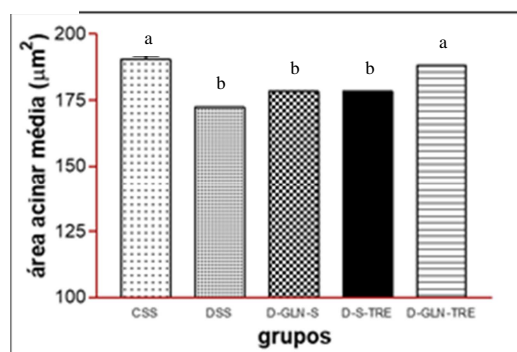


Figura 1. Área média dos ácinos serosos da glândula submandibular dos ratos dos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE) e diabético com injeção subcutânea de insulina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

Letras iguais sobre as colunas dos grupos indicam: $p > 0,05$; letras diferentes indicam: $p < 0,001$.

Em quadros de hiperglicemia crônica, os ácinos das glândulas salivares expressam alterações degenerativas que podem se manifestar como atrofia acinar a qual também foi verificada em nosso experimento (Figura 1) quando os ratos dos grupos diabéticos D-GLN-S, D-S-TRE e DSS foram comparados aos do grupo CSS ($p < 0,001$). No estado diabético, pode haver depleção crônica de sódio nas células acinares, levando a uma desidratação das mesmas; redução e/ou modificação no conteúdo e síntese de proteínas, bem como distúrbio no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos. Ainda, dentre outros fatores elencados que concorrem para a redução das áreas acinares desses animais diabéticos, estariam: reação inflamatória grave devido à presença de células mononucleares no parênquima glandular (HU et al., 1992) e a intensificação do estresse oxidativo. Por outro lado, observou-se maior área acinar no grupo D-GLN-TRE ($188,2 \pm 1,81$) quando comparada aos demais grupos diabéticos tratados ou não ($p < 0,001$); inclusive sua área acinar média equiparou-se a dos ratos do grupo CSS ($p > 0,05$). Assim podemos inferir que a ação combinada da L-GLN e insulina Tresiba® foi benéfica para a preservação dos ácinos serosos da glândula submandibular, uma vez que a glutamina além de participar de vários processos metabólicos importantes para o organismo, atua como transportador primário de nitrogênio e carbono nos tecidos (YI, et al., 2015), sendo importante para a síntese proteica e servindo de substrato para a formação da glutatona, um potente antioxidante endógeno (ALVES, et al., 2010). Além disso, a ação da insulina reforça a constatação desta condição, e corrobora o estudo de Watanabe et al, (2001) que ao investigarem os efeitos da administração de insulina sobre o parênquima das glândulas salivares de ratos com DM induzido por estreptozotocina, verificaram normalização na secreção e reversão do estado degenerativo parenquimal destas glândulas.

Conclusões

Os dados obtidos apontam para o efeito protetor da L-glutamina combinada com a insulina Tresiba[®] ao prevenir a atrofia dos ácinos serosos da glândula submandibular de ratos diabéticos.

Agradecimentos

Ao PIBIC/UEM e à Fundação Araucária.

Referências

ALVES, E.P.; ALVES, A.M.P.; PEREIRA, R.V.; DE MIRANDA NETO, M.H.; ZANONI, J.N. Immunohistochemical study of vasoactive intestinal peptide (VIP) enteric neurons in diabetic rats supplemented with L-glutamine. *Nutr Neurosci.* 13:1, pp. 43-51, 2010.

HU, Y.; NAKAGAWA, Y.; PURUSHOTHAM, K.R.; HUMPHREYS-BEHER, M.G. Functional changes in salivary glands of autoimmune disease-prone NOD mice. *Am J Physiol.* 263(4 Pt 1):E607-14, 1992.

KAMATA, M.; SHIRAKAWA, M.; KIKUCHI, K.; MATSUOKA, T.; AIYAMA, S. Histological analysis of the sublingual gland in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 84(2):71-6, 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. *J. Diabetes Res.* vol. 2016, 2016.

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.

WATANABE, M.; YAMAGISHI-WANG, H.; KAWAGUCHI, M. Lowered susceptibility of muscarinic receptor involved in salivary secretion of streptozotocin-induced diabetic rats. *Jpn J Pharmacol.* 87(2):117-24, 2001.

YI, D.; HOU, Y.; WANG, L.; OUYANG, W.; LONG, M.; ZHAO, D.; DING, B.; LIU, Y.; WU, G. L-Glutamine enhances enterocyte growth via activation of the mTOR signaling pathway independently of AMPK. *Amino Acids.* 47:1, pp. 65–78, 2015.