

## **ANÁLISE QUANTITATIVA DAS UNIDADES SECRETORAS MUCOSAS DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR DE RATOS DIABÉTICOS SUPLEMENTADOS COM L-GLUTAMINA E SUBMETIDOS À INSULINOTERAPIA.**

Yasmin Morais Zanin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Alberto José Pelegrini, Kamilly Vitória de Siqueira, Eder Paulo Belato Alves, Fernanda Isabely Morgan Magalhães, Marli Aparecida Defani (Orientadora), e-mail: [maDefani@uem.br](mailto: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**

Objetivou-se neste estudo, analisar quantitativamente as unidades secretoras mucosas 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<sup>®</sup> (D-S-TRE) e diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba<sup>®</sup> (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<sup>®</sup> (5 U/kg de massa corporal). Para a análise quantitativa, foram quantificadas as imagens das unidades secretoras mucosas de 20 campos por animal de cada grupo. Os dados obtidos da análise quantitativa das unidades secretoras mucosas não mostraram diferença significativa na densidade acinar entre todos os grupos analisados (p>0.05). Esses dados permitem inferir que o DM não promoveu alterações na densidade média das unidades secretoras mucosas da glândula submandibular e que a combinação da L-glutamina e insulina Tresiba<sup>®</sup> ou a forma isolada de cada uma, também não interferiram na arquitetura histomorfológica do parênquima glandular.

### **INTRODUÇÃO**

As glândulas salivares são responsáveis pela manutenção da saúde e da integridade funcional e estrutural da cavidade oral. A saliva é caracterizada por ser uma solução hipotônica e essencial nos processos de fala, deglutição; lubrificação, proteção das mucosas e na 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*, esta doença causa efeitos deletérios no parênquima glandular, alterando sua estrutura, morfologia e fisiologia. Essas alterações têm sido associadas ao aumento do estresse oxidativo presente no quadro diabético. Substâncias com propriedades antioxidantes como a L-Glutamina (GLN) tem demonstrado efeitos benéficos para reduzir o desequilíbrio oxidativo; participando de vários processos metabólicos importantes servindo de substrato para a formação da glutathione, um potente antioxidante endógeno. Além disso, frente à necessidade de abarcar novos tratamentos para esta patologia; é de suma relevância que medicamentos como os análogos da insulina basal estejam sendo desenvolvidos, e cuja finalidade é a melhora do controle glicêmico a longo prazo. A insulina Tresiba® tem a mesma sequência de aminoácidos que a insulina humana, mas com pequenas modificações em sua composição química. Assim, a dosagem diária deste análogo insulínico resulta em picos baixos que diminuem a variabilidade intra-individual e as concentrações plasmáticas que se tornam menos criticamente dependentes do tempo das injeções. Deste modo, objetivou-se analisar quantitativamente as unidades secretoras mucosas 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), 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.

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

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através da análise quantitativa das unidades secretoras mucosas (Figura 1) da glândula submandibular não mostraram diferença significativa entre todos os grupos analisados ( $p>0.05$ ): normoglicêmicos (CSS), diabéticos (DSS), diabéticos suplementados com L-GLN (D-GLN-S), diabéticos com insulina Tresiba® (D-S-TRE) e diabéticos suplementado com L-GLN e insulina Tresiba® (D-GLN-TRE).

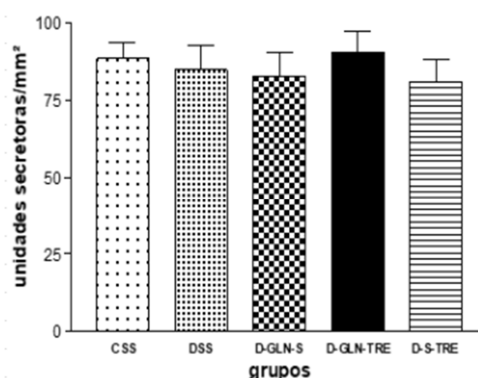


Figura 1 – Densidade acinar média das terminações secretoras mucosas da glândula submandibular de ratos nos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-S-TRE) e diabético suplementado com L-GLN e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

A perda numérica de ácinos das glândulas salivares, em decorrência do estresse oxidativo em animais com diabetes crônico é notoriamente frequente; sobretudo na glândula parótida, quando comparada às outras duas glândulas salivares (KNÁS et al., 2016). Em contrapartida, a literatura que versa sobre os efeitos do diabetes sobre a glândula sublingual, reporta que a mesma é a menos afetada por essa patologia (MORRIS et al. 1992; KAMATA et al., 2007). Alguns fatores tem sido aventados para explicar as causas desta ação diferencial do diabetes sobre o parênquima das diferentes glândulas, e há de se considerar que alguns fatores sejam atribuídos à tal suscetibilidade, tais como: 1) constituintes de membrana celular ou composição da secreção, de acordo com a sensibilidade de resposta à glicose circulante; 2) alternância no suprimento sanguíneo devido às alterações vasculares; 3) ação dos receptores de insulina que estariam ligados à modificação da sensibilidade celular; 4) vulnerabilidade a modificações metabólicas de cada glândula (LILIU et al., 2015); 5) danos estruturais nos nervos autonômicos (ANDERSON et al., 1989).

Uma das principais diferenças entre a glândulas submandibular e sublingual é a distribuição acinar; onde a primeira é composta principalmente por ácinos serosos em relação aos mucosos, sendo o agente diferencial em relação à glândula sublingual, da qual há predomínio de ácinos mucosos. Considerando que nosso estudo foi direcionado para o componente mucoso da glândula submandibular, é de se esperar que o comportamento histomorfológico em ambas as glândulas apresentem o mesmo padrão tecidual. Tanto que, os resultados obtidos em nosso

estudo, não apontaram para nenhuma alteração na densidade média das unidades secretoras mucosas, quando se comparou todos os grupos de ratos diabéticos tratados ou não (DSS, D-GLN-S, D-GLN-TRE e D-S-TRE) com os ratos do grupo controle (CSS) (Figura 1); demonstrando que, a exemplo do que ocorre com os ácinos mucosos da sublingual, as unidades secretoras mucosas da glândula submandibular de todos os grupos de ratos diabéticos; também mostraram-se menos acometidas pelos efeitos nocivos desta patologia.

## CONCLUSÕES

Os dados obtidos denotam que a ação isolada e/ou combinada da glutamina com a insulina Tresiba® não exibiu efeito na densidade acinar média da glândula submandibular.

## AGRADECIMENTOS

PIBIC/UEM e à Fundação Araucária

## REFERÊNCIAS

ANDERSON, L.C.; GARRETT, J.R.; THULIN, A.; PROCTOR, G.B. Effects of streptozocin-induced diabetes on sympathetic and parasympathetic stimulation of parotid salivary gland function in rats. *Diabetes*. 38 (11):1381-9, 1989.

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.

LILLIU, M.A.; SOLINAS, P.; COSSU, M.; PUXEDDU, R.; LOY, F.; ISOLA, R.; QUARTU, M.; MELIS, T.; ISOLA, M. Diabetes causes morphological changes in human submandibular gland: a morphometric study. *J Oral Pathol Med*. 44:(4), 291-5, 2015.

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. *Arch Oral Biol*. 37(6):489-94, 1992