

Efeitos da suplementação com L-glutamina (GLN) e da insulinoterapia sobre a densidade média dos ductos excretores da glândula submandibular de ratos diabéticos

Alberto José Pelegrini (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Yasmin Morais Zanin, Kamilly Vitória de Siqueira, Fernanda Isabely Morgan Magalhães, Angela Maria Pereira, Eder Paulo Belato Alves (ORIENTADOR), e-mail: epbalves@uem.br

Ciências Biológicas e Morfologia

Palavras-chave: parótida, antioxidante, hiperglicemia, insulina

RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina (GLN) e da insulinoterapia sobre a densidade média dos ductos excretores da glândula submandibular de ratos diabéticos. Vinte e cinco ratos machos da espécie Wistar 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 Lglutamina 400 mg/Kg (gavagem), e/ou injeção subcutânea de solução salina ou Insulina Tresiba[®] (5 U/kg de massa corporal). Os ratos do grupo diabético (DSS) apresentaram relação na densidade média dos ductos excretores em relação aos do grupo normoglicêmico (CSS) ($p < 0.05$). Não houve diferença significativa para os demais grupos diabéticos tratados (D-GLN-S, DS-TRE e D-GLN-TRE) quando comparados ao grupo (CSS) ($p > 0,05$) e com o grupo diabético (DSS). A administração isolada e ou combinada da L-glutamina e da insulina Tresiba[®] nos ratos diabéticos foi efetiva na redução das injúrias geradas pelo diabetes, uma vez que os dados obtidos foram equiparados aos dos ratos normoglicêmicos.

INTRODUÇÃO

As glândulas salivares desempenham um papel crucial na produção da saliva, que é essencial para a digestão e também para manutenção da saúde bucal. No entanto, essas glândulas podem ser afetadas pelos efeitos negativos do *Diabetes Mellitus* (DM), que resulta em alterações na sua estrutura, morfologia e funcionamento. Essas alterações se manifestam como redução no número de ácinos e de outros componentes do tecido glandular, incluindo os ductos excretores. No entanto, o tratamento com antioxidantes como a L-Glutamina (GLN), tem se mostrado eficaz na prevenção ou neutralização da formação as espécies radiculares oriundas do estresse oxidativo, minimizando ou evitando as complicações típicas do DM. Ainda, frente às necessidades impostas para o tratamento desta patologia; surge a insulina Tresiba[®] que é um análogo de insulina basal, e 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. Frente o exposto, objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina (GLN) e da insulinoterapia sobre a densidade média dos ductos excretores da glândula submandibular de ratos diabéticos

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 25 ratos adultos, 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 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 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

Houve redução na densidade média dos ductos excretores da glândula submandibular dos ratos do grupo diabético (DSS) relação aos do grupo (CSS) ($p < 0.05$). Para os demais grupos diabéticos tratados (D-GLN-S, DS-TRE e D-GLN-TRE) a análise quantitativa não evidenciou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao grupo controle (CSS). O mesmo resultado foi obtido ao compará-los ao grupo diabético (DSS), Figura 1.

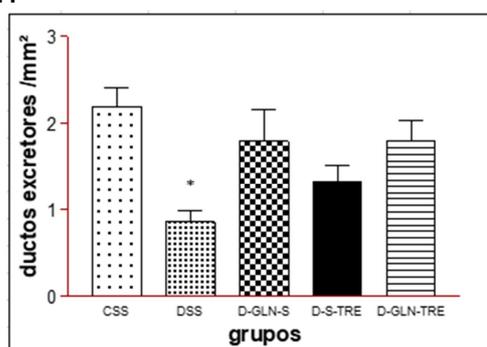


Figura 1 – Densidade média dos ductos excretores da glândula submandibular de ratos nos grupos: Normoglicêmico (CSS); diabético (DSS); diabético suplementado com L-GLN (D-GLN-S); diabético suplementado com L-GLN e com injeção subcutânea de insulina Tresiba® (D-GLN-TRE) e diabético e com injeção subcutânea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

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

O envelhecimento fisiológico, o uso prolongado de medicamentos sistêmicos, a aplicação de tratamento com radiação ou radioisótopos, as patologias glandulares como sialadenite e sialolitíase, e as doenças sistêmicas, como síndrome de Sjögren e Diabetes Mellitus (DM) podem afetar a morfofisiologia do parênquima das glândulas salivares. Contudo, no DM, a glândula parótida é mais susceptível à atrofia e perda numérica de ácinos e ductos causada pelas complicações características do diabetes, quando comparada às outras duas glândulas salivares maiores (KNÁS et al., 2016).

Em nosso estudo, a análise da densidade média dos ductos excretores da glândula submandibular no grupo diabético (DSS) mostrou-se reduzida em relação ao do grupo CSS ($p < 0.05$). El Sadik et al., (2018) constataram atrofia nos ductos estriados da glândula submandibular, cujas células continham muitos vacúolos ao redor de suas células e picnose em seus núcleos. Embora em nosso estudo, tenha sido analisado os ductos excretores, e entendendo que há confluência dos ductos estriados até o ducto excretor e considerando que houve redução dos ductos estriados (dados não publicados), em outro estudo realizado por nossa equipe utilizando a mesma condição experimental, é de se esperar que esta redução na densidade dos ductos excretores dos ratos diabéticos sejam em decorrência das injúrias que afetam as células ductais como um todo. Asseri, et al.; (2022), relataram obstrução ductal em glândulas submandibulares de ratos e camundongos diabéticos, como agente causal de apoptose de células acinares; bem como à expressão suprimida das aquaporinas ductais (AQP4 e AQP5) que desempenham um papel importante no mecanismo de secreção de saliva. A administração de insulina em ratos diabéticos regulou positivamente as expressões de AQP1, AQP5 e AQP8 nas glândulas submandibulares, desempenhando um papel protetor (CUI et al., 2021) na função secretora dessas glândulas.

Nos grupos diabéticos tratados (D-GLN-S, DS-TRE e D-GLN-TRE), não houve redução numérica significativa ($p > 0,05$) dos ductos excretores quando comparados aos dos grupos controle (CSS) e diabético (DSS), sinalizando uma equiparação da densidade destes ductos excretores entre os grupos. Isso demonstra que nos animais tratados com a terapia combinada ou apenas com a insulina ou GLN, os ductos excretores da glândula submandibular mostraram-se menos acometidos pelos efeitos inflamatórios e oxidativos nocivos desta patologia. Este dado nos permite inferir que os efeitos benéficos destas substâncias foram destacados pela efetiva contribuição da L-GLN na atenuação tanto do estresse oxidativo como dos biomarcadores inflamatórios (JAFARI-VAYGHAN, et. al., 2020); bem como pela ação da insulina na manutenção da estrutura parenquimal desta glândula; elencando-as como terapias adjuvantes para amenizar as complicações do diabetes que repercutem sobre as glândulas salivares.

CONCLUSÃO

A administração isolada e ou combinada da L-glutamina e da insulina Tresiba® nos ratos diabéticos foi efetiva na redução das injúrias geradas pelo diabetes, uma vez que estas substâncias atuaram de forma relevante sobre a preservação da densidade dos ductos excretores da glândula salivar submandibular, equiparando-se aos do grupo normoglicêmico (CSS).

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC/UEM, à Fundação Araucária, ao meu orientador e demais integrantes do projeto.

REFERÊNCIAS

ASSERI, S.M.; ELSHERBINY, N.M.; EL-SHERBINY, M.; SHERIF, I.O.; ALSAMMAN, A.M.; MAYSARAH, N.M.; ELSHERBINI, A.M. Glycyrrhizic acid ameliorates submandibular gland oxidative stress, autophagy and vascular dysfunction in rat model of type 1 diabetes. *Sci Rep.* 12: 725, 2022

CUI, F.; HU, M.; LI, R.; LI, B.; HUANG, D.; MA, W.; JIA, X.; LV, Z. Insulin on changes in expressions of aquaporin-1, aquaporin-5, and aquaporin-8 in submandibular salivary glands of rats with Streptozotocin-induced diabetes. *Int J Clin Exp Pathol.* 1;14(2):221-229, 2021

EL SADIK, A.; MOHAMED, E.; EL ZAINY, A. Postnatal changes in the development of rat submandibular glands in offspring of diabetic mothers: Biochemical, histological and ultrastructural study. *PLoS One.* 10;13(10):e0205372, 2018

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.