



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico  
**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

## **EFEITO DO TRATAMENTO COM AMINOÁCIDO GLUTAMINA EM MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES MELLITUS<sup>1</sup>**

**Maciel Alencar Bruxel<sup>2</sup>, Pauline Goettems<sup>3</sup>, Mirna Stela Ludwig<sup>4</sup>, Volnei Almeida Teixeira<sup>5</sup>, Paulo Ivo Homem De Bittencourt Jr<sup>6</sup>.**

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional Desenvolvida como Atividade de Iniciação Científica no Departamento de Ciências da Vida – DCVida, pertencente ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF;

<sup>2</sup> Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI; mabruxel@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI;

<sup>4</sup> Professor do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI; ludwig@unijui.edu.br

<sup>5</sup> Professor do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI;

<sup>6</sup> Professor do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências da Saúde da UFRGS; pauloivo@ufrgs.br

### Resumo

O diabetes mellitus tipo I (DM1) pertence a um grupo de doenças autoimunes que afetam cerca de 10% da população mundial de países desenvolvidos. Resulta da destruição das células  $\beta$  pancreáticas em resposta a uma desordem da imunorregulação, onde a ação de citocinas pró-inflamatórias sobrepujam as ações de citocinas anti-inflamatórias. O aminoácido glutamina está diretamente ligado à resposta inflamatória na célula  $\beta$ , uma vez que é precursor direto na síntese de glutathiona (GSH) sendo, portanto, responsável pela manutenção do estado redox intracelular e, conseqüentemente, pela regulação da produção de citocinas, apoptose e sobrevivência celular. Assim, neste trabalho foi proposto avaliar a potencialidade do aminoácido glutamina na proteção das células  $\beta$  em modelo experimental de diabetes mellitus, induzido por estreptozotocina. Foram utilizados 45 ratos Wistar, onde 30 receberam injeção IP de estreptozotocina, dos quais 14 foram suplementados com dose única de L-glutamina, por gavagem. A glicemia e peso foram avaliados 24 horas após o tratamento. As ilhotas pancreáticas foram preparadas para análise histológica por meio dos métodos de coloração de Azan Gomori (Azan G.) e Eosina-Hematoxilina (HE). Os resultados mostram que os animais tratados com estreptozotocina apresentam vacuolização e degranulação das ilhotas pancreáticas, quadro hiperglicêmico e perda de peso, após 24 horas após os tratamentos, não havendo diferença significativa nos parâmetros avaliados nos animais suplementados com L-glutamina neste período.

Palavras chave: glicemia, estreptozotocina, insulite, análise histológica

### Introdução

O diabetes *mellitus* tipo I (DM1) resulta da destruição das células  $\beta$  secretoras de insulina, das ilhotas de Langerhans do pâncreas, por um processo mediado pelo sistema imune. Esta resposta imune adversa é induzida e promovida pela interação de fatores genéticos e ambientais (SOLIMENA *and* De CAMILE, 1996), pertencendo a um grupo de





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

doenças autoimunes que afetam cerca de 10% da população mundial de países desenvolvidos (ZIMMET *et al.*, 2001). A doença caracteriza-se por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina ou ambos e produz sintomas que incluem poliúria, polidipsia, perda de peso e concentração plasmática de glicose >200mg/dl (DEJKHAMRON *et al.*, 2007).

Acredita-se que a resposta auto-imune contra as células  $\beta$  das ilhotas possa resultar de uma desordem da imunorregulação. De acordo com este conceito, as células T auxiliares (linfócitos T1) e suas citocinas produzidas (tipo 1) (interleucina 2, Interferon Gama, Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ ), sobrepujam as ações imunorregulatórias supressoras dos linfócitos Th2 e suas citocinas (tipo 2): IL-4 e IL-10. A produção destas citocinas, envolvidas na resposta imune, pode ser modulada por vários fatores como exercício físico, hormônios de estresse, baixo nível energético e estresse oxidativo (CANNON, 2000; PARISH *et al.*, 2009).

Vírus e certas substâncias tóxicas às células  $\beta$  também podem iniciar uma inflamação auto-imune progressiva nas ilhotas pancreáticas (insulite) (PIMENTA *et al.*, 1997). A inflamação contribui para a indução e amplificação da reação imunológica contra as células  $\beta$  e, em estágios mais avançados, para a estabilização e manutenção da insulite, levando a destruição celular e consequente vacuolização da ilhota pancreática (MEDZHITOV, 2008).

As células  $\beta$  pancreáticas, comparadas a outros tipos celulares, apresentam alto risco para a ocorrência de dano oxidativo, com aumento da suscetibilidade para morte celular programada (apoptose). Este maior risco pode ser devido à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e defesas antioxidantes deficientes (NEWSHOLME *et al.*, 2007), como a reduzida atividade da enzima glutathiona peroxidase (MALLAISE *et al.*, 1982).

A glutamina é o aminoácido mais abundante no plasma e nos tecidos e está presente em muitas proteínas. Seu maior sítio produtor é o músculo esquelético, contudo, a produção muscular desse aminoácido não necessariamente supre todas as necessidades do organismo, e em inúmeras condições patológicas tais como câncer e infecções, a concentração plasmática de glutamina encontra-se reduzida (CURI *et al.*, 2000b). Este aminoácido apresenta função essencial na promoção e manutenção do funcionamento de vários órgãos e células, incluindo as células  $\beta$  pancreáticas (CURI *et al.*, 2000a).

A suplementação com glutamina pode oferecer proteção contra o estresse e dano celular. Células de ilhotas, isoladas e cultivadas com glutamina durante um período de 24 horas, apresentaram aumento da expressão de HSP70 e do conteúdo de glutathiona (GSH), o qual se correlaciona com a atenuação da injúria celular induzida por citocinas pró-inflamatórias (NEWSHOLME *et al.*, 2011). O efeito terapêutico deste nutriente também foi investigado em ratos Sprague-Dawley com colite experimental, os quais receberam glutamina na dose oral diária de 0,75g/kg de peso, durante 7 dias. Os resultados deste estudo demonstram um potencial terapêutico da glutamina na atenuação de sintomas do processo inflamatório e indicam o envolvimento de proteínas de choque térmico na ação protetora deste aminoácido, considerando ter havido aumento na expressão de HSP25 e HSP70, de maneira dose-dependente, após o tratamento com glutamina (XUE *et al.*, 2011).

Em situação normal, a glutamina é fonte de arginina por meio da conversão inter-tecidual através dos rins, chegando às células  $\beta$  pancreáticas onde é fonte de óxido nítrico (NO) (CURI *et al.*, 2000a). Numa situação onde possa vir a ocorrer déficit na produção de



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

glutamina muscular (ou ingestão diminuída pela dieta) e que coincida com uma resposta imunoinflamatória direcionada à célula  $\beta$ , o metabolismo da glutamina é todo direcionado para a geração de arginina em detrimento da síntese de glutathione (GSH), principal elemento redox-protetor das células  $\beta$  deixando as células  $\beta$  pancreáticas em situação de maior fragilidade ao dano oxidativo (KRAUSE & HOMEM DE BITTENCOURT, 2008).

Tendo em vista a grande incidência do Diabetes Mellitus e a importância da glutamina enquanto um aminoácido essencial na promoção e manutenção do funcionamento de vários órgãos e células, incluindo as células  $\beta$  pancreáticas, se avaliou, neste trabalho, a potencialidade terapêutica do aminoácido glutamina na proteção das células  $\beta$  pancreáticas, em modelo experimental de diabetes *mellitus* induzido por estreptozotocina.

### Metodologia

**Animais:** foram utilizados 45 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*; variedade *albinus*), machos, com idade entre 10 e 12 semanas, obtidos junto ao Biotério da UNIJUI. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno sob um ciclo claro/escuro de 12/12 h e temperatura ambiente de  $22\pm 2^\circ\text{C}$ , recebendo, *ad libitum*, água e dieta 22% de proteínas para ratos de laboratório (Nuvilab CR-1).

**Materiais:** PBS- *Phosphate-buffered salin* (NaCl 136,8 mM, KCl 2,7 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,9 mM e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6,4 mM em água destilada, pH 7,4); L-glutamina – Sigma-Aldrich; Estreptozotocina- Sigma-Aldrich; Tampão Citrato 10mM (0,19 g ácido cítrico monoidratado e 0,29g de citrato de diidratado, dissolvidos em água deionizada); Heparina sódica-HEPAMAX-S Laboratório Blaüsiegel, 5.000 U.I/ml; Fluoreto de Sódio 4% (Laboratório Synth);

**Modelo experimental de diabetes:** o diabetes mellitus foi induzido por estreptozotocina, injetada via intraperitoneal (IP), em dose única de 100 mg/kg, preparada em Tampão Citrato de Sódio 10 mM pH 4,2, com volume médio injetado de 50  $\mu\text{L}$ /100g peso. Após a indução do diabetes os animais receberam solução glicosada a 30%. A estreptozocina é um agente químico com potencial alquilante, cujo efeito produz inibição da secreção de insulina, causando diabetes mellitus tipo 1. O efeito diabetogênico deste agente químico pode também ser devido à geração de espécies reativas de oxigênio intracelular (LENZEN, 2008). Os animais controle (não diabéticos) receberam injeção intraperitoneal de Tampão Citrato, com volume médio injetado de 50  $\mu\text{L}$ /100g peso.

**Grupos experimentais:** os 45 animais foram divididos em quatro grupos experimentais como segue: grupo controle (PBS), n=8; grupo suplementado com glutamina (GLN) n=7; grupo diabético (STZ) n=16; grupo diabético suplementado com glutamina (STZ+GLN) n=14.

**Tratamentos:** os animais dos grupos (GLN) e (STZ+GLN) foram suplementados com dose única de 1g/kg de peso corpóreo (500 $\mu\text{L}$  de uma solução a 200mg/mL para cada 100g de peso corpóreo do rato) do aminoácido L-glutamina, por via oral (gavagem), administrada imediatamente após a da indução do diabetes. O aminoácido foi dissolvido em PBS. Os animais dos grupos (PBS) e (STZ) receberam PBS por via oral (500 $\mu\text{L}$  de uma solução para cada 100g de peso corpóreo do rato).



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

*Dosagem da concentração plasmática de glicose:* após o período experimental de 24 horas e 12 horas de jejum, foi determinada a glicemia com glicosímetro Optium Xceed da Abbott, em punção da parte distal da cauda dos ratos.

*Coleta de material:* após aferição da glicemia os animais foram mortos por decapitação em guilhotina para roedores, sem anestesia, para coleta de sangue e do pâncreas.

*Análise histológica:* o pâncreas coletado foi imediatamente imerso em fixador Methacarn - Methanol Carnoy (60% metanol absoluto, 30% clorofórmio, 10% ácido acético glacial) e mantido por um período de 4 horas; o material resultante foi submetido a inclusão em parafina e cortado em micrótomo rotativo semi-eletrônico Leica RM2145 em cortes semi-seriados de 6 $\mu$ m. As lâminas foram coradas segundo método Eosina-Hematoxilina (HE), que apresenta padrões de coloração caracterizados nos constituintes basófilos e acidófilos do citoplasma (azul em núcleos e regiões acidófilas, rosa nas regiões basófilas e fibras colágenas), e pelo método de Azan-Gomori Mallory-Heidenhain (Azan G.) modificado (BRUXEL *et al.*, 2010 dados ainda não publicados) que faz coloração diferencial de células alfa ( $\alpha$ ) que aparecem em azul e beta ( $\beta$ ) que coram-se em rosa nas ilhotas de Langerhans do pâncreas.

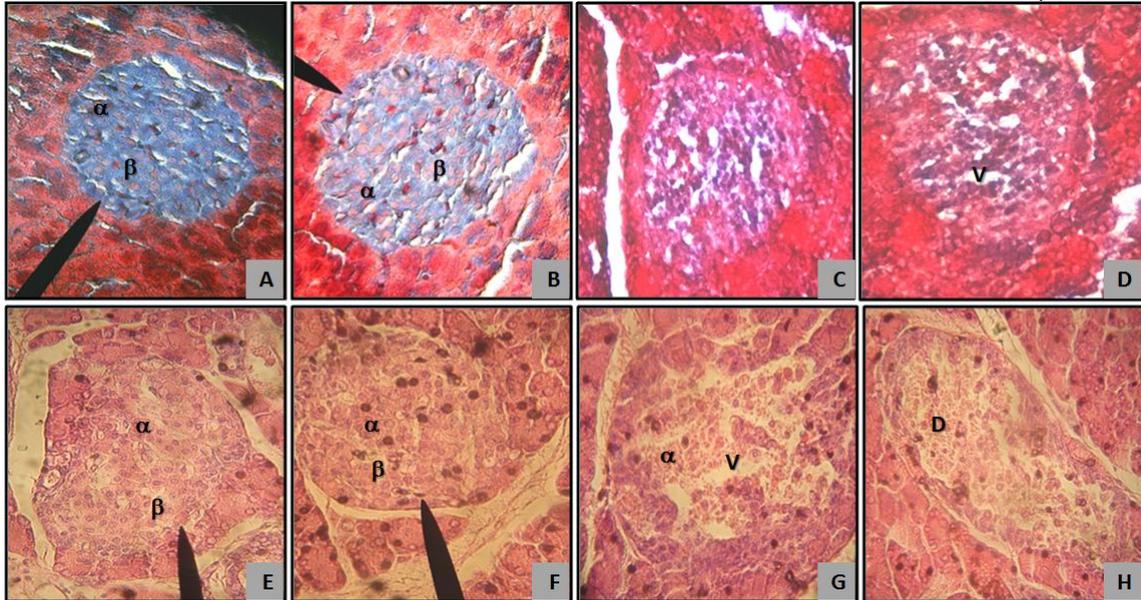
*Análise estatística:* o tratamento estatístico foi desenvolvido com ANOVA de uma via seguido pelo teste de Student Newman Keuls, no programa estatístico GraphPad InStat DTCG, para a variável Glicemia, e Test-T pareado para a variável Peso. Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. As diferenças são consideradas significativas para um nível de significância de, pelo menos, 5%.

## Resultados e Discussão

A glicemia dos animais controle (PBS) condiz com os valores estabelecidos para esta espécie (SANTOS *et al.*, 2010; DANTAS *et al.*, 2006; COBEA, 2004). A suplementação com glutamina não interferiu neste parâmetro bioquímico em ratos sob condições normais, não diabéticos (Figura 2). Embora este aminoácido apresente expressivas ações no metabolismo e proteção celular, estas não implicam em alterações nos níveis de glicose no sangue (ALBINO JUNIOR *et al.*, 2004).

Os efeitos gerados pela estreptozotocina nas células pancreáticas caracterizam um quadro de injúria tecidual no pâncreas dos animais diabéticos (Figura 1C, 1D, 1G e 1H) com diminuição das células beta e distorção da citoarquitetura das ilhotas, levando a uma distribuição irregular de outras células pancreáticas num processo degranulatório (Figura 2H), formando vacuolizações nas ilhotas devido à intensa lise celular (MD SHAHIDUL ISLAM, 2010), o que difere das ilhotas pancreáticas de animais não diabéticos controle (Figura 1A e 1E) e suplementados com glutamina (Figura 1B e 1F).

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico  
 Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica



**Figura 1.** Fotomicrografia de ilhotas pancreáticas de ratos não diabéticos - PBS (A, E), não diabéticos tratados - GLN (B, F), diabéticos não tratados - STZ (C, G) e diabéticos tratados - STS+GLN (D, H). Observe disposição das células  $\beta$  de forma uniforme nos grupos controle - PBS e GLN. Os danos causados pela destruição das células  $\beta$ : degranulação (D) e vacuolização (V) nas ilhotas pancreáticas aparecem tanto em diabéticos não tratados como em diabéticos tratados GLN. A destruição das ilhotas atinge >50% da massa de células  $\beta$ . Aumento  $\pm 400X$ , coloração em Azan G (A, B, C e D) e HE (E, F, G e H).

A degranulação, degeneração e necrose das ilhotas comprometem a atividade secretora das células  $\beta$  pancreáticas e conseqüentemente altera a manutenção da glicemia em níveis normais. A análise histológica das ilhotas pancreáticas coradas em Azan G (1A, 1B, 1C e 1D), permitem ratificar este evento, uma vez que a integridade das células  $\beta$  deixam de existir nestes grupos induzidos com estreptozotocina (1C e 1D).

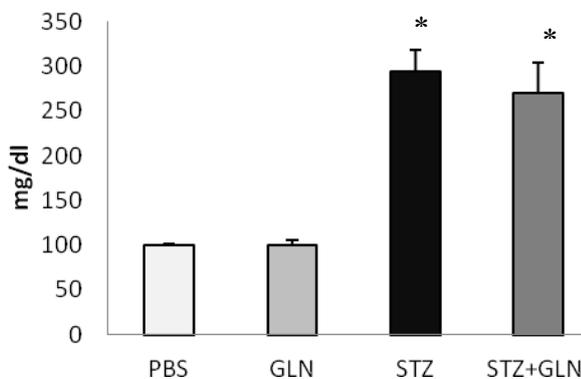
A análise comparativa do peso (Tabela 1) dos animais no período pré- e pós-indução mostra que houve uma alteração significativa neste parâmetro nos animais hiperglicêmicos (STZ e STZ+GLN). Corroboram neste sentido diversos estudos que utilizaram o mesmo modelo experimental para o estudo do diabetes mellitus (MD SHAHIDUL ISLAM, 2010; ZAFAR *et al.*, 2009; LENZEN, 2008; AKBARZADEH *et al.*, 2007).

**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico  
**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

PESO (g)							
PBS		GLN		STZ		STZ+GLN	
Pré-ind.	Pós-ind.	Pré-ind.	Pós-ind.	Pré-ind. *	Pós-ind. *	Pré-ind. "	Pós-ind. "
267	271	224	236	292	282	213	194
263	278	230	237	253	221	215	194
280	295	233	247	245	229	214	195
282	295	235	243	270	242	180	167
341	373	215	210	280	269	190	179
358	362	310	335	218	198	204	188
252	246	310	333	222	200	194	178
247	258	-	-	180	163	195	180
-	-	-	-	245	224	291	281
-	-	-	-	340	316	290	261
-	-	-	-	225	207	296	272
-	-	-	-	256	237	271	256
-	-	-	-	250	229	276	253
-	-	-	-	232	218	283	258
-	-	-	-	239	219	-	-
-	-	-	-	257	239	-	-

**Tabela 1.** Variação do peso (g) da Pré-indução (Pré-ind.) para Pós-indução (Pós-ind.), em relação à indução do diabetes *mellitus* com dose única de estreptozotocina. Grupo controle (PBS), n=8; grupo suplementado com glutamina (GLN) n=7; grupo diabético (STZ) n=16; grupo diabético suplementado com glutamina (STZ+GLN) n=14. \*p<0,05 (STZ Pré-ind. vs STZ Pós-ind.); "p<0,05 (STZ+GLN Pré-ind. vs STZ+GLN Pós-ind.) por Test-T pareado.

A indução do diabetes com estreptozotocina envolve a produção de radicais livres e, conseqüentemente, dano oxidativo às células  $\beta$  pancreáticas. Por outro lado, a glutamina se constitui em um agente terapêutico potencial no desenvolvimento das defesas antioxidantes das células beta, podendo impedir o dano oxidativo causador desta doença. A análise da glicemia dos animais dos grupos (STZ) e (STZ+GLN) indica, entretanto, que a suplementação com o aminoácido glutamina, por ocasião da indução do diabetes, não foi capaz de impedir o desenvolvimento do quadro diabetogênico induzido por estreptozotocina, no esquema terapêutico testado.





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

**Figura 2:** Valores de glicemia após 24h da indução do diabetes e da suplementação com L-glutamina; PBS n=7, GLN n=9, STZ n=23, STZ+GLN n=14; dados expressos em média  $\pm$ EP; \*p<0,05 vs PBS e GLN

Diante da potencialidade terapêutica deste nutriente (XUE et al, 2011) e de que no esquema terapêutico proposto neste trabalho os animais receberam uma única dose de L-glutamina, percebe-se como pertinente a aplicação de um esquema terapêutico crônico, com a administração de doses diárias deste nutriente por um período 7 e 30 dias, além da realização de outras análises bioquímicas e biomoleculares.

### Conclusão

A estreptozotocina é eficiente em produzir hiperglicemia já no período de 24 horas após administração de dose única, gerando sintomas desta alteração, como a perda de peso.

O esquema terapêutico com dose única de glutamina, administrada imediatamente após a indução do diabetes, não é eficaz na proteção do desenvolvimento do Diabetes Mellitus, no modelo experimental e esquema terapêutico proposto.

### Agradecimentos

Agradecimento a UNIJUI pela concessão de bolsa PIBIC/UNIJUI e apoio financeiro CNPq (processo nº CNPq 563870/2010-9) e do Laboratório de Fisiologia Celular da UFRGS.

### Referências

AKBARZADEH, A.; NOROUZIAN, D.; MEHRABI, M. R.; JAMSHIDI, Sh.; FARHANGI, A.; ALLAH VERDI, A. Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. Tehran. v. 22, n. 02, p. 60-64, 2007.

ALBINO JUNIOR, W.; SILVA, C. A.; TALIARI, K. R. S.; CANCELLIERO, K. M. Suplementação com Glutamina Melhora as Reservas de Glicogênio de Músculos de Ratos Tratados com Dexametasona. *Revista Brasileira de Educação Física e Esporte*, São Paulo, v.18, n. 03, p.283-291, Jul./Set. 2004.

CANNON J.G. Inflammatory Cytokines in no Pathological States. *News Physiology Science*. v.15, p. 298-303, 2000.

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação. *UNIFESP* – Universidade Federal de São Paulo, 2004.

CURI, R. Importância da Glutamina no Processo de Secreção de Insulina, In: Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte, cap. 8, *Ed. Sprint*; Rio de Janeiro, 2000a.

CURI, R. Metabolismo da Glutamina no Músculo Esquelético, In: Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte, cap. 9, *Ed. Sprint*; Rio de Janeiro, 2000b.

DANTAS, J.A.; AMBIEL, C.R.; CUMAN, R.K.N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C.A. Valores de Referência de Alguns Parâmetros Fisiológicos de Ratos do Biotério Central da



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico  
**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica  
Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Revista Acta Science Health Science*.  
v. 28, n 2, p.165-170, 2006.

DEJKHAMRON, P.; MENON, K.R.; SPERLING, M.A. Childhood Diabetes Mellitus: Recent Advances & Future Prospects. *Indian Journal Medicine Research*. v. 125, p. 231-250, Março 2007.

KRAUSE M.S; HOMEM DE BITTENCOURT, P.I. JR. Type I diabetes: Can Exercise Impair the Autoimmune Event? The l-arginine/glutamine coupling hypothesis. *Cell Biochemistry Function*. v. 26, n 04, p. 406-433, 2008.

LENZEN, S. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia*. v. 51, p. 216-226, 2008.

MALAISSÉ, W. J.; MALAISSÉ LAGAE, F.; SENER, A.; PIPELEERS, D. G. Determinants of the Selective Toxicity of Alloxan to the Pancreatic B cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA, v. 79, n. 03, p. 927-930, Fevereiro 1982.

MD SHAHIDUL ISLAM. *The Islets of Langerhans*. Springer. 2010

MEDZHITOV, R. Origin and Physiological Roles of Inflammation. *Nature*. n. 454, p. 428-435, 2008.

NEWSHOLME, P.; ABDULKADER, F.; REBELATO, E.; ROMANATTO, T.; PINHEIRO, C. H. J.; VITZEL, K. F.; SILVA, E. P.; BAZOTTE, R. B.; PROCOPIO, J.; CURI, R.; GORJÃO, R.; PITHON CURI, T. C. Amino Acids and Diabetes: Implications for Endocrine, Metabolic and Immune Function. *Frontiers in Bioscience*. v. 16, p. 315-339, Janeiro 2011.

NEWSHOLME, P.; HABER, E. P.; HIRABARA, S. M.; REBELATO, E. L. O.; PROCOPIO, J.; MORGAN, D.; OLIVEIRA EMILIO, H. C.; CARPINELLI, A. R.; CURI, R. Diabetes Associated Cell Stress and Dysfunction: Role of Mitochondrial and Non-mitochondrial ROS Production and Activity. *Journal Physiology*. n. 583.1, p. 9-24, 2007.

PARISH, I. A.; WAITHMAN, J.; DAVEY, G. M.; BELZ, G. T.; MINTER, J. D.; KURTS, C.; SUTHERLAND, R. M.; CARBONE, F. R.; HEATH, W. R.; Tissue Destruction Caused by Cytotoxic T Lymphocytes Induces Deletional Tolerance. *PNAS - Proceedings of the National Academy of Sciences*. Washington, DC, v. 106, n. 10, p. 3901-3906, 2009.

PIMENTA WP, PEIXOTO F, AOKI R, MICHELIN LA, PADOVANI CR, MONTELLI AC. Bacteriúria em pacientes com diabetes mellitus. *Jornal Brasileiro de Patologia*. v. 33, p.189-195, 1997.



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

SOLIMENA, M. & De CAMILE, P. From Th1 to Th2: Diabetes Immunotherapy Shifts Gears. *Nature Medicine*. v. 2, p. 1311-1320, Dezembro, 1996.

XUE H., SUFIT A.J., WISCHMEYER P.E. Glutamine Therapy Improves Outcome of in Vitro and in Vivo Experimental Colitis models. *JPEN - Journal Parenteral and Enteral Nutrition*. v. 35, p. 188-197, 2011.

ZAFAR, M.; NAEEM-UL-HASSAN NAQVI, S.; AHMED, M.; KAIMKHANI, Z. A. Altered Liver Morphology and Enzymes in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *International Journal of Morphology*. v. 27, p.719-725, 2009.

ZIMMET, P.; ALBERTI, K.G.M.M; SHAW, J. Global and social implications of the diabetes epidemic. *Nature*. v. 414, p. 782-787, Dezembro, 2001

---

Projeto de pesquisa “Efeito do exercício físico e de aminoácidos sobre o metabolismo das células  $\beta$ -pancreáticas e sua repercussão no diabetes mellitus tipo I, em ratos Wistar diabéticos” integrado ao projeto “Glutamina e hsp70 como marcadores para o equilíbrio na secreção de insulina: desenvolvimento de um sistema de liberação modificada de glutamina dipeptídeo com propriedades anti-hipoglicemiantes imunomoduladoras e sua aplicação em pacientes diabéticos” (Edital CNPq 04/2010)