

**A ATIVIDADE SIMPÁTICA REGULA, VIA PROTEÍNA CINASE A (PKA),
A PROTEÍNA COTRANSPORTADORA NA⁺/GLICOSE 1 (SGLT1) EM
GLÂNDULA SALIVAR: EFEITOS DO DIABETES MELLITUS E DA
HIPERTENSÃO ARTERIAL**

ROBINSON SABINO DA SILVA

**Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências.**

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Ubiratan Fabres Machado

**SÃO PAULO
2010**

RESUMO

Sabino-Silva R. A atividade simpática regula, via proteína cinase A (PKA), a proteína cotransportadora Na⁺/glicose 1 (SGLT1) em glândula salivar: efeitos do diabetes mellitus e da hipertensão arterial [tese]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2010.

Disfunções de glândulas salivares têm sido descritas em diabéticos e hipertensos.

A proteína cotransportadora Na⁺/glicose SGLT1 realiza o transporte acoplado de 2 íons Na⁺/ 1 molécula de glicose/ 264 moléculas de água. O objetivo do presente trabalho foi investigar o efeito do diabetes mellitus e/ou da hipertensão arterial sobre a expressão dos genes SLC5A1 e SLC2A1, e a distribuição celular e subcelular das respectivas proteínas SGLT1 e GLUT1, em glândulas salivares parótida e submandibular, buscando determinar o papel do sistema nervoso autônomo simpático nas regulações observadas. Para isto, foram estudados ratos Wistar Kyoto (WKY), WKY diabéticos (WKY-D), espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos (SHR-D). O diabetes foi induzido, 30 dias antes do estudo, por meio de injeção de aloxana. As glândulas parótida e submandibular foram cuidadosamente retiradas para análise do mRNA (genes SLC5A1 e SLC2A1) por meio de RT-PCR e das proteínas (SGLT1, GLUT1 e PKA) por meio de Western blotting e/ou imunohistoquímica. Com outro conjunto de animais, foi realizada a mensuração da atividade simpática (Hz) de fibras pós-ganglionares para as glândulas salivares. A atividade simpática foi aumentada em SHR (250%, p<0,001) quando comparados com WKY; e diminuída após a indução do diabetes em ratos WKY e SHR (~50%, p<0,05). Nas glândulas salivares, a regulação da subunidade catalítica da PKA variou paralelamente a atividade simpática. Além disso, o conteúdo da proteína SGLT1 em membrana plasmática também foi aumentado em SHR (~130%, p<0,001) e reduzido em WKY-D (~50%, p<0,05) quando comparados

com WKY. A análise de imunohistoquímica mostrou aumento da marcação para SGLT1 na membrana luminal de ductos estriados de ratos WKY-D, SHR e SHR-D. Além disso, a secreção salivar basal foi reduzida (~40%, $p < 0,001$) nos ratos WKY-D, SHR e SHR-D. Não foram encontradas alterações significativas nas análises do mRNA e da proteína GLUT1. Conjuntamente, nossos dados sugerem que as disfunções da atividade simpática observadas em estados de hipertensão e diabetes estão estreitamente relacionadas, pela via da PKA, com as alterações de conteúdo de SGLT1 em membrana plasmática. Além disso, a SGLT1 aumentou em membrana luminal de células ductais, o que foi inversamente proporcional ao fluxo salivar não-estimulado dos ratos hipertensos e diabéticos. Isto demonstra o papel de transporte de água da SGLT1 neste território, e, pelo aumento da reabsorção de água da saliva, pode explicar a diminuição do fluxo salivar encontrada em indivíduos diabéticos e hipertensos.

Palavras-chaves: hipossalivação, glândulas salivares, atividade simpática, SGLT1, transportadores de glicose, PKA.

ABSTRACT

Sabino-Silva R. Na⁺/glucose cotransporter SGLT1 in the salivary glands of diabetic and hypertensive rats: role of sympathetic outflow and protein kinase A activity [PhD. thesis]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2010.

Salivary dysfunctions have been described in diabetic and hypertensive subjects. The stoichiometric relationship of transport capacity of the sodium glucose cotransporter 1 (SGLT1) protein is 2 Na⁺:1 glucose:264 H₂O molecules. We hypothesized that the sodium-glucose cotransporter 1 (SGLT1) participates in salivary dysfunctions, through the sympathetic- and protein kinase A- (PKA) induced regulation of SGLT1. The analysis were performed in Wistar Kyoto rats (WKY), diabetic WKY (WKY-D), spontaneously hypertensive rats (SHR), diabetic SHR (SHR-D). Rats were rendered diabetic (WKY-D or SHR-D) by a single intravenous injection of alloxan (40 mg/Kg body weight). The parotid and submandibular glands were harvested for SLC5A1 and SLC2A1 gene expression (RT-PCR) and SGLT1, GLUT1 and PKA protein content (Western blotting and/or immunohistochemistry) analysis. Moreover, sympathetic nerve activity to the salivary glands was measured in post-ganglionic fibers. Diabetes decreased the nerve activity in WKY and SHR (~50%, P<0.05), pointing out that it was 250% higher in SHR, as compared to WKY (P<0.001). The regulation of catalytic subunit of PKA was parallel to the sympathetic nerve activity. Plasma membrane SGLT1 protein content increased in SHR (~130%, p<0.001) and decreased in WKY-D (~50%, P<0.05), as compared with WKY. Moreover, in diabetic and/or hypertensive rats, imunohistochemical analysis showed increased SGLT1 protein in luminal membrane of ductal cells, where it may promote water uptake, reducing the salivary flow. Confirming that, nonstimulated salivary secretion was reduced (~50%, p<0.001) in WKY-D, SHR and SHR-D rats. No

differences were observed in GLUT1 mRNA and protein in plasma membrane. The results show a highly coordinated regulation of sympathetic activity, catalytic subunit of PKA and SGLT1 protein in plasma membrane of acinar cells of salivary glands in diabetic, hypertensive or not, rats. Importantly, in luminal membrane of ductal cells SGLT1 protein increased inversely proportional to the nonstimulated salivary flux in diabetic and hypertensive rats. This indicates the water transporter role of SGLT1, and, by increasing salivary water reabsorption, may explain the hyposalivation complained by diabetic and hypertensive subjects.

Keywords: hyposalivation, salivary glands, sympathetic activity, SGLT1, glucose transporters, PKA.

1.1 Fisiologia das glândulas salivares

A importância da saliva para a saúde oral é bem conhecida. As múltiplas funções da saliva ocorrem tanto pela sua característica fluida como pelos componentes específicos. A limpeza da cavidade oral, formação do bolo alimentar, facilitação da mastigação e deglutição, solubilização de substâncias alimentares, remoção de bactérias e alimentos, lubrificação da mucosa e a facilitação da fala estão relacionadas com as características fluidas da saliva. Já a proteção dos dentes pela neutralização dos ácidos, a ação bactericida e bacteriostática, a manutenção da saturação de fosfato de cálcio relacionada à hidroxiapatita e a participação na formação da película adquirida, são exemplos de funções relacionadas aos componentes específicos da saliva (Pedersen et al., 2002). A formação da saliva envolve dois estágios (Thaysen, Thorn e Schwartz, 1954), inicialmente, um fluido primário, isotônico em relação ao plasma, é secretado pelas células acinosas das glândulas salivares no lúmen (estágio 1). Subsequentemente, quando o fluido primário passa pelos ductos estriados, é modificado por uma maior reabsorção seletiva de íons sódio e cloro, e menor secreção de potássio e bicarbonato (estágio 2). Como praticamente não ocorre movimentação de água, a saliva final secretada na cavidade oral é hipotônica em relação ao plasma (Melvin et al., 2005; Turner e Sugiya, 2002).

Os ramos simpático e parassimpático do sistema nervoso autônomo inervam as glândulas salivares (Emmelin, 1987; Garrett, 1987). A secreção salivar é um processo altamente controlado por um arco reflexo formado por uma parte aferente e outra eferente deste sistema. A parte aferente é formada pelos receptores e nervos que conduzem os impulsos, gerados por estímulos mecânicos da mastigação e químicos da gustação e olfação, até o centro da salivação. A parte eferente é formada pelo sistema

nervoso autônomo simpático e parassimpático, que inerva as glândulas separadamente (Humphrey e Williamson, 2001). O estímulo parassimpático gera saliva abundantemente, enquanto o simpático gera uma saliva mais viscosa e rica em proteínas, mas em pequeno volume. Este arco reflexo também sofre a influência do sistema nervoso central (Pedersen et al., 2002).

As fibras simpáticas pré-ganglionares originam-se de neurônios situados próximos dos cornos laterais dos dois primeiros segmentos torácicos da medula espinhal, e ascendem pelo tronco simpático cervical, junto com a artéria carótida comum, fazendo sinapse no gânglio cervical superior (Matsuo, 1999). As fibras pós-ganglionares, trafegando junto com a adventícia da artéria carótida externa, atingem as glândulas salivares por meio dos ramos da artéria facial anterior. A noradrenalina liberada pelos terminais simpáticos nervosos e as catecolaminas circulantes produzem respostas simpáticas secretórias por atuar em receptores adrenérgicos α -1, β -1 e β -2 (Land, Luduena e Buzzo, 1967; Bellavia e Gallará, 1998). A interação de agonistas com receptores α -1 adrenérgicos estimula secreção de fluidos e eletrólitos e a interação com receptores β adrenérgicos (via da Adenilatociclase-AMPC-PKA) estimula a secreção de proteínas (Vatta et al., 2002). Sob condições reflexas (reflexo salivar), o sistema nervoso simpático apenas estimula as fibras nervosas secreto-motoras para as glândulas salivares, não ocorrendo estimulação de fibras nervosas para os vasos sanguíneos, que irrigam as glândulas salivares. Assim a inibição periférica simpática da secreção salivar não ocorre sob condições reflexas em condições normais (Emmelin, 1987).

O papel do sistema nervoso simpático na modulação do fluxo e composição da saliva tem sido bastante estudado. O estímulo simpático para as glândulas salivares,

pela estimulação elétrica das vias eferentes (Carpenter et al., 1998), ou pela aplicação de agonistas adrenérgicos (Vatta et al., 2002), resulta em uma secreção de baixo fluxo e rica em proteínas (Garrett et al., 1987). A estimulação simpática elétrica contínua leva a uma intensa vasoconstrição, exacerbando a redução na secreção salivar (Anderson, Garrett e Proctor, 1988; Anderson et al., 2006). Além disso, estudos da literatura também evidenciaram que a remoção do gânglio cervical superior, o qual impede o estímulo nervoso simpático, também gera diminuição no fluxo salivar (Lamey, Fisher e Frier, 1988; Garrett, 1987). Considerando esses achados percebe-se que para a manutenção de um fluxo salivar adequado pelas glândulas salivares é fundamental que a atividade simpática para este território esteja dentro da normalidade. A vasoconstrição, decorrente de estimulação simpática exacerbada e contínua, resultou em uma conclusão errônea, mas frequentemente citada, de que a atividade simpática inibe a secreção salivar (Czermak, 1857; Emmelin, 1987; Anderson et al., 2006).

1.2 Transportadores de glicose

A glicose é a principal fonte de energia para os organismos eucariontes, e tem papel central no metabolismo e homeostasia celular (Scheepers, Joost e Schürmann, 2004). A glicose não atravessa a bicamada lipídica da membrana plasmática dos eucariontes, pois esta é impermeável para moléculas hidrofílicas. O transporte de glicose ocorre por meio de proteínas carreadoras associadas à membrana plasmática, os transportadores de glicose. Existem duas famílias de transportadores de glicose que medeiam a transferência de glicose através da bicamada lipídica: os transportadores de glicose por difusão facilitada (GLUTs) e os cotransportadores de glicose acoplado ao Na⁺ (SGLTs) (Bell et al., 1990; Carruthers, 1990).

A GLUT1 é uma proteína codificada pelo gene SLC2A1 e apresenta 12 segmentos transmembrânicos hidrofóbicos, formando α -hélices perpendiculares que cruzam o plano da membrana plasmática. As terminações NH₂ e COOH são citoplasmáticas, e uma grande alça de conexão é encontrada entre os segmentos S6-S7 (Thorens, Charron e Lodish, 1990). Esta proteína pode realizar fluxo bidirecional de glicose de acordo com o gradiente do substrato. Como a glicose está constantemente sendo consumida nas células, as forças de gradiente garantem um influxo do substrato na maioria dos tipos celulares. A GLUT1 é encontrada em vários territórios, entre eles estão os eritrócitos e a barreira hemato-encefálica (Gherzi et al, 1991).

A superexpressão do gene SLC2A1, que codifica a proteína GLUT1, foi demonstrada em tumores malignos de glândulas salivares de humanos, contudo não foi encontrada marcação para GLUT1, por meio de imunohistoquímica, em células do parênquima de glândulas salivares parótida e submandibular (Mori et al., 2007).

A SGLT1 é uma proteína integral da membrana plasmática, codificada pelo gene SLC5A1 (Martín et al., 2000), que realiza o transporte acoplado de Na⁺/glicose. Possui 664 aminoácidos e contém 14 segmentos transmembrânicos hidrofóbicos, conforme ilustração visualizada na figura 1 (Wright et al., 2004).

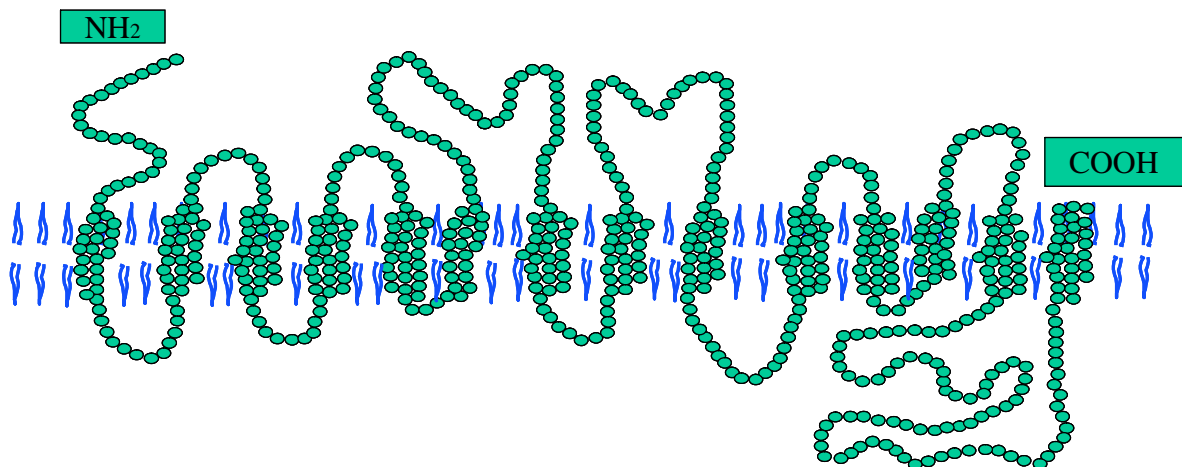


Figura 1. Estrutura secundária da proteína SGLT1 ilustrando a posição de cada aminoácido. São 14 segmentos transmembrânicos com a face N-terminal voltada ao interstício e a face C-terminal dentro da membrana plasmática. Modelo modificado de Wright e Turk, 2004.

A proteína SGLT1 transporta dois íons sódio para cada molécula de glicose, em um processo ativo secundário, que é dirigido pelo gradiente de concentração do sódio e pelo potencial de membrana, e dependente da presença da Na^+/K^+ -ATPase (Matosin-Matekalo et al., 1998). O transporte de sódio e glicose pelo SGLT1 ocorre numa reação ordenada em que dois íons Na^+ externos se ligam no transportador antes da glicose, induzindo uma mudança conformacional no local de ligação da molécula de glicose, aumentando sua afinidade para este substrato. Após, ocorre uma nova mudança conformacional que resulta numa reorientação dos locais de ligação do Na^+ e da glicose para o interior da célula. A molécula de glicose é liberada no interior da célula e, após, os dois íons Na^+ . Então, a SGLT1 sofre uma nova mudança conformacional e expõe novamente os sítios de ligação do íon sódio e da glicose ao meio extracelular, o que possibilita iniciar um novo ciclo (Wright et al., 2004; Díez-Sampedro et al., 2000).

Recentemente foi demonstrado que a proteína SGLT1, além dos 2 íons Na^+ e uma molécula de glicose, conduz acopladamente 264 moléculas de água. Existem duas teorias para o transporte acoplado de água pela SGLT1, uma delas sugere que o

transporte ocorre devido às mudanças induzidas pelos ligantes (Na^+ e glicose) na SGLT1 (Wright et al., 2004), e a outra sugere que o acúmulo intracelular de glicose junto à membrana plasmática possa justificar o transporte de água (Loo, Wright e Zeuthen, 2002). Independente do mecanismo molecular do transporte de água, está definido que a SGLT1 tem um papel significativo no transporte de água em membrana apical de enterócitos (Wright et al., 2004).

1.3 Transporte de glicose e água em glândulas salivares

A informação a respeito do transporte de glicose para as células acinosas, ductais e mioepiteliais, bem como do papel funcional dos transportadores de glicose nas glândulas salivares é muito limitada. A concentração de glicose na saliva de animais e humanos é encontrada em baixas concentrações em relação ao plasma (Mandel et al., 1961; Langley et al., 1963; Takai, Yoshida e Kakudo, 1983; Marchetti et al., 1986). O fluxo dos íons Na^+ , Cl^- e Ca^{++} é bastante estudado, entretanto, o caminho percorrido pela glicose, tem sido muito pouco estudado em glândulas salivares.

Takai e colaboradores (1983) sugeriram que ocorre reabsorção de glicose por um mecanismo de transporte ativo secundário em glândulas submandibulares. A administração de florizina (um inibidor inespecífico, por competição, da atividade dos SGLTs) no lúmen do ducto excretor principal, atingindo unicamente a membrana luminal do sistema ductal, promoveu um aumento da concentração de glicose na saliva (Takai, Yoshida e Kakudo, 1983). Também foi verificado aumento na concentração de glicose salivar quando foi injetado oubaína, um inibidor da bomba Na^+/K^+ -ATPase, por meio da técnica de micro-infusão pela qual a droga atinge principalmente a membrana basolateral da célula ductal (Takai, Yoshida e Kakudo, 1983). Entretanto, outro estudo

encontrou a proteína SGLT1 somente em membrana basolateral de células acinosas em glândula submandibular de ratos (Elfeber et al., 2004). Tarpey e colaboradores (1995) também encontraram SGLT1 somente na membrana basolateral de células acinosas em glândula parótida de ovelha. Nenhum destes trabalhos que localizaram a SGLT1 propôs algum papel funcional para este transportador nas glândulas parótida ou submandibular.

Em estudos do nosso grupo também verificamos a presença de SGLT1 em membrana basolateral de células acinosas em glândulas parótida e submandibular de ratos. Adicionalmente, encontramos SGLT1 em células mioepiteliais de glândula parótida, o que nunca havia sido descrito (Sabino-Silva et al., 2009). Em ratos diabéticos, além das localizações descritas anteriormente, demonstramos a presença de SGLT1 na membrana luminal das células do ducto estriado em glândula parótida (Sabino-Silva et al., 2009). Essas alterações mostraram relação entre a SGLT1 na glândula salivar e complicações orais associadas ao diabetes, como diminuição da secreção salivar. Neste estudo, também obtivemos resultados inéditos de aumento do mRNA do SLC5A1 em glândulas salivares parótida e submandibular de ratos diabéticos. Entretanto, este aumento não se refletiu no aumento da proteína SGLT1 na membrana plasmática de um homogeneizado das glândulas salivares que, ao contrário, mostrou-se diminuída. Todas essas alterações foram revertidas pela insulinoterapia (Sabino-Silva et al., 2009).

1.4 Diabetes Mellitus

O diabetes é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-

se pela presença de hiperglicemia inapropriada e, frequentemente, por complicações crônicas degenerativas (Masharani e Karam em Greenspan e Gardner, 1997). A natureza crônica do diabetes acarreta uma substancial diminuição na qualidade e expectativa de vida, além de custar bilhões de dólares em cuidados de saúde (Coffey et al., 2002; Stephens, Botteman e Hay, 2006). A prevalência do diabetes aumenta rapidamente e estima-se que 300 milhões de pessoas estarão acometidas no ano de 2025 (Wild et al., 2004; Fox et al., 2006).

Em glândulas salivares, o diabetes causa uma ampla degeneração celular com substituição de células do parênquima por tecido conjuntivo fibroso (Reuterving, 1986; Anderson, Suleiman e Garrett, 1994). Hand e Weiss (1984) descreveram a presença de macrófagos e corpos lipídicos no citoplasma das células acinosas em ratos diabéticos. Além dessas alterações morfo-estruturais, são descritas alterações funcionais nas glândulas salivares de ratos diabéticos. Diversos trabalhos descrevem diminuição do fluxo salivar e/ou xerostomia em seres humanos e hipossalivação em ratos diabéticos (Conner et al., 1970; Marder, Abelson e Mandel, 1975; Chavez et al., 2000; Chavez et al., 2001; Dodds, Yeh e Johnson, 2000; Vernilo, 2001; Watanabe, Yamagishi-Wang e Kawaguchi, 2001; Ogunbodede et al., 2005). Resultados obtidos no nosso laboratório demonstraram redução significativa na saliva total não-estimulada de ratos diabéticos comparados a não-diabéticos (Sabino-Silva et al., 2009).

A saliva de pacientes diabéticos, com pobre controle metabólico, apresenta aumento da concentração de glicose salivar (Ben-Aryeh et al., 1988; Belazi et al., 1998). A glicemia não tem correlação com a concentração de glicose na saliva, por isso não é usada para verificar o grau de controle metabólico (Forbat et al., 1981; Ben-Aryeh et al., 1988). Entretanto, foi descrita correlação positiva entre a glicemia e a

concentração de glicose na saliva de pacientes diabéticos quando os níveis glicêmicos excederam 15 mM (Reuterving, 1986).

A diminuição do fluxo salivar e o aumento na concentração de glicose salivar causam complicações orais nos indivíduos diabéticos mal controlados, que incluem: xerostomia (queixa subjetiva de boca seca) (Vernillo, 2001; Lin et al., 2002), doenças periodontais (Reuterving, Hägg e Gustafson, 1986; Ojima et al., 2005; Mealey e Oates, 2006), aumento da incidência e severidade das cáries (Reuterving, Hägg e Gustafson, 1986; Lin et al., 1999; Vernillo, 2001), candidíase, diminuição da cicatrização (Vernillo, 2001), abscessos odontogênicos, lesões teciduais na língua e mucosa (Moore et al., 2001), problemas no metabolismo ósseo (Achemlal et al., 2005) e úlceras esofágicas (Melvin, 1991).

1.5 Neuropatia diabética

Muitos órgãos, entre eles as glândulas salivares, são duplamente inervados pelo sistema nervoso autonômico, recebendo fibras parassimpáticas e simpáticas. A neuropatia autonômica diabética (DAN) é uma desordem generalizada, afetando todas as partes do sistema nervoso autônomo (Vinik et al., 2003), e é a complicação menos compreendida, embora tenha impacto negativo na qualidade de vida de pessoas com diabetes (Vinik e Erbas, 2001). Entre as complicações clínicas da neuropatia diabética estão: hipotensão ortostática, anormalidades de reflexos cardíacos, alterações de sudorese e termoregulação, hipomotilidade da bexiga e alterações das funções digestórias (Schmidt et al., 1993).

A quantificação da atividade simpática nos diferentes territórios é uma tarefa complicada, talvez até por isso, várias técnicas têm sido utilizadas para este fim, tais

como: dosagem de catecolaminas plasmáticas (Goldstein, 1981; Thompson et al. 1995); registros eletroneurográficos de atividade simpática (Irigoyen e Krieger, 1998); bloqueio ganglionar (Santajuliana, Hornfeldt e Osborn, 1996) e análise espectral sobre a variabilidade da pressão arterial e frequência cardíaca (Akselrod et al., 1981). A maioria dessas técnicas fornece apenas índices da atividade simpática, sem particularizá-la aos diferentes territórios (“spill over” de catecolaminas, bloqueio simpático e análise espectral) ou a fazem apenas em uma região específica (eletroneurografia).

No portador de diabetes, a diminuição do fluxo salivar pode ser causada por alterações degenerativas na inervação nervosa autonômica das glândulas salivares, decorrentes da neuropatia diabética (Scarpini et al., 1993; Vatta et al., 2002), e ainda por alterações no sistema de sinalização intracelular responsável pela atividade dos receptores α -1 e β (Vatta et al., 2002).

1.6 Hipertensão arterial

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças cardiovasculares são responsáveis por 16,7 milhões de mortes por ano. A hipertensão arterial é responsável por aproximadamente 7,1 milhões de mortes prematuras por ano, o que representa 13% do total geral de óbitos (Whitworth, 2003). Aproximadamente 20 % da população adulta é classificada como hipertensa, sendo que esta porcentagem sobe para cerca de 50 % nos indivíduos idosos. Vários estudos têm indicado que no Brasil, assim como na população mundial, as doenças cardiovasculares são as principais causas de morte (Mancia e Grassi, 1998; Muntner et al., 2002; Loutzenhiser et al., 2002).

Existem diversas causas envolvidas na fisiopatologia da hipertensão arterial, entretanto, a grande maioria dos pacientes são ainda considerados hipertensos primários ou essenciais (sem causa definida). A patogênese da hipertensão arterial essencial é, em grande parte, indefinida, multifatorial, e altamente complexa (Ye et al., 2000). Nos casos em que a etiologia da doença é conhecida, como a hipertensão renovascular, define-se a hipertensão como secundária.

O reflexo barorreceptor é um conhecido mecanismo de interação entre o sistema cardiovascular e o controle fino da atividade autonômica, principalmente sobre a resistência vascular. Os barorreceptores detectam variações de pressão arterial, e levam a disparos de potenciais de ação condicionados pela deformidade dos vasos (mecanorreceptores), a qual é dependente da pressão intravascular. Quando ocorre aumento da pressão arterial, aumenta a frequência de disparos de potenciais de ação dos barorreceptores que são enviados ao núcleo do trato solitário (NTS), o que acaba gerando diminuição da atividade simpática cardíaca, por meio de mecanismos centrais muito bem descritos, que gera por fim a normalização da pressão arterial (Dampney, 1994; Michelini e Stern, 2009). Nos neurônios do gânglio cervical superior, entretanto, foi demonstrado que os barorreceptores podem modular a atividade simpática de forma paralela com a pressão arterial (Cassaglia, Griffiths e Walker, 2008), ou seja, com modulação contrária à simpato-inibição observada pela ativação dos barorreceptores em outros territórios.

Os pacientes em terapia anti-hipertensiva frequentemente relatam queixas de xerostomia. Entretanto, muito pouco é conhecido sobre a função das glândulas salivares em indivíduos hipertensos antes do início da terapia anti-hipertensiva. Dois estudos semelhantes demonstraram diminuição da saliva total não-estimulada em

pacientes hipertensos, comparados a normotensos, antes de receberem tratamento (Ben-Aryeh et al., 1981; Rahn et al., 1983). Doods et al. (2000) demonstraram redução do fluxo salivar, estimulado e não-estimulado, das glândulas submandibulares e sublinguais de pacientes hipertensos. Entretanto, outro trabalho não encontrou diferença significativa entre o fluxo de saliva total não-estimulada e estimulada entre indivíduos normotensos e hipertensos (Niedermeier et al., 1956). A saliva estimulada por meio de pilocarpina é diminuída em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), comparados com ratos Wistar (Elias et al., 2008).

1.7 Associação de Diabetes e hipertensão arterial

A prevalência de hipertensão é aumentada na população diabética (Epstein e Sowers, 1992). Além disso, indivíduos com diabetes e doença cardiovascular apresentam menor sobrevida, maior risco de recorrência de doença e piores respostas aos tratamentos propostos. Hipertensão e Diabetes Mellitus são os principais riscos para doenças e mortalidade cardiovasculares (Fox et al., 2006). Atualmente, a co-existência dessas duas alterações faz parte dos critérios de definição da síndrome metabólica, considerada a grande co-morbidade do momento (Nisoli et al., 2007).

1.8 Regulação de transportadores de glicose e sua relação com Diabetes Mellitus e hipertensão arterial

A regulação da expressão do SLC5A1 e da proteína SGLT1 no intestino pode ser mediada por estímulos dietéticos (Martín et al., 2000), ativação adrenérgica via receptores β -adrenérgicos (Ishikawa, Eguchi e Ishida, 1997), insulina (Stümpel et al., 1996), glucagon (Stümpel, Scholtka e Jungermann, 1997), peptídeo semelhante ao

glucagon 2 (GLP2) (Cheeseman, 1997), fator de crescimento endotelial (EGF) (Cheeseman, 1997) e hormônio tireoidiano (Matosin-Matekalo et al., 1998). Esta regulação da SGLT1 pode ser feita por mudanças na transcrição, estabilidade do mRNA, quantidade de transportador na membrana plasmática e atividade do transportador. Entretanto, os mecanismos detalhados para estas regulações, o “*cross-talk*” entre os diferentes mecanismos regulatórios e a importância fisiológica da regulação não são bem entendidos (Veyhl et al, 2006).

A atividade simpática promove a interação de receptores β -adrenérgicos com seus agonistas levando a ativação da enzima adenilatociclase. Esta promove a formação de um segundo mensageiro, o AMP cíclico, que fosforila um sítio alostérico da subunidade reguladora da proteína cinase especificamente dependente de AMP cíclico, a PKA. Isto leva a liberação da proteína em sua forma ativa, a subunidade catalítica da PKA que também é fosforilada. Esta atua no aumento da estabilidade do mRNA do SLC5A1 e, principalmente, no aumento da inserção da proteína SGLT1 na membrana plasmática (Hirsch, Loo e Wright, 1996). A desfosforilação da subunidade catalítica da PKA leva a redistribuição da SGLT1 nos compartimentos internos da célula (Hirsch, Loo e Wright, 1996; Ishikawa, Eguchi e Ishida, 1997).

Estudos em nosso laboratório demonstraram que tanto o diabetes como a hipertensão arterial causam aumento na proteína GLUT2, que co-expressa com SGLT2, em córtex renal. Além disso, a associação de diabetes e hipertensão arterial promoveu aumento aditivo no GLUT2 (Schaan et al, 2005b). Em conjunto, esses estudos revelaram que diabetes e hipertensão arterial induzem alteração na expressão do transportador de glicose nos rins, e que embora fatores metabólicos (hiperglicemia) e mecânicos (aumento da pressão pré-glomerular) sejam mecanismos etiopatológicos

importantes, a hiperatividade simpática parece também ter papel fundamental nas alterações observadas.

O conhecimento do padrão de atividade simpática para as glândulas salivares *per se* poderá ajudar na melhor compreensão da função salivar. Além disso, o entendimento da relação da atividade simpática com a expressão dos transportadores de glicose SGLT1 e GLUT1 em glândulas salivares de diabéticos e/ou hipertensos, poderá contribuir para a compreensão das disfunções de glândulas salivares nessas patologias.

7 CONCLUSÕES

Em conjunto, os resultados sugerem que a atividade simpática para as glândulas salivares é regulada paralelamente com as variações agudas de pressão arterial, o que indica a ação de barorreceptores nesta regulação.

Além disso, ratos hipertensos apresentaram aumento da atividade simpática para as glândulas salivares, e a indução do diabetes promoveu redução da atividade simpática em ratos WKY e SHR. Estas regulações da atividade simpática foram acompanhadas de variações paralelas no conteúdo da subunidade catalítica da PKA e da SGLT1 na membrana plasmática de homogeneizado de glândulas parótidas e submandibulares, sugerindo que a atividade simpática regula o conteúdo da SGLT1 em membrana plasmática de células acinosas e ductais de glândulas salivares.

Adicionalmente, demonstrou-se que o diabetes e a hipertensão arterial induzem grande expressão da proteína SGLT1 em membrana luminal de célula ductal, indicando que nestas condições a reabsorção tubular de glicose e água esteja aumentada. Este aumento de reabsorção de água pode ser um mecanismo importante para redução da secreção salivar, descrita nestas condições. Em conjunto, estas alterações contribuem para o entendimento das alterações de fluxo salivar e composição da saliva frequentemente associadas ao diabetes mellitus e a hipertensão arterial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achemlal L, Tellal S, Rkiouak F, Nouijai A, Bezza A, Derouiche el M, Ghafir D, El Maghraoui A. Bone metabolism in male patients with type 2 diabetes. *Clin Rheumatol*. 2005; 24:493-496.

Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Berger AC, Cohen RJ. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science*. 1981;213:220-222.

Anderson LC. Parotid gland function in streptozotocin-diabetic rats. *J Dent Res*. 1987; 66:425-429.

Anderson LC, Garrett JR, Proctor GB. Advantages of burst stimulation for inducing sympathetic salivary secretion in rats. *J Exp Physiol*. 1988;73:1025-1028.

Anderson LC, Garrett JR, Proctor GB. Morphological effects of sympathetic stimulation on rat parotid glands 3-4 weeks after the induction of streptozotocin diabetes. *Arch Oral Biol*. 1990;35:829-838.

Anderson LC, Garrett JR, Suleiman AH, Proctor GB, Chan K, Hartley R. In vivo secretory responses of submandibular glands in streptozotocin-diabetic rats to sympathetic and parasympathetic nerve stimulation. *Cell Tissue Res*. 1993;274:559-566.

Anderson LC, Martin DJ, Phillips DL, Killpack KJ, Bone SE, Rahimian R. The influence of gender on parasympathetic vasodilatation in the submandibular gland of the rat. *Exp Physiol*. 2006;91:435-444.

Anderson LC, Suleiman AH, Garrett JR. Morphological effects of diabetes on the granular ducts and acini of the rat submandibular gland. *Microsc Res Tech*. 1994;27:61-70.

Bartsch T, Häbler HJ, Jänig W. Functional properties of postganglionic sympathetic neurons supplying the submandibular gland in the anaesthetized rat. *Neurosci Lett.* 1996;214:143-146.

Bell GI, Kayano T, Buse JB, Burant CF, Takeda J, Lin D, Fukumoto H, Seino S. Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care.* 1990;13:198-208.

Bellavia SL, Gallarà RV. Modification of the beta- and alfa2-adrenergic sensitivity of rat submandibular glands by environmental stimuli and stress. *Arch Oral Biol.* 1998;43:933-939.

Belazi MA, Galli-Tsinopoulou A, Drakoulakos D, Fleva A, Papanayiotou PH. Salivary alterations in insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Paediatr Dent.* 1998;8:29-33.

Ben-Aryeh H, Cohen M, Kanter Y, Szargel R, Laufer D. Salivary composition in diabetic patients. *J Diabet Complications.* 1988; 2:96-99.

Ben-Aryeh H, Schiller M, Shasha S, Szargel R, Gutman D. Salivary composition in patients with essential hypertension and the effect of pindolol. *J Oral Med.* 1981;36:76 - 78.

Campbell IW, Dominiczak AF, Livingstone C, Gould GW. Analysis of the glucose transporter compliment of metabolically important tissues from the Milan hypertensive rat. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;26:780-91.

Carpenter GH, Garrett JR, Hartley RH, Proctor GB. The influence of nerves on the secretion of immunoglobulin A into submandibular saliva in rats. *J Physiol.* 1998;15:567-573.

Carruthers A. Facilitated diffusion of glucose. *Physiol Rev.* 1990;70:1135-1176.

Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM. Sympathetic nerve activity in the superior cervical ganglia increases in response to imposed increases in arterial pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294:1255-1261.

Chapleau MW, Cunningham JT, Sullivan MJ, Watchel RE, Abboud FM. Structural versus functional modulation of arterial baroreflex. *Hypertension*. 1995;26:341-347.

Chavez EM, Borrell LN, Taylor GW, Ship JA. A longitudinal analysis of salivary flow in control subjects and older adults with type 2 diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91:166-173.

Chavez EM, Taylor GW, Borrell LN, Ship JA. Salivary function and glycemic control in older persons with diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000;89:305-311.

Cheeseman CI. Upregulation of SGLT-1 transport activity in rat jejunum induced by GLP-2 infusion in vivo. *Am J Physiol*. 1997;273:1965-1971.

Coffey JT, Brandle M, Zhou H, Marriott D, Burke R, Tabaei BP, Engelgau MM, Kaplan R, Herman WH. Valuing health-related quality of life in diabetes. *Diabetes Care*. 2002;25:2238-2245.

Conner S, Iranpour B, Mills J, Rochester NY. Alteration in parotid salivary flow in diabetes mellitus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1970;30:55-59.

Czermak JN. Beiträge zur Kenntniss der Beihilfe der Nerven zur Speichelsekretion. *Sbr K Akad Wiss Wien*. 1857;25:3-18.

Dampney RA. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev* 1994;74:323-364.

Díez-Sampedro A, Lostao MP, Wright EM, Hirayama BA. Glycoside binding and translocation in Na⁺-dependent glucose cotransporters: Comparison of SGLT1 and SGLT3. *J Memb Biol.* 2000;176:111-117.

Dodds MWJ, Yeh CK, Johnson DA. Salivary alterations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and hypertension. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000;28:373-381.

Dyer J, Vayro S, King TP, Shirazi-Beechey. Glucose sensing in the intestinal epithelium. *Eur J Biochem.* 2003;270:3377-3388.

Elfeber K, Stümpel F, Gorboulev V, Matting S, Deussen A, Kaissling B, Koepsell H. Na⁺-D-Glucose cotransporter in muscle capillaries increases glucose permeability. *Biochem Biophys Res Commun,* 2004;314:301-305.

Elias GP, Sasaki KT, Delbem ACB, Antoniali C. Atenolol reduces activity in pups of spontaneously hypertensive and normotensive rats treated during pregnancy and lactation. *Clin Exp Hypertens.* 2008;30:133-141.

Epstein M, Sowers JR. Diabetes Mellitus and hypertension. *Hypertension.* 1992;19:403-418.

Emmelin N. Nerve interaction in salivary glands. *J Dent Res.* 1987;66:509-517.

Forbat LN, Maskell GK, Collins RE, Sönksen PH. Glucose concentrations in parotid fluid and venous blood of patients attending a diabetic clinic. *J R Soc Med.* 1981;74:725-728.

Fox CS, Pencina MJ, Meigs JB, Vasan RS, Levitzky YS, D'Agostino RB. Trends in the incidence of diabetes type 2 diabetes mellitus from the 1970s to the 1990s: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2006;113:2914-2918.

Freitas HS, Schaan BD, Da Silva RS, Okamoto MM, Oliveira-Souza M, Machado UF. Insulin but not phlorizin treatment induces a transient increase in GLUT2 gene expression in the kidney of diabetic rats. *Nephron Physiol.* 2007;105:42-51.

Garfin DE. One-dimensional gel electrophoresis. *Methods Enzymol.* 1990;182:42-51.

Garrett JR. The proper role of nerves in salivary secretion. *J Dent Res.* 1987;66:387-397.

Gherzi R, Melioli G, De Luca M, D'Agostino A, Guastella M, Traverso CE, D'Anna F, Franzi AT, Cancedda R. High expression levels of the "erythroid/brain" type glucose transporter (GLUT1) in the basal cells of human eye conjunctiva and oral mucosa reconstituted in culture. *Exp Cell Res.* 1991;195:230-236.

Goldstein DS. Plasma norepinephrine as an indicator of sympathetic neural activity in clinical cardiology. *Am J Cardiol.* 1981;48:1147-1154.

Gouveia LM, Kattelhut IC, Foss MC. Abnormalities of glucose metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33:1357-1362.

Gresz V, Kwon TH, Hurley PT, Varga G, Zelles T, Nielsen S, Case RM, Steward MC. Identification and localization of aquaporin water channels in human salivary glands. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281:247-254.

Hand AR, Weiss RE. Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. *Lab Invest.* 1984;51:429-440.

Hirsch JR, Loo DDF, Wright EM. Regulation of Na⁺/glucose cotransporter expression by protein kinases in *Xenopus laevis* oocytes. *J Biol Chem.* 1996;271:14740-14746.

Hübschle T, McKinley MJ, Oldfield BJ. Efferent connections of the lamina terminalis, the preoptic area and the insular cortex to submandibular and sublingual gland of the rat traced with pseudorabies virus. *Brain Res.* 1998;28:219-231.

Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001;85:162-169.

Ishikawa Y, Eguchi T, Ishida H. Mechanism of beta-adrenergic agonist-induced transmural transport of glucose in rat small intestine - Regulation of phosphorylation of SGLT1 controls the function. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1357:306-318.

Irigoyen MC, Krieger EM. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. *Braz J Med Biol Res.* 1998;31:1213-1220.

Kruger NK, Hammond JBW. Immunodetection of proteins on "Western" blots using ¹²⁵I labeled protein A. *New protein Techniques.* 1988;3:409-417.

Lamey PJ, Fisher BM, Frier BM. The effects of diabetes and autonomic neuropathy on parotid salivary flow in man. *Diabet Med.* 1986;3:537-540.

Land AM, Luduena FP, Buzzo HJ. Differentiation of receptors responsive to isoproterenol. *Life Sci.* 1967;6:2241-2249.

Langley LL, Hanson RW, Grimes OR, Cock-Rell DFJr, Knight LA. Secretion of Glucose-C¹⁴ by dog parotid gland. *Arch Oral Biol.* 1963;8:127-133.

Lin BP, Taylor GW, Allen DJ, Ship JA. Dental caries in older adults with diabetes mellitus. *Spec Care Dentist.* 1999;19:8-14.

Lin CC, Sun SS, Kao A, Lee CC. Impaired salivary function in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus with xerostomia. *J Diabetes Complications*. 2002;16:176-179.

Linden KC, DeHaan CL, Zhang Y, Glowacka S, Cox AJ, Kelly DJ, Rogers S. Renal expression and localization of the facilitative glucose transporters GLUT1 and GLUT12 in animal models of hypertension and diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006;290:205-213.

Loo DD, Wright EM, Zeuthen T. Water pumps. *J Physiol*. 2002;542:53-60.

Loutzenhiser R, Bidani A, Chilton L. Renal myogenic response kinetic attributes and physiological role. *Circ Res*. 2002;90:1316-1324.

Mahay S, Adeghate E, Lindley MZ, Rolph CE, Singh J. Streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus alters the morphology, secretory function and acyl lipid contents in the isolated rat parotid salivary gland. *Mol Cell Biochem*. 2004;261:175-181.

Mancia G, Grassi G. Antihypertensive treatment: past, present and future. *J Hypertens*. 1998;16:1-7.

Mandel ID, Hampar B, Thompson RH Jr, Elisson SA. The carbohydrates of human parotid saliva. *Arch Oral Biol*. 1961;3:278-282.

Mangos JA, Maragos N, McSherry NR. Micropuncture and microperfusion study of glucose excretion in rat parotid saliva. *Am J Physiol*. 1973;224:1260-1264.

Marchetti P, Benzi L, Masoni A, Cecchetti P, Giannarelli R, Di Cianni G, Ciccarone AM, Navalesi R. Salivary insulin concentrations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients and obese non-diabetic subjects: relationship to changes in plasma insulin levels after an oral glucose load. *Diabetologia*. 1986;29:695-698.

Marder MZ, Abelson DC, Mandel ID. Salivary alterations in diabetes mellitus. *J Periodontol.* 1975;46:567-569.

Martín GM, Wang J, Solorzano-Vargas RS, Lam JT, Turk E, Wright EM. Regulation of the human Na⁺-glucose cotransporter gene, SGLT1, by HNF-1 and Sp1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;278:591-603.

Martin HJ, Kornmann F, Fuhrmann GF. The inhibitory effects of flavonoids and antiestrogens on the Glut1 glucose transporter in human erythrocytes. 2003;146:225-235.

Martinez JR. Ion transport and water movement. *J Dent Res.* 1987;66:638-647.

Masharani U, Karam JH. Pancreatic hormones & Diabetes Mellitus. In: Greenspan FS, Gardner DG. *Basic e Clinical Endocrinology.* New York: McGraw-Hill, 1997. p.633-634.

Matosin-Matekalo M, Mesonero JE, Delezay O, Poiree JC, Ilundain AA, Brot-Laroche E. Thyroid hormone regulation of the Na⁺/glucose cotransporter SGLT1 in Caco-2 cells. *Biochem J.* 1998;334:633-640.

Matsuo R. Central connections for salivary innervations and efferent impulse formation. In Garrett JR, Ekstrom J, Anderson LC. *Neural Mechanisms of salivary secretion.* Basel: Karger, 1999. p.26-43.

Matsuzaki T, Suzuki T, Koyama H, Tanaka S, Takata K. Aquaporin-5 (AQP5), a water channel protein, in the rat salivary and lacrimal glands: immunolocalization and effect of secretory stimulation. *Cell Tissue Res.* 1999;295:513-521.

Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006;77:1289-1303.

Melvin JE. Saliva and dental diseases. *Curr Opin Dent.* 1991;1:795-801.

Melvin JE, Yule D, Shuttleworth T, Begenisich T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. *Annu Rev Physiol.* 2005;67: 445-469.

Micheline LC, Stern JE. Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. *Exp Physiol.* 2009;94:947-960.

Moore PA, Weyant RJ, Etzel KR, Guggenheimer J, Mongelluzzo MB, Myers DE, Rossie K, Hubar H, Block HM, Orchard T. Type 1 diabetes mellitus and oral health: assessment of coronal and root caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2001;29:183-194.

Mori Y, Tsukinoki K, Yasuda M, Miyazawa M, Kanelo A, Watanabe Y. Glucose transporter type 1 expression are associated with poor prognosis in patients with salivary gland tumors. *Oral Oncol.* 2007;43:563-569.

Muntner P, He J, Roccella EJ, Whelton PK. The impact of JNC-VI guidelines on treatments recommendations in the US population. *Hypertension.* 2002;39:897-902.

Niedermeier W, Dreizan S; Stone R, Spies T. Sodium and potassium concentrations in the saliva of normotensive and hypertensive subjects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1956;9:426-431.

Nisoli E, Clementi E, Carruba MO, Moncada S. Defective mitochondrial biogenesis: a hallmark of the high cardiovascular risk in the metabolic syndrome?. *Circ Res.* 2007;100:795-806.

Ogunbodede EO, Fatusi OA, Akintomide A, Kolawole K, Ajayi A. Oral health status in a population of Nigerian diabetics. *J Contemp Dent Pract.* 2005;6:75-84.

Ojima M, Takeda M, Yoshioka H, Nomura M, Tanaka N, Kato T, Shizukuishi S, Amano A. Relationship of periodontal bacterium genotypic variations with periodontitis in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2005;28: 433-434.

Okamoto K, Aoki K. Development of strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J*. 1963;27:282-293.

Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis*. 2002;8:117-129.

Rahn KH, van Baak M, van Hoof M, Schols M. Studies on salivary flow in borderline hypertension. *J Hypertens Suppl*. 1983;1:77-78.

Reuterving CO. Pilocarpine-stimulated salivary flow rate and salivary glucose concentration in alloxan diabetic rats. Influence of severity and duration of diabetes. *Acta Physiol Scand*. 1986;126:511-515.

Reuterving CO, Hägg E, Gustafson T. Root surface caries and periodontal disease in long-term alloxan diabetics rats. *J Dent Res*. 1986;65:689-694.

Sabino-Silva R, Freitas HS, Lamers ML, Okamoto MM, Santos MF, Machado UF. Na⁺-glucose cotransporter SGLT1 protein in salivary glands: potential involvement in the diabetes-induced decrease in salivary flow. *J Memb Biol*. 2009;228:63-69.

Santajuliana D, Hornfeldt BJ, Osborn JW. Use of ganglionic blockers to assess neurogenic pressor activity in conscious rats. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 1996;35:45-54.

Scarpini E, Bianchi R, Moggio M, Sciacco M, Fiori MG, Scarlato G. Decrease of nerve Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase activity in the pathogenesis of human diabetic neuropathy. *J Neurol Sci*. 1993;120:159-167.

Schaan BD, Irigoyen MC, Bertoluci, Lima NG, Passaglia J, Hermes E, Oliveira FR, Okamoto M, Machado UF. Increased urinary TGF-beta1 and cortical renal GLUT1 and GLUT2 levels: additive effects of hypertension and diabetes Nephron Physiol. 2005; 100:43-50 (a).

Schaan BD, Irigoyen MC, Lachini S, Moreira ED, Schmid H, Machado UF. Sympathetic modulation of the renal glucose transporter GLUT2 in diabetic rats. Auton Neurosci. 2005;117:54-61 (b).

Scheepers A, Joost HG, Schürmann A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2004;28:364-71.

Schmidt RE, Plurad SB, Parvin CA, Roth KA. Effect of diabetes and aging on human sympathetic autonomic ganglia. Am J Pathol. 1993;143:143-153.

Shennan DB. Mammary gland membrane transport systems. J Mammary Gland Biol Neoplasia. 1998;3:247-258.

Somani P, Singh HP, Saini RK, Rabinovitch A. Streptozotocin-induced diabetes in the spontaneously hypertensive rat. Metabolism. 1979;28:1075-1077.

Stephens JM, Botteman MF, Hay JW. Economic impact of antidiabetic medications and glycemic control on managed care organizations: a review of the literature. JManag Care Pharm. 2006;12:130-142.

Stümpel F, Kucera T, Gardemann A, Jungermann K. Acute increase by portal insulin in intestinal glucose absorption via hepatoenteral nerves in the rat. Gastroenterol. 1996;110:1863-1869.

Stümpel F, Scholtka B, Jungermann K. A new role for enteric glucagon-37: acute stimulation of glucose absorption in rat small intestine. *FEBS Lett.* 1997;410:515-519.

Takai N, Yoshida Y, Kakudo Y. Secretion and re-absorption of glucose in rat submandibular and sublingual saliva. *J Dent Res.* 1983;62:1022-1025.

Tarpey PS, Wood IS, Shirazi-Beechey SP, Beechey RB. Aminoacid sequence and the cellular location of the Na(+)-dependent D-glucose symporters (SGLT1) in the ovine enterocyte and the parotid acinar cell. *Biochem J.* 1995;312:293-300.

Thaysen JH, Thorn NA, Schwartz IL. Excretion of sodium, potassium, chloride e carbon dioxide. *Am J Physiol.* 1954;178:155-159.

Thompson JM, O'Callaghan CJ, Kingwell BA, Lambert GW, Jennings GL, Esler MD. Total norepinephrine spillover, muscle sympathetic nerve activity and heart-rate spectral analysis in a patient with dopamine beta-hydroxylase deficiency. *J Auton Nerv Syst.* 1995;55:198-206.

Thorens B, Charron MJ, Lodish HF. Molecular physiology of glucose transporters. *Diabetes Care.* 1990;13:209-218.

Timmons TM, Dunbar B. Protein blotting and immunodetection. *Methods Enzymol.* 1990;182:679-688.

Turner RJ, Sugiya H. Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Dis.* 2002; 8:3-11.

Vatta MS, Hope SI, Prendes GM, Bianciotti LG, Elverdin JC, Fernandez BE. Salivary glands and noradrenergic transmission in diabetic rats. *Auton Autacoid Pharmacol.* 2002;22:65-71.

Vayro S, Wood IS, Dyer J, Shirazi-Beechey SP. Transcriptional regulation of the ovine intestinal Na⁺/glucose cotransporter SGLT1 gene. Role of HNF-1 in glucose activation of promoter function. *Eur J Biochem.* 2001;268: 5460-5470.

Vernillo AT. Diabetes mellitus: Relevance to dental treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:263-70.

Veyhl M, Keller T, Gourboulev V, Vernaleken A, Koepsell H. RS1(RSC1A1) regulates the exocytotic pathway of Na⁺-D-glucose cotransporter SGLT1. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;291:1213-1223.

Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic Autonomic Neuropathy. *Diabetes Care.* 2003;26:1553-1579.

Vinik AI, Erbas T. Recognizing and treating diabetic autonomic neuropathy. *Cleve Clin J Med.* 2001;68:928-930,932,934-944.

Watanabe M, Yamagishi-Wang H, Kawaguchi M. Lowered susceptibility of muscarin receptor involved in salivary secretion of streptozotocin-induced diabetic rats. *Jpn J Pharmacol.* 2001;87:117-124.

Whitworth JA; World Health Organization, International Society of Hypertension. 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens.* 2003;21:1983-1992.

Wild G, Roglic A, Green R, Sierree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004;27:1047-1053.

Wright EM, Loo DD, Hirayama BA, Turk E. Surprising versatility of Na⁺-glucose cotransporters: SLC5. *Physiology (Bethesda).* 2004;19:370-376.

Wright EM, Turk E. The sodium/glucose cotransport family SLC5. *Pflügers Arch.* 2004;447:510-518.

Ye S, Mozayeni P, Gamburd M, Zhong H, Campese VM. Interleukin-1 β and neurogenic control of blood pressure in normal rats and rats with chronic renal failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;279:2786-2796.