

EFEITO DA MELATONINA NA MORFOMÉTRIA E HISTOQUÍMICA DO FÍGADO DE RATOS INDUZIDOS A HIPERPROLACTINEMIA

Geovanna Hachyra Facundo Guedes ¹

Marcos Aurélio Santos da Costa ²

Jennyfer Martins de Carvalho ³

Maria Luísa Figueira de Oliveira ⁴

Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenorio ⁵

INTRODUÇÃO

A hiperprolactinemia é uma alteração originada no eixo hipotalâmico-hipofisário, que consiste em uma elevação da prolactina sérica. A Prolactina é um hormônio sintetizado e secretado por células da glândula hipófise anterior, chamadas lactotrofos. Outras estruturas também sintetizam este peptídeo, embora sejam apenas 25% do total secretado, como placenta, útero, próstata, fígado, entre outros (Radavelli, 2016). O aumento fisiológico da prolactina pode ser fruto tanto de gravidez e amamentação, quanto de sono, exercício e estresse; isto porque estes eventos desencadeiam fatores liberadores de prolactina. A hiperprolactinemia também pode ser induzida de forma patológica pelo crescimento tumoral e outros distúrbios, mas também pode ser induzida farmacologicamente.

Melatonina é um hormônio sintetizado na glândula pineal, com função de sinalização neuroendócrina e sincronização de ritmos biológicos (ritmo circadiano). Embora seja amplamente reconhecido sua síntese pela pineal, há estudos sugerindo síntese e liberação de melatonina nos órgãos do trato gastrointestinal, nos rins, em células do sistema imune, no fígado e em algumas regiões do cérebro (Lanoix et al., 2008).

Este neurohormônio tem um importante papel na reprodução, em processos regulação da produção de estrógeno e progesterona, regulação da atividade funcional e crescimento ovariano; mas além dos efeitos na reprodução, a melatonina tem forte ação antioxidante em processos fisiológicos no fígado e elimina radicais livres (El-sokkary et al., 2000). Esta atividade antioxidante é provinda da sua natureza lipofílica e hidrofílica,

¹ Graduanda do curso de Biomedicina da Universidade Federal Pernambuco - UFPE, geovannafacundo@gmail.com;

² Mestrando do Curso de Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, marcosxp17@gmail.com

³; Graduanda do curso de Biomedicina da Universidade Federal Pernambuco - UFPE, jannah_martins@hotmail.com;

⁴ Graduanda do curso de Biomedicina da Universidade Federal Pernambuco - UFPE, malufigueira_2@outlook.com;

⁵ Professor orientador: Doutor em Biociência Animal, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, fcas14@hotmail.com

passando por barreiras biológicas facilmente, além de sua ampla disponibilidade nos tecidos e células (Martins et al., 2009).

METODOLOGIA

O presente projeto foi submetido ao comitê de ética da Universidade Federal de Pernambuco sob número n°. 23076/011943/2018-17. Foram utilizados 15 ratos albinos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, com 90 dias de idade, procedentes do Biotério do Centro Acadêmico de Vitória, da Universidade Federal de Pernambuco. Esses animais foram mantidos em gaiolas, com alimentação e água ad libitum.

Os machos foram divididos, ao acaso, em três grupos, cada um constituído por 5 machos, a saber:

Grupo I - ratos controle (sem tratamento);

Grupo II – ratos induzidos a hiperprolactinemia (Domp);

Grupo III- ratos induzidos a hiperprolactinemia e tratados com melatonina (domp+mel);

TRATAMENTO COM MELATONINA

O tratamento com melatonina (Sigma, St. Louis, MO, USA) foi realizado de acordo com a metodologia proposta por (Prata-Lima; Baracat; Simões, 2004). Foi administrada na dose de 200 µg de melatonina por 100g de peso corporal do animal por meio de injeções por via subcutânea no início da noite (18:00h) durante 30 dias após o tratamento. A melatonina foi dissolvida em um volume de etanol (0,02 mL) e diluída em solução salina (NaCl a 0,9%). Os animais do grupo controle receberam, respectivamente, solução NaCl 0,9% e 0,02 mL de etanol.

TRATAMENTO COM DOMPERIDONA (DOMP)

A indução à hiperprolactinemia foi obtida com a injeção subcutânea de domperidona na dose de 4mg por quilo de peso corporal diária, sempre no horário das 11:00 hs da manhã. A DOMP foi dissolvida em 10mL de solução salina. Os animais do grupo placebo receberam apenas solução salina.

ANALISE HISTOQUÍMICA E MORFOMÉTRICA DO FÍGADO

Após 30 dias de tratamento com a melatonina, os machos de cada grupo foram anestesiados utilizando hidrocloreto de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por

via intramuscular. Em seguida, foram eutanasiados utilizando a dosagem letal para remoção do fígado e em seguida imerso em formol tamponado 10%, permanecendo no mesmo por 24 horas. Após isso, os órgãos coletados foram clivados e submetidos à técnica histológica de inclusão em parafina. Os fragmentos dos órgãos foram desidratados em álcool etílico (concentrações crescentes), diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Em sequência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração para análise histoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Picro Sirius, analisados em microscópio de luz, da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50. A quantificação em pixels dos grânulos de glicogênio e das fibras colágenas foi realizada utilizando o programa GIMP.2.8.

A morfometria do fígado foi realizada por meio de um retículo micrométrico linear (10mm/100 - Olympus) calibrado com um micrômetro padrão para a contagem do número de células de kupffer.

DESENVOLVIMENTO

O fígado é um órgão envolvido nos processos metabólicos de destoxificação, sendo equipado por uma variedade de enzimas antioxidantes (Kireev et al., 2007). O fígado é um importante centro metabólico de todo o organismo. É o maior órgão sólido, sendo microscopicamente constituído por lóbulos hepáticos, tem duplo suprimento sanguíneo provindo da veia porta e artéria hepática (Bona, 2014). Este alto aporte sanguíneo traz ao fígado nutrientes e fármacos.

A ação da melatonina neste órgão é de suma importância, isto porque os compostos que chegam a ele muitas vezes são de caráter tóxico e/ou trazem sobrecarga ao seu trabalho, então o caráter antioxidante da melatonina ajudaria a reduzir os danos ocasionados ao longo do tempo, sendo pois hepatoprotetor (Ostondag et al., 2000).

É sabido que a melatonina é um potente agente antioxidante, regulando vários processos fisiológicos no fígado e inibindo o crescimento de hepatocarcinomas (Okatani et al., 2003; Gong et al., 2003; Blask et al., 2004; Carrillo-Vico et al., 2005; Ohta et al., 2003). Estudos relatam a presença de receptores da melatonina tanto na membrana plasmática, como na carioteca das células hepáticas (Pablos; Agapito; Gutierrez 1995; Naji et al. 2004). Além disso, de acordo com Menendez-Pelaez et al. (1993), os receptores para melatonina são elevados especialmente no núcleo e nas mitocôndrias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ANÁLISE HISTOQUÍMICA DO FÍGADO

A análise histoquímica do fígado referente a fibras colágena revelou diferenças significativas entre todos os grupos experimentais evidenciando uma maior concentração destas no grupo III quando comparado aos demais grupos. Em contrapartida, para a presença de glicogênio os grupos II e III apresentaram diferenças significativas quando comparados com o grupo I.

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO FÍGADO

A análise Morfométrica referente às células de Kupffer não demonstraram diferenças significativas entre os grupos experimentais, tendo grande similaridade entre eles quantitativamente.

Os níveis aumentados de prolactina podem estar envolvidos no desenvolvimento de sintomas de artrite induzida por colágeno (Whyte, 1988; Filipin, 2003). Entretanto, a melatonina tem a capacidade de estimular a proliferação de fibroblastos e da medula óssea (Cutando et al., 1978; Ribeiro, 2015). Com isso, o resultado do grupo experimental se mostrou condizente, pois o Grupo III, único com presença de melatonina, apresentou a maior concentração de fibras colágena.

O Grupo I se mostrou com a maior quantidade de glicogênio, enquanto o Grupo III apresentou o menor. Porém, em estudos realizados com ratos com alto níveis de açúcar no sangue, a prolactina não apresentou efeito sobre o glicogênio hepático (Chan, 1972). Já a melatonina disponibiliza os estoques de glicogênio (Bicer, 2011). Tal fator implica na diminuição do glicogênio hepático apresentado pelo Grupo III.

Já a melatonina apresenta efeito positivo na ação das células Natural Killers, que desempenham importante função na supressão de crescimento tumoral e das metástases (Najafi et al., 2017). Entretanto, em nenhum dos grupos experimentais ocorreu a variação positiva ou negativa da contagem de células de Kupffer, macrófagos responsáveis por fagocitar substâncias estranhas no fígado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluimos que ratos tratados com melatonina em hiperprolactinemia e os hiperprolactinêmicos não tratados tiveram maior índice de glicogênio hepático; além disso, o grupo induzido a hiperprolactinemia e tratado com melatonina teve maior concentração de fibras colágenas (domp+mel). Porém, não houveram variações na contagem de células de Kupffer.

PALAVRAS-CHAVE: Melatonina, fígado, domperidona, hiperprolactinemia, prolactina.

REFERÊNCIAS

BICER, M; AKIL, M; AVUNDUK, M; KILIC, M; MOGULKOC, R; BALTACI, A. Interactive effects of melatonin, exercise and diabetes on liver glycogen levels. *Endokrynologia Polska*, v.62, n.6, p. 252-255, 2011

BONA, Silvia Regina. Melatonina protege o fígado em um modelo experimental de cirrose. 2014.

CHAN, D. Hormonal Effects in the on Liver Glycogen and Blood Sugar Level Iguanid Lizard *Dipsosaurus dorsalis*. *General And Comparative Endocrinology*, v. 18, n. 0, p. 552-556, 1972

EL-SOKKARY, Gamal H. et al. Inhibitory effect of melatonin on products of lipid peroxidation resulting from chronic ethanol administration. *Alcohol and Alcoholism*, v. 34, n. 6, p. 842-850, 1999.

FILIPIN, M. D.V. Ações imunomoduladoras da prolactina durante a fase aguda da Doença de Chagas experimental. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia) - Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Ribeirão Preto, Universidade De São Paulo 2013

LANOIX, Dave et al. Human placental trophoblasts synthesize melatonin and express its receptors. *Journal of pineal research*, v. 45, n. 1, p. 50-60, 2008.

NAJAFI, M. et al. The melatonin immunomodulatory actions in radiotherapy. *Biophysical Reviews*, v. 9, n. 2, p. 139-148, 2017.

MARTINS JR, E. et al. The effect of melatonin chronic treatment upon macrophage and lymphocyte metabolism and function in Walker-256 tumour-bearing rats. *Journal of neuroimmunology*, v. 82, n. 1, p. 81-89, 1998.

ÜSTÜNDAĞ, BİLAL et al. Effect of melatonin on hepatic fibrogenesis, vitamin c and hydroxyproline levels in liver of ethanol-fed rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, v. 30, n. 4, p. 333-340, 2000.

RADAVELLI, Simone. Macroprolactinemia numa coorte de mulheres com hiperprolactinemia: associações com variáveis clínicas, hormonais e exames de imagem da hipófise. 2006.

VILAR, Lucio; NAVES, Luciana A.; GADELHA, Mônica. Armadilhas no diagnóstico da hiperprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 47, n. 4, p. 347-357, 2003.

WHYTE, A.WILLIAMS, R. O. Bromocriptine suppresses postpartum exacerbation of collagen- induced arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, v. 31, n.7, p. 927-928, 1988.