

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DE TESTÍCULO DE RATOS INDUZIDOS A HIPERPROLACTINEMIA E TRATADOS COM MELATONINA

Danilo Coelho de Lima ¹
Maria Eduarda da Silva ²
Bruno Mendes Tenorio ³
José Anderson da Silva Gomes ⁴
Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenorio ⁵

INTRODUÇÃO

A prolactina é um hormônio proteico produzido principalmente na hipófise anterior, por células especializadas conhecidas como lactotrofos (FREEMAN et al., 2000), esta molécula tem como principal função a estimulação da lactação, entretanto atualmente já são descritas mais de 300 funções relacionadas a este hormônio (BOLE-FEYSOT et al., 1998). O aumento sérico da prolactina é chamado de hiperprolactinemia e tem como principal fator desordens pituitárias, principalmente os prolactinomas. (VERHELST; ABS, 2003).

A hiperprolactinemia apresenta sintomas decorrentes do hipogonadismo, nas mulheres podendo causar infertilidade, diminuição do libido, amenorreia, oligomenorréia e galactorréia (KLIBANSKI, et al., 1980WEBSTER, 2002). Já nos homens pode ocorrer disfunção erétil, perda de libido e raramente ginecomastia e galactorreia, por conta dos baixos níveis de estrogênio. Em ambos os sexos, o aumento sérico da prolactina a longo prazo pode causar ganho de peso e osteoporose (WALSH; PULLAN, 1997; VERHELST; ABS, 2003).

O tratamento da hiperprolactinemia varia de acordo com a origem da patologia, entretanto a principal alternativa de tratamento para tal desordem é o uso de agonistas dopaminérgicos (SAKIYAMA, QUAN, 1983; COLAO; LOMBARDI, 1998; VILAR, 2018), pois os lactotrofos estão sob ação inibitória através da dopamina hipotalâmica (BEN-JONATHAN; HNASKO, 2001; GUELHO et al., 2016). Existem compostos no corpo que apresentam o papel de agonistas dopaminérgicos, como é o caso da melatonina.

¹ Graduando pelo Curso de Ciências Biológicas - UFPE, danilo_clh96@outlook.com;

² Graduanda pelo Curso de Ciências Biológicas - Licenciatura - UFPE, mariaeduardaufpe@gmail.com;

³ Doutor pelo Curso de Biociências da Universidade Federal - UFRPE, brunoufrpe@hotmail.com;

⁴ Graduando pelo Curso de Biomedicina - UFPE, andy_silvacarte@outlook.com;

⁵ Professor orientador: Dr^a Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenório - UFPE, fcas14@hotmail.com

A melatonina é um neurohormônio produzido na glândula pineal dos animais vertebrados, na retina, pele, plaquetas, linfócitos e cérebro em desenvolvimento (SINGH; JADHAV, 2014) e tem como papel a regulação dos ciclos circadianos e outros processos rítmicos (DOYLE et al., 2002). Além disso a melatonina detêm a função de captador de radicais livres e propriedades antioxidantes (CRUZ et al., 2014). No entanto, não se sabe ao certo a relação entre melatonina e prolactina. Dessa forma, a presente pesquisa teve como objetivo analisar o testículo de ratos induzidos à hiperprolactinemia e tratados com melatonina.

METODOLOGIA (OU MATERIAIS E MÉTODOS)

O presente projeto foi submetido ao comitê de ética da Universidade Federal de Pernambuco sob número nº. 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 hiperprlactinemia (Domp);

Grupo III- ratos induzidos a hiperprlactinemia 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, durante 7 dias (FELICIO; BRIDGES, 1992). A DOMP foi dissolvida em 10mL de solução salina. Os animais do grupo placebo receberam apenas solução salina.

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Após 30 dias de tratamento com a melatonina, os machos de cada grupo foram anestesiadas utilizando hidrocloreto de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por via intramuscular. Em seguida, foram eutanaziados utilizando a dosagem letal para remoção do testículo, sendo este último imediatamente pesado e imerso em formol tamponado 10%, permanecendo no mesmo por 24 horas. Após isso, o órgão coletado foi clivado e submetido à técnica histológica de inclusão em parafina. Os fragmentos do órgão 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 pela Hematoxilina-Eosina (H.E).

DESENVOLVIMENTO

O alto nível de prolactina sérica é chamado de hiperprolactinemia (CAPOZZI et al., 2015). A prolactina é um hormônio polipeptídico majoritariamente sintetizado e secretado pelos lactotrofos, que são células especializadas localizadas na hipófise anterior. Inicialmente, descrito por estimular a lactogênese e a lactação em algumas espécies animais, (RIDDLE O, et al. 1933; FREEMAN et al., 2000). Posteriormente, foi descoberto que este hormônio apresenta efeitos pleiotrópicos, quando um único gene controla diferentes características do fenótipo, em diferentes espécies, podendo atuar no metabolismo, na osmorregulação e nos sistemas imunológicos e nervoso (FREEMAN, 2000; CAPOZZI et al., 2015).

A produção de prolactina está sob o controle inibitório da dopamina hipotalâmica. Por conta disso, é necessário um fluxo constante de dopamina para manter o nível de prolactina estável (SUH, 1974; GUELHO et al., 2016). A dopamina então atua na hipófise anterior inibindo a liberação de prolactina, que ocorre em segundos após a ligação ao receptor, e a proliferação dos lactotrofos, que acontece no decorrer de alguns dias. (SAM; FROHMAN, 2008; GUELHO et al., 2016).

A hiperprolactinemia pode apresentar diversas etiologias, como doenças sistêmicas, doenças do hipotálamo, doenças da hipófise, neurogênica, idiopática, produção de prolactina ectópica. O prolactinoma é a causa mais comum de hiperprolactinemia crônica, além do

hipotireoidismo primário e fármacos que induzem o aumento dos níveis séricos de prolactina (MELMED, et al., 2011; GLEZER, 2015; VILAR et al., 2018). O tratamento do prolactinoma é inicialmente feito com medicamentos dopaminérgicos, pois apresenta eficiência em 80% dos casos, diminuindo e até mesmo extinguindo os tumores (MELMED, et al., 2011; CAPOZZI et al., 2015).

Algumas compostos produzidos pelo corpo atuam como agonista dopaminérgico, um exemplo é a melatonina que tem a capacidade de corrigir distúrbios comportamentais relacionados a dopamina (UZ, 2005; EMET et al., 2016). Produzida principalmente na glândula pineal, em humanos, é classificada como um neuro-hormônio (GORDON, 2000; SH; SABA, 2010). Porém, existem outros órgão que produzem a melatonina, como a pele, plaquetas, linfócitos, retina e cérebro em desenvolvimento (BUBENIK, 2002; SINGH; JADHAV, 2014).

Além disso, no sistema reprodutivo masculino a melatonina atua de três principais maneiras. Primeiramente ela regula a secreção dos hormônio luteinizante (LH) e do hormônio liberador de gonadotrofina (GhRH). Além disso, regula a síntese de testosterona, atuando nas células de Leydig, e da maturação testicular. Atua também na depuração de radicais livres, o que evita danos testiculares causados por esses compostos. O alto nível endógeno da melatonina tem sido associado com a oligozoospermia e azoospermia; já os baixos níveis, com a progressão anormal do espermatozoide (YIE, 1999; LI; ZHOU, 2015)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO TESTÍCULO

A análise histopatológica demonstrou que o testículo do grupo I (controle), apresentou-se revestidos por um epitélio germinativo bem preservado, apoiado sobre uma cápsula de tecido conjuntivo denso, a túnica albugínea. No interior dos testículos evidenciou-se a presença de numerosos túbulos seminíferos que se alojam como novelos dentro de um tecido conjuntivo frouxo.

Nos túbulos observaram-se numerosas espermatogônias e espermatócitos, além da presença de células de Sertoli, que se encontram aderidas a lâmina basal dos túbulos com suas extremidades apicais voltadas para o lúmen. O interstício contém vasos e uma população menor de células imaturas de Leydig. Essas características foram observadas em todos os

grupos experimentais. No entanto, o grupo II apresentou uma vacuolização tubular discreta (Fig. 1)

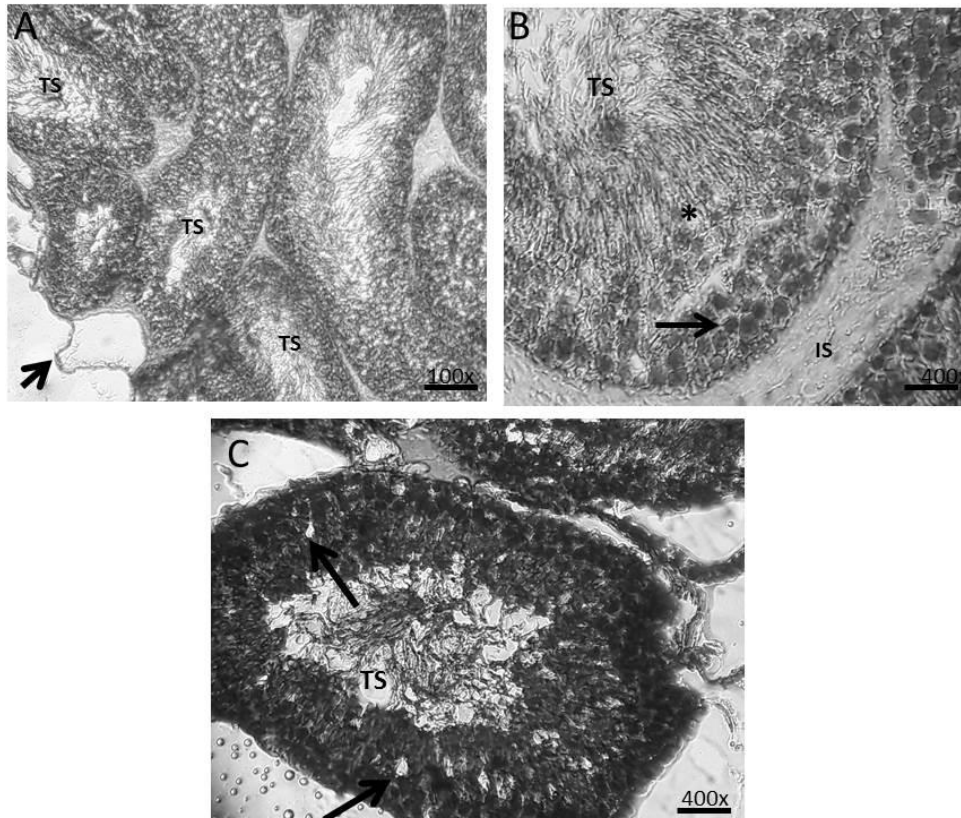


Figura 1: Testículo dos grupos experimentais. A- Cápsula de Tecido conjuntivo (seta) e túbulos seminíferos (TS) do grupo I; B- Espermatogônias (setas), espermatócitos (*) e interstício (IS) do grupo III; C- Vacuolização tubular discreta do grupo II. Coloração HE.

A prolactina apresenta várias funções, dentre elas a osmorregulação, exercendo papel no transporte de solutos e água pelas membranas celulares dos mamíferos. Estudos indicam que a PRL diminui o transporte de sódio e aumenta o de potássio através das células epiteliais retiradas de coelho tratados com bromocriptina. A desregulação na osmorregulação pode promover o aparecimento de vacuolização no tecido, patologia reversível causada pelo acúmulo de água e eletrólitos no citoplasma e organelas celulares (REIS, 2001).

Deste modo, esse fato pode explicar o resultado de que o grupo II tenha apresentado vacuolização no tecido do testículo (Fig. 1C), tendo em vista que os altos níveis de prolactina pode influenciar no desenvolvimento dessa patologia. Já o Grupo III não apresentou vacuolização. Sugere-se que este fato esteja associado ao tratamento com melatonina, pois este hormônio já se mostrou influenciar na osmorregulação em peixes (GERN et al., 1984; KULCZYKOWSKA, 2002).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A melatonina utilizada como tratamento para a hiperprolactinemia se mostrou eficiente na melhora do quadro de vacualização no tecido do testículo.

Palavras-chave: Hiperprolactinemia; Melatonina, Testículo, Histopatologia, Domperidona.

REFERÊNCIAS

- BOLE-FEYSOT, C. et al. Prolactin (PRL) and Its Receptor : Actions , Signal Transduction Pathways and Phenotypes Observed in PRL Receptor Knockout Mice. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. December, p. 225–268, 1998.
- CAPOZZI, A. et al. Hyperprolactinemia : pathophysiology and therapeutic approach. *Gynecological Endocrinology*, v. 00, n. 00, p. 1–5, 2015.
- CRUZ, M. H. C. et al. Theriogenology Essential actions of melatonin in protecting the ovary from oxidative damage. **Theriogenology**, v. 82, n. 7, p. 925–932, 2014.
- DOYLE, S. E. et al. Circadian rhythms of dopamine in mouse retina : The role of melatonin. **Visual Neurosci**, v. 19, n. 5. p. 593–601, 2002.
- EMET, M. et al. A Review of Melatonin , Its Receptors and Drugs. *The Eurasian Journal or Medicine*, v. 48, p. 135–141, 2016.
- FREEMAN, M. E. et al. Prolactin : Structure , Function , and Regulation of Secretion Molecular Biology. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 4, p. 1523– 1631, 2000.
- GUELHO, D. et al. Prolactina e metabolismo – uma perspetiva diferente de uma hormona multifuncional. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 11, n. 2, p. 268–276, 2016.
- LI, C.; ZHOU, X. Melatonin and male reproduction. *Clinica Chimica Acta*, 2015.
- SH, O.; SABA, N. Melatonin , Receptors , Mechanism , and Uses. n. February. *Systematic Reviews in Pharmacy*, v.1, n. 2, p. 158-171, 2010.
- SINGH, M.; JADHAV, H. R. Melatonin : functions and ligands. *Drug Discovery Today*, v. 00, n. 00, 2014.
- VERHELST, J.; ABS, R. Pathophysiology and Management. **Treatments in Endocrinology**, v. 2, n. 1, p. 23–32, 2003.
- VILAR, L. ET AL. Controversial issues in the management of hyperprolactinemia and prolactinomas – An overview by the Neuroendocrinology Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. **Arch. Endocrinol. Metab**, v. 62, p. 236– 263, 2018.
- WEBSTER, J. Hyperprolactinemia : Etiology , Diagnosis , and Management. **Neuroendocrine Disorders and Reproduction**, v. 20, n. 4, p. 365–373, 2002.