

EFEITOS HEPÁTICOS DO USO DE METFORMINA E MELATONINA NA PROLE DE RATAS COM OVÁRIO POLICÍSTICO

Geovanna Hachyra Facundo Guedes ¹
Bruno Mendes Tenório ²
Filipe Jose da Silva ³
Jennyfer Martins de Carvalho ⁴
Fernanda das Chagas Angelo Tenorio ⁵

INTRODUÇÃO

A síndrome de ovários policísticos (SOP) é uma das mais frequentes desordens endocrinológicas. Tem causa multifatorial e associação a fatores de riscos ambientais e genéticos. Neste caso, pode-se ter infertilidade pela diminuição de oócitos e pela qualidade do embrião formado, isto é devido à formação de espécies reativas de oxigênio que são elevadas nos portadores desta síndrome.

Para tal, tem-se buscado terapias alternativas que incluem uso de agentes antioxidantes em associação ao tratamento tradicional de SOP. Exemplo disto é o uso de 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, passando por barreiras biológicas facilmente, além de sua ampla disponibilidade nos tecidos e células (Martins et al., 2009).

O tratamento tradicional disponível é feito pelo uso da metformina, também usada para tratar pacientes obesos com diabetes tipo 2. Ela tem efeito direto sobre a esteidogênese, além de que seu uso durante a gravidez reduz o risco de abortos no primeiro trimestre e nascimentos prematuros, sendo então permissivo o tratamento durante a gestação. Em contrapartida ainda não se tem bem estudado todos os mecanismos de ação e efeitos colaterais associados. O presente trabalho tem como objetivo testar a hipótese de que o uso de melatonina associado à metformina, no tratamento de SOP, durante a gestação pode ser uma alternativa terapêutica eficaz no que tange à diminuição da presença de radicais livres.

METODOLOGIA (OU MATERIAIS E MÉTODOS)

¹ Estudante do Curso de Biomedicina- CB – UFPE, geovannafacundo@gmail.com;

² Doutor em Biologia da Ciência Animal pel Universidade Federal Rural de Pernambuco – URFPE, brunoufpe4@hotmail.com;

³ Estudante do Curso de Licenciatura em ciências biológicas- CB – UFPE, filipe.jose5.fj@gmail.com;

⁴ Graduanda em Biomedicina pela Universidade Federal de Pernambuco– UFPE, jennah_martins@hotmail.com;

⁵ Docente do Departamento de Histologia e Embriologia - UFPE, fcas14@hotmail.com.

2.1. Animais

O experimento foi realizado no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Foram utilizadas 40 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar com 90 dias de idade, pesando aproximadamente $200\text{g} \pm 20\text{g}$, procedentes do Biotério do mesmo Departamento. Este experimento foi aprovado pelo CEUA, com a licença 19/2017.

As ratas foram mantidas em gaiolas com alimentação e água “ad libitum”, na temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ e iluminação artificial que estabelecem o fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando o período de luz das 06:00 às 18:00 horas. Após um período de adaptação, foram colhidos esfregaços vaginais para a determinação do ciclo estral. As ratas que apresentaram três ciclos estrais regulares foram divididas, ao acaso, em cinco grupos, cada um, constituído por 8 animais;

Grupo I- Animais sem indução da SOP (Controle); Grupo II- Animais induzidos à SOP (SOP); Grupo III- Animais induzidos a SOP e tratados com Metformina (SOP + Met); Grupo IV- Animais induzidos a SOP e tratados com Melatonina (SOP+ Mel); Grupo V- Animais induzidos a SOP tratados com Metformina e Melatonina (SOP+Mel+Met).

2.2. Indução da SOP

A indução da Síndrome dos ovários Policísticos foi realizada em todos os animais dos grupos II, III, IV e V. Foi realizada mediante gavagem de Letrozol na dosagem de 1mg/kg/dia durante 21 dias consecutivos [12]. Para confirmação da indução, esfregaços vaginais foram realizados para identificação da aciclicidade estral das ratas.

2.3. Tratamento com metformina

O cloridrato de metformina foi administrado por gavagem nos animais dos grupos III e V, na dosagem de $50\text{ mg}/100\text{g}$ diluído em $0,05\text{ mL}$ de água destilada 123 segundo a metodologia de Elia et al. [13], dez dias antes e durante o período 124 gestacional. O grupo II recebeu apenas água destilada.

2.4. Tratamento com melatonina

O tratamento com melatonina foi realizado após aferição do peso das ratas, de acordo com a metodologia proposta por Prata-Lima [14], nas ratas do grupo IV e do grupo V. A melatonina (Sigma, St. Louis, MO, USA) foi administrada na dose de $0,5\text{ mg/kg}$ de peso corporal do animal, dissolvida em um volume de etanol ($0,02\text{ mL}$) e diluída na água de beber, durante a noite (18:00). Para garantir a ingestão, os animais passaram diariamente por um período de restrição hídrica de cerca de 4h. A melatonina foi administrada dez dias antes e durante o período gestacional.

2.5. Acasalamento

Após o diagnóstico da SOP, e 10 dias de tratamento, as fêmeas foram pesadas e permitidas ao acasalamento na proporção de um macho para duas fêmeas, diariamente, sempre no início da noite (18:00h). Na manhã seguinte (06:00h), foram realizados exames colpocitológicos para a confirmação do acasalamento, tomando-se como parâmetro à presença de espermatozoides nos esfregaços vaginais, corados pelo método de Shorr-Harris, sendo este dia considerado o primeiro dia gestacional.

2.6. Dosagens bioquímicas e hormonais

As ratas de todos os grupos experimentais foram imobilizadas utilizando-se um contensor para a coleta do sangue por punção da veia caudal lateral com uso de cateter (24G), o sangue foi coletado antes da indução da SOP, após a indução, após 10 dias dos respectivos

tratamentos e durante a gestação, nos tempos de 7, 14 e 21 dias de prenhez. Após centrifugação refrigerada, o soro foi acondicionado em microtubos (ependorfs) e congelados a -20°C até o momento das dosagens [15]. Os níveis séricos de estrógeno e progesterona foram dosados utilizando-se o método Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), através de KITS comerciais. Todas as dosagens foram realizadas em triplicata. As dosagens de TGO (transaminase glutâmico-oxalacética) e TGP (transaminase glutâmico-pirúvica) dos animais foram realizadas utilizando kits reagentes da Doles, conforme especificações do fabricante.

3. 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.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, foram observados níveis normais de TGO e TGP em todos os grupos estudados (I, II, III, IV e V). No estabelecimento do padrão de normalidade os grupos, foi seguido os valores de referência obtidos no trabalho de Lima et al. (2018).

Para todos os grupos foram obtidos média, apresentados a seguir: Grupo I: TGO 94,7 e TGP 49,8 U/L; Grupo II: TGO 100,3 U/L e TGP 52,33 U/L; Grupo III: TGO 90,75 U/L e TGP 60,25 U/L; Grupo IV: TGO 98,75 U/L e TGP 58,25 U/L; Grupo V: TGO 77 U/L e TGP 24,75 U/L.

5. CONCLUSÃO

Podemos concluir que a melatonina manteve os níveis normais de TGO e TGP, mostrando que é capaz de exercer suas funções hepatoprotetoras, revertendo o dano que poderia, possivelmente, ser ocasionado ao fígado pelo uso de metformina. Entretanto, mesmo os grupos tratados apenas com metformina não apresentaram alterações significativas, ou seja, a dose não foi suficiente para ocasionar hepatotoxicidade.

Palavras-chave: Doppler; RCIU, Artérias Umbilicais.

6. REFERÊNCIAS

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

2. 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.
3. 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.
4. LIMA, Francisco Evanir Gonçalves et al. Perfil bioquímico de ratos Wistar do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. *Ci. Anim.*, p. 1-11, 2018.
5. Martins K.P.F., Fonseca T.R.S., Silva E.S., Munhoz T.C.P., Dias G.H.S., Galiza G.J.N., Oliveira L.G.S. & Boabaid F.M. 2018. Bócio em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 38(6):1030-1037.
6. Okatani Y, Sagara Y. Enhanced nocturnal melatonin secretion in women with functional secondary amenorrhea: relationship to opioid system and endogenous estrogen levels. *Horm. Res* 1995; 43(5):194-199.
7. Yu H.F., Chen H.S., Rao D.P. & Gong J. 2016. Association between polycystic ovary syndrome and the risk of pregnancy complications: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*.95(51):e4863.
8. ZALATAN, F.; KRAUSE, J.; BLASK, D. Inhibition of isoproterenol-induced 1275 lipolysis in rat inguinal adipocytes in vitro by physiological melatonin via a 1276 receptor-mediated mechanism. *Endocrinology*, v. 142, p.: 3783–3790, 2001.