

EFEITO PROTETOR DA MELATONINA SOB A HISTOPATOLOGIA DO FÍGADO EM RATOS TRATADAS COM MELATONINA E INDUZIDAS A HIPERPROLACTINEMIA

Marcos Aurélio Santos da Costa¹
Geovanna Hachyra Facundo Guedes²
Maria Luísa Figueira de Oliveira³
Jennyfer Martins de Carvalho⁴
Fernanda das Chagas Mendes Tenorio⁵

INTRODUÇÃO

Hiperprolactinemia é a desordem hormonal mais comum do eixo hipotalâmico-hipofisário, sendo observada com maior frequência na prática clínica. As causas desta condição são várias, podendo ser classificadas em fisiológicas, farmacológicas e patológicas (NETO, J. B. M, 2018; SOHRABVAND F *et al*,2015). Ela causa hipogonadismo, irregularidade menstrual ou amenorreia em mulheres, níveis baixos de testosterona sérica em homens, infertilidade e disfunção sexual em ambos os gêneros (NETO, J. B. M, 2018).

A prolactina é um hormônio peptídico, sintetizada e secretada principalmente pelos lactotrofos da hipófise anterior e ainda por outros locais extras hipofisários. Exerce uma ação sobre múltiplos tecidos e órgãos onde é regulada por outras substâncias, como a dopamina, estrogênios e hormônio de liberação de tireotrofina (CAMPOS, M. R. M. D, 2013). Vários trabalhos já confirmaram a presença da expressão do receptor de prolactina no fígado (SIMON-HOLTORF, J. *et al.* ,2006).

O fígado é o maior órgão do corpo. Possui como unidade funcional o lóbulo hepático. Possui alta taxa metabólica, compartilha substratos e energia uma vez que recebe todos os nutrientes absorvidos no trato digestivo, processando-os, armazenando-os e sintetizando várias substâncias que são transportadas para outras regiões do corpo, além de neutralizar e eliminar substâncias tóxicas. Além disso, ele é responsável pela produção de proteínas plasmáticas e carreadoras (JUNQUEIRA, L. C., & CARNEIRO, J, 2004).

Outro hormônio que possui receptores no fígado é a melatonina (MEL), em que esta foi detectada nos núcleos dos hepatócitos (MENENDEZ-PELAEZ A *et al.*, 1993). Mais recentemente, a melatonina foi detectada no tecido hepático humano em concentrações 15 vezes mais elevadas do que os relatados no sangue (MESSNER M *et al.*, 2001). Apesar de ser um distúrbio relativamente comum, ainda existem dúvidas quanto aos efeitos da hiperprolactinemia no tecido hepático. O presente estudo investigou a influência da

¹Mestrando do Curso de Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, marcosxp17@gmail.com;

²Graduanda pelo Curso de Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, geovannafacundo@gmail.com;

³Graduando pelo Curso de Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE,, jannah_martins@hotmail.com;

⁴Graduando pelo Curso de Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE,, malufigueira_2@email.com;

⁵ Professor orientador: Doutor, Departamento de Histologia e Embriologia - UFPE, fcas14@hotmail.com.

melatonina na histologia e histopatologia de fígado de ratos com hiperprolactinemia, sendo este o primeiro estudo frente a essa temática.

METODOLOGIA

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 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, M. F., BARACAT, E. C., & SIMÕES, M. D. J, 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.

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

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 pela Hematoxilina-Eosina (H.E).

DESENVOLVIMENTO

A hiperprolactinemia é responsável por uma das maiores causas de infertilidade em mulheres e de impotência no homem (BEN-JONATHAN N, 1985). Os níveis elevados de PRL não alteraram o conteúdo de melatonina no hipotálamo no sexo feminino ou masculino, mas houve um aumento da concentração na pineal apenas em machos. Assim como a administração de melatonina provocou mudanças nos níveis plasmáticos de PRL em animais controles e hiperprolactemicos (BERNUES, M. Á. V, 1987). A perfusão do terceiro ventrículo com melatonina diminui os níveis plasmáticos de LH e FSH e aumenta os níveis de PRL (FRASCHINI, F., COLLU, R., & MARTINI, L,1971).

O efeito protetor da MEL no fígado sob diferentes condições experimentais ou em certas patologias foi analisado em vários estudos. Foi observado que a MEL melhora a função mitocondrial quando as células HepG2 são expostas aos níveis citotóxicos de cádmio (Cd) (GUO P *et al.*, 2014). Madhu et al. (2015) forneceram evidência de que a MEL reduz o estresse oxidativo e restaura a função mitocondrial no fígado de ratos expostos a quimioterápicos tais como cisplatina, vimblastina e bleomicina. Os efeitos antifibróticos da MEL (10 mg / kg de peso diário durante 4 semanas) foram avaliados no fígado de ratos Wistar tratados com tioacetamida (TAA; 300 mg / L ad libitum durante 12 semanas). Na avaliação microscópica, houve efeitos inibitórios da MEL sobre alterações inflamatórias e extensão da fibrose hepática (CZECHOWSKA G *et al.*, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO

Foi evidenciada no fígado uma delgada cápsula de tecido conjuntivo. Ainda neste órgão, verificou-se a presença de veias de diversos calibres, hepatócitos volumosos em torno da veia centro lobular, além da presença de células hematopoiéticas e capilares sinusóides. Essas características foram observadas em todos os grupos experimentais, no entanto o grupo II apresentou uma intensa vacuolização quando comparada com os animais do grupo I e III. Esse resultado corroborou com, o qual a hiperprolactinemia crônica sustentada não tem efeito benéfico na resposta regenerativa hepática, apesar da indução das atividades da ornitina descarboxilase basal e da timidina quinase, enzimas estas relacionadas com a regeneração celular (KAHN, D. *et al.*, 1988). Então, deduz-se que a hiperprolactinemia casou as vacuolizações no parênquima hepático, quando não tratado com a melatonina, visto que esta última possui um efeito hepatoprotetor (ALMOHAWES, Z. N., 2017) diante da sua atividade antioxidante (YANG Y, *et al.*, 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluimos que em ratos com hiperprolactinemia sem tratamento de melatonina (domp) foi observado vacuolização dos hepatócitos. Já nos ratos que foram submetidos a hiperprolactinemia e foram tratados com melatonina (domp+mel) não obtiveram nenhum dano no parênquima hepático.

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

REFERÊNCIAS

Almohawes, Z. N. Protective effect of melatonin on gentamicin induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 12, 129-135, 2017.

Ben-Jonathan, N. Dopamine: a prolactin-inhibiting hormone. *Endocrine reviews*, 6(4), 564-589., 1985.

- Bernues, M. Á. V. *Interrelaciones entre prolactina y glándula pineal como reguladores del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid), 1987.
- Campos, M. R. M. D. *Enxaqueca e níveis séricos de Prolactina* (Doctoral dissertation, Universidade da Beira Interior), 2013.
- Czechowska, G., Celinski, K., Korolczuk, A., Wojcicka, G., Dudka, J., Bojarska, A., & Reiter, R. J. Protective effects of melatonin against thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *J Physiol Pharmacol*, 66(4), 567-79, 2015.
- Fraschini, F., Collu, R., & Martini, L. Mechanisms of inhibitory action of pineal principles on gonadotropin secretion. In *Ciba Foundation Symposium- Ageing in Transient Tissues (Colloquia on Ageing)* (pp. 259-278). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 1971.
- Guo, P., Pi, H., Xu, S., Zhang, L., Li, Y., Li, M., ... & He, M. (2014). Melatonin improves mitochondrial function by promoting MT1/SIRT1/PGC-1 alpha-dependent mitochondrial biogenesis in cadmium-induced hepatotoxicity in vitro. *Toxicological Sciences*, 142(1), 182-195, 2014.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. *Histologia Básica*. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1999.
- Kahn, D., Gavalier, J. S., Makowka, L., Chapchap, P., Mazzaferro, V., Casavilla, A., ... & Van Thiel, D. H. Does hyperprolactinemia affect hepatic regeneration independent of sex steroids?. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 112(5), 644, 1988.
- Madhu, P., Reddy, K. P., & Reddy, P. S. Melatonin reduces oxidative stress and restores mitochondrial function in the liver of rats exposed to chemotherapeutics. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 323(5), 301-308, 2015.
- Menendez Pelaez, A., Poeggeler, B., Reiter, RJ, Barlow Walden, L., Pablos, MI, & Tan, DX. Localização nuclear da melatonina em diferentes tecidos de mamíferos: evidência imunocitoquímica e radioimunoensaio. *Journal of cellular bioquímica*, 53 (4), 373-382, 1993.
- Messner, M., Huether, G., Lorf, T., Ramadori, G., & Schwörer, H. (2001). Presence of melatonin in the human hepatobiliary-gastrointestinal tract. *Life sciences*, 69(5), 543-551, 2004.
- Neto, J. B. M. MANEJO DA HIPERPROLACTINEMIA: REVISÃO LITERÁRIA. *Revista Interdisciplinar em Gestão, Tecnologia e Saúde*, 1(01), 52-66, 2018.
- Prata Lima, M. F., Baracat, E. C., & Simões, M. D. J. Effects of melatonin on the ovarian response to pinealectomy or continuous light in female rats: similarity with polycystic ovary syndrome. *Brazilian journal of medical and biological research*, 37(7), 987-995, 2004.
- Simon-Holtorf, J., Mönig, H., Klomp, H. J., Reinecke-Lüthge, A., Fölsch, U. R., & Kloehn, S. Expression and distribution of prolactin receptor in normal, fibrotic, and cirrhotic human liver. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*, 114(10), 584-589, 2006.

Sohrabvand, F., Jafari, M., Shariat, M., Haghollahi, F., & Lotfi, M. Frequência e aspectos epidemiológicos da infertilidade masculina. *Acta Medica Iranica* , 231-235, 2015.

Yang, Y., Sun, Y., Yi, W., Li, Y., Fan, C., Xin, Z., ... & Yi, D. A review of melatonin as a suitable antioxidant against myocardial ischemia–reperfusion injury and clinical heart diseases. *Journal of pineal research*, 57(4), 357-366, 2014.