MELATONINA PREVINE O ACÚMULO ECTÓPICO DE GORDURA NO FÍGADO EM RATAS OVARIECTOMIZADAS

Maria Luiza Vespero, Danielle Aparecida Munhos Hermoso, Rodrigo Polimeni Constantin, Emy Luiza Ishii Iwamoto, Jorgete Constantin, Eduardo Hideo Gilglioni (Co-orientador), Karina Sayuri Utsunomiya (Orientadora), email: ksutsunomiya2@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Bioquímica, Maringá. PR.

Área: Ciências Biológicas. Sub-área: Bioquímica, Metabolismo e Bioenergética.

Palavras-chave: esteatose hepática, deficiência estrogênica, inclusões lipídicas.

Resumo

A deficiência estrogênica pode causar alterações metabólicas importantes em mulheres após a menopausa. Nesse trabalho, o potencial da melatonina como agente preventivo do acúmulo ectópico de gordura no fígado foi avaliado, além de seus efeitos sobre parâmetros biométricos. Os resultados indicaram que a ovariectomia induz ganho de peso corporal nas ratas submetidas ao procedimento. O tratamento preventivo com a melatonina levou ao menor ganho de peso nas ratas normoestrogênicas, enquanto não diminuiu esse parâmetro nas ratas com deficiência de estrogênio. Assim, o ganho de peso foi semelhante entre as ratas ovariectomizadas tratadas com melatonina e as ratas ovariectomizadas não tradadas. Aparentemente o efeito sobre o ganho de peso corporal nas ratas ovariectomizadas se deve a alterações na adiposidade, o que não foi observado nas ratas normoestrogênicas. Nestas, apesar de a melatonina diminuir o ganho de peso corporal, não se observou redução na adiposidade corporal. A ovariectomia também aumentou a área de inclusões lipídicas no fígado e a melatonina preveniu o aparecimento excessivo dessas inclusões nas ratas ovariectomizadas tradadas com melatonina. Corroborando esses resultados sobre o acumulo de lipídeos no fígado, os resultados dos marcadores de dano hepático avaliados foram significativamente reduzidos nas ratas ovariectomizadas tratadas com melatonina. Os resultados destacam o potencial efeito hepatoprotetor da melatonina como agente preventivo sobre alterações metabólicas comuns em mulheres na pós-menopausa.

Introdução

A deficiência estrogênica leva a menopausa e pode ocasionar distúrbios do metabolismo energético, mudanças na composição corporal com elevação de gordura e redução de massa magra. Com o aumento na expectativa de

vida da população mundial, as mulheres passam cada vez mais tempo no período pós-menopausal, tornando indispensável a realização de estudos que se propõem a descrever as alterações do pós-menopausa, assim como a busca por terapias que previnem tais alterações. Estudos anteriores indicaram que a melatonina é capaz de reverter a esteatose hepática em ratas ovariectomizadas (Hermoso et al., 2016). A melatonina é um hormônio produzido principalmente pela glândula pineal, que possui função central na regulação do ciclo circadiano, ganho de peso corporal e balanço energético e que possui relação direta com os níveis circulantes de estradiol. No presente estudo, o potencial da melatonina como agente preventivo para essas alterações foi avaliado, iniciando a administração de melatonina imediatamente após a ovariectomia. Entre as ferramentas experimentais disponíveis para a avaliação da esteatose hepática, a histologia se destaca por tornar possível a análise de elementos teciduais, normais ou patológicos, sendo a coloração com o Sudan III capaz de corar as gorduras neutras, revelando a área das inclusões lipídicas nos hepatócitos. Assim, esse trabalho avaliou os efeitos do tratamento preventivo com a melatonina sobre a esteatose hepática por meio de análises histológicas do fígado de ratas ovariectomizadas. Além disso, foram avaliados marcadores de dano hepático e outros parâmetros biométricos, como peso corporal, consumo alimentar diário e índice de adiposidade.

Materiais e Métodos

Utilizaram-se ratas Wistar fêmeas (45 dias), divididas em 4 grupos: controle não tratadas (CON); controle tratadas com melatonina (CON+MEL); ovariectomizadas não tratadas (OVX) e OVX tratadas com doses diárias de melatonina (OVX+MEL). O tratamento com melatonina teve início após o procedimento cirúrgico e durou 16 semanas, sendo realizado por meio de doses orais diárias de 10 mg/kg. As ratas dos grupos CON e OVX receberam o mesmo volume do veículo. Para a confecção das lâminas, ao término do tratamento, os fígados foram coletados e congelados em nitrogênio líquido, para posterior corte em secções com uso do criostato. As secções cortadas foram coradas por meio da técnica histoquímica do Sudan III (Bancroft e Gamble, 2002). As imagens foram capturadas utilizando microscópio equipado com câmera colorida acoplado a um computador. O índice de adiposidade foi definido como a razão entre a soma dos pesos dos tecidos adiposos (retroperitoneal, mesentérico, inguinal e uterino) por 100 g do peso corporal, medido ao final do período experimental. Kits da Gold Analisa® (BeloHorizonte, Brasil) foram usados para medir a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) no plasma.

Resultados e Discussão

O ganho de peso corporal ao término do tratamento está mostrado na Figura 1A. As ratas submetidas à ovariectomia apresentaram maior ganho de peso

em relação ao grupo controle (CON), sendo o aumento de 26% e 23% nos grupos OVX e OVX+MEL, respectivamente. O tratamento com a melatonina foi capaz de diminuir o ganho de peso das ratas no grupo CON+MEL (24%), provavelmente devido ao menor consumo alimentar diário (-13%) em relação ao grupo CON (Figura 1B).

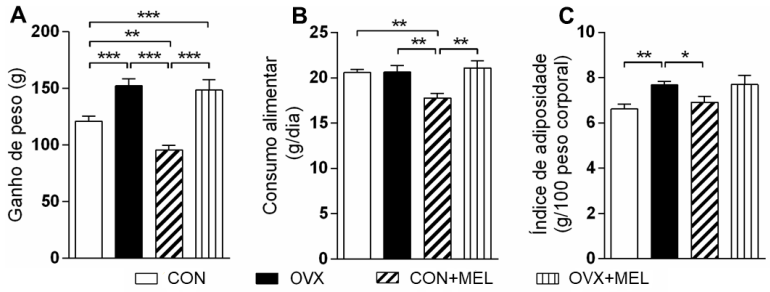

Figura 1 – (A) Ganho de peso corporal, (B) Consumo alimentar, (C) Índice de adiposidade. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os valores calculados pelo one-way ANOVA com o pós-teste de Newman-Keuls. * P <0,05; ** P <0,01 e *** P <0,001 (n=8-17).

Não foi observada alteração no índice de adiposidade nas ratas CON+MEL em relação aos demais grupos (Figura 1C), indicando que as diferenças no peso corporal não podem ser atribuídas a mudanças na adiposidade corporal. O índice de adiposidade em ambos os grupos OVX e OVX+MEL foi 16% maior em relação ao grupo CON, indicando que a melatonina preveniu o aumento da adiposidade corporal causada pela deficiência estrogênica.

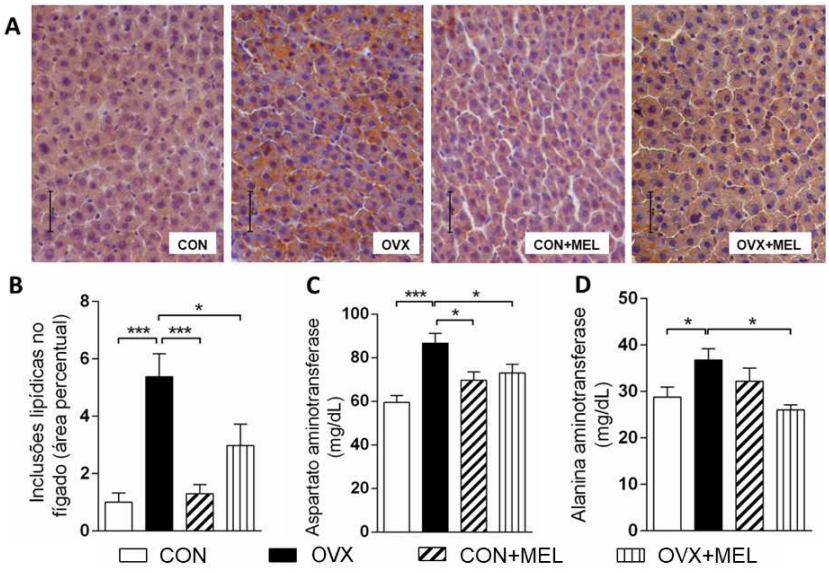

Figura 2 – (A) Fotomicrografias representativas das análises histoquímicas de secções do fígado de ratas dos grupos CON, OVX, CON+MEL e OVX+MEL. (B) Inclusões lipídicas no fígado, (C) Atividade da aspartato aminotransferase no plasma (D) Atividade da alanina aminotransferase no plasma. Os valores estão expressos em média ± erro padrão. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os valores calculados pelo one-way ANOVA com pós teste de Newman-Keuls. * P <0,05; ** P <0,01 e *** P <0,001. (n=4-7)

As fotomicrografias representativas das análises histoquímicas de secções do fígado estão apresentadas na Figura 2A. A medida da área das inclusões lipídicas coradas (Figura 2B) indicou aumento de 4 vezes no acúmulo de lipídeos nas ratas OVX, em relação ao grupo CON. Nas ratas OVX+MEL, o tratamento preveniu o acúmulo excessivo de lipídeos no fígado e os valores encontrados no grupo OVX+MEL não diferiram significativamente daqueles encontrados para os animais CON. Nas ratas CON+MEL, o tratamento não alterou significativamente o acúmulo de lipídeos no fígado. As atividades das enzimas AST e ALT foram elevadas apenas nas ratas OVX em relação ao grupo CON, em 46% e 28% (Figura 2C e 2D), respectivamente, indicando que o tratamento com a melatonina foi eficaz em proteger o fígado em ratas fêmeas com deficiência de estrogênio.

Conclusões

A deficiência estrogênica causou aumento no ganho de peso corporal nas ratas ovariectomizadas. O tratamento com a melatonina, iniciado logo após a ovariectomia, não foi capaz de prevenir o aumento de peso corporal, que parece ter resultado diretamente do aumento na massa de tecido adiposo. Nas ratas normoestrogênicas, a melatonina levou a um menor ganho de peso corporal, que pode ser atribuída, ao menos em parte, ao menor consumo alimentar das ratas controle tratadas com a melatonina. Experimentos adicionais poderão determinar se esse efeito possui relação com eventuais alterações no ciclo circadiano ou no metabolismo energético. É notável o efeito benéfico da melatonina na prevenção da esteatose hepática associada à deficiência estrogênica, destacando o enorme potencial da melatonina como alternativa terapêutica para os distúrbios metabólicos comuns em mulheres no período pós-menopausal.

Agradecimentos

CNPq, Capes e Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

Referências

HERMOSO, D. A. M. et al. Melatonin protects female rats against steatosis and liver oxidative stress induced by oestrogen deficiency. **Life Sciences**, v. 157, p. 178-186, 2016.

BANCROFT, J. D., GAMBLE, M. **Theory and practice of histological thechniques**. 5. ed. London: Churchill Livingstone, 2002.