

AÇÃO DA MELATONINA SOBRE OS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO, FIBROSE E ALTERAÇÕES HEPÁTICAS NA CIRROSE BILIAR SECUNDÁRIA

Tayná O Mendes- Graduada do Curso de Enfermagem da ULBRA, bolsista FAPERGS; Josieli R Colares- Doutoranda do PPG Ciências Médicas/UFRGS; Elizângela G Schemitt- Doutoranda do PPG Ciências Médicas/UFRGS; Renata M Hartmann- Doutoranda do PPG Ciências Médicas/UFRGS; Francielli Licks- Doutoranda do PPG Fisiologia/UFRGS; Adriane Dal Bosco- Doutoranda do PPG Ciências Médicas/UFRGS; Norma AP Marroni- Professora do curso de graduação odontologia e PPGBioSaúde da ULBRA

INTRODUÇÃO

A cirrose biliar secundária é uma complicação tardia da obstrução prolongada das vias biliares extra-hepáticas. O modelo experimental de ligadura de ducto biliar (LDB) mimetiza a cirrose biliar secundária em humanos.

O EO é caracterizado por um desequilíbrio entre as substâncias oxidantes e as defesas antioxidantes, a favor das oxidantes.

A melatonina ((Mel) N-acetil-5-metoxitriptamina) é uma indolamina lipofílica, sintetizada a partir da serotonina e citada em diferentes estudos como um potente antioxidante.

OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a ação da Mel sobre os marcadores de EO, fibrose e alterações hepáticas em ratos com cirrose biliar secundária, induzida pela LDB.

METODOLOGIA

Foram utilizados 32 ratos machos Wistar, divididos em 4 grupos (CO, CO+Mel, LDB e LDB+Mel). A Mel foi administrada durante duas semanas, iniciando no décimo quarto dia após a cirurgia, no 28º dia os animais foram mortos.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e seguido do teste Student-Newman-Keuls para múltiplas comparações ($p < 0,01$).

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (CEUA), da ULBRA mediante aprovação dos protocolos de número 2015 – 2P e obedeceu às diretrizes mínimas para o uso de animais.

RESULTADOS

Na avaliação das enzimas de integridade hepática observou-se um aumento significativo de todas as enzimas no grupo LDB com relação aos grupos controles e uma diminuição significativa destes valores no grupo LDB+Mel em comparação com o grupo LDB.

Grupos	AST (U/L)	ALT (U/L)	FA (U/L)
CO	88,8 ± 10,9	37,0 ± 1,9	122,4 ± 13,5
CO+Mel	90,4 ± 8,4	38,8 ± 3,2	111,6 ± 8,1
LDB	425,8 ± 46,6*	105,8 ± 13,5*	381,2 ± 35,5*
LDB+Mel	117,5 ± 18,8#	42,0 ± 3,4#	104,3 ± 11,0#

* Aumento significativo em relação aos grupos CO e CO+Mel ($p < 0,001$).
Diminuição significativa em relação ao grupo LDB ($p < 0,001$).

Analisando a lipoperoxidação hepática realizada através da técnica de TBARS observou-se um maior dano no grupo LDB quando comparado aos grupos controles, e uma diminuição nos animais do grupo LDB+Mel.

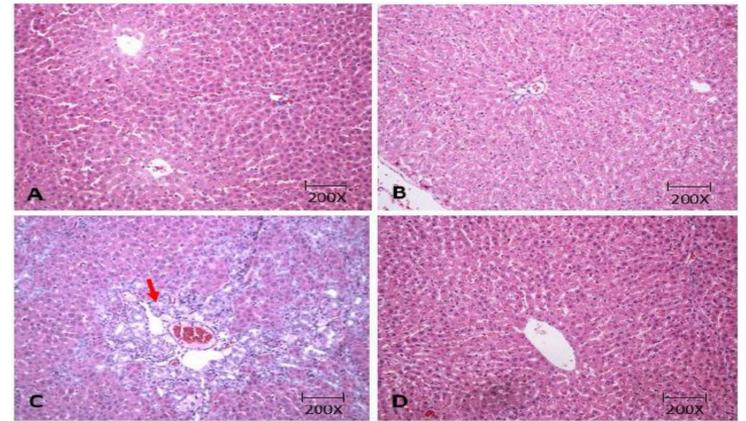
As enzimas SOD e CAT apresentaram uma menor atividade no grupo LDB quando comparada aos grupos controles e no grupo LDB+Mel um aumento destas quando comparadas ao grupo LDB.

As enzimas glutatona peroxidase, glutatona S-transferase e glutatona, apresentaram aumento significativo no grupo LDB com relação aos grupos controles ($p < 0,001$) e uma diminuição significativa no grupo LDB+Mel com relação ao grupo LDB.

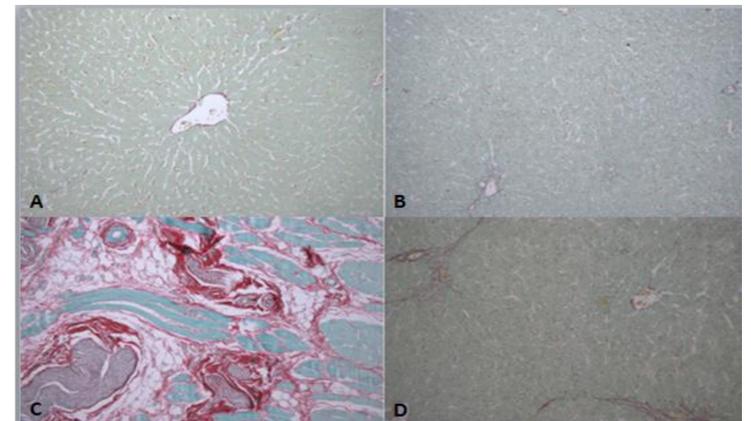
	CO	CO+Mel	LDB	LDB+Mel
TBARS	0,27 ± 0,03	0,31 ± 0,07	3,49 ± 0,20 ^a	0,60 ± 0,13 ^a
SOD	2,43 ± 0,17	2,31 ± 0,25	0,88 ± 0,21 ^c	2,47 ± 0,22 ^d
CAT	2,19 ± 0,21	2,21 ± 0,28	1,09 ± 0,01 ^c	2,46 ± 0,04 ^d
GPx	6,93 ± 0,76	7,15 ± 1,05	37,78 ± 2,39 ^a	9,61 ± 1,20 ^b
GSH	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,06 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,00 ^b
GST	2,28 ± 0,20	2,57 ± 0,09	5,08 ± 0,43 ^a	1,93 ± 0,21 ^b

Valores da LPO e enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx, GSH e GST. ^aAumento significativo com relação aos grupos CO e CO+Mel. ^bAumento significativo com relação ao grupo LDB. ^cDiminuição significativa com relação aos grupos CO e CO+Mel. ^dDiminuição significativa com relação ao grupo LDB.

Na análise histológica dos diferentes grupos avaliados, observou-se que os grupos CO e CO+Mel apresentam uma arquitetura hepática normal. No grupo LDB evidenciou-se uma destruição do parênquima hepático, presença de infiltrado inflamatório e fibrose, observado pela coloração de HE e Picosirius. O uso da Mel no grupo LDB+Mel restaurou o parênquima hepático.



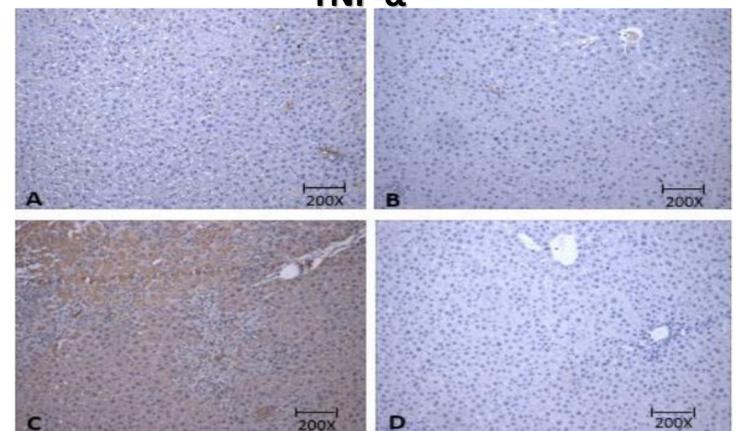
Em A e B pode-se observar o parênquima hepático de animais dos grupos controle, respectivamente. Em C, observa-se em análise histológica do fígado de um animal do grupo LDB, alteração do parênquima e presença de infiltrado inflamatório (seta vermelha) e em D, pode-se observar, em animal do grupo LDB+Mel, uma reestruturação do parênquima(200X).



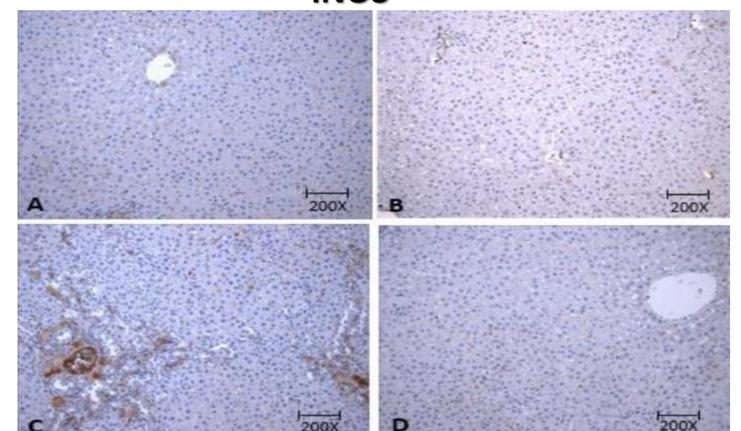
Observamos ausência de septos fibróticos em A e B. Em C, observa-se o grupo LDB com uma marcação positiva da coloração e em D, pode-se observar uma marcação mínima da coloração no grupo LDB+Mel(200X).

Na avaliação imunohistoquímica da iNOS e TNF- α pode-se observar uma marcação positiva de ambas no grupo LDB em contraste, no grupo LDB+Mel observa-se que esta marcação foi significativamente reduzida no grupo LDB+Mel em comparação com o grupo de LDB ($p < 0,001$).

TNF- α



iNOS



CONCLUSÕES

A LDB mimetiza a cirrose biliar secundária em humanos, sendo um modelo eficaz para o estudo de alterações decorrente de alterações no parênquima hepático. A Mel parece ser um antioxidante eficaz neste modelo experimental uma vez que normaliza as provas de integridade hepática, diminui o estresse oxidativo e restaura o parênquima hepático a julgar pela histologia.