



## Advances in Oncology Research (AOR)



# To analyze the effect of melatonin on liver of rats induced by streptozotocin diabetes

Silva G.S.F<sup>1</sup>; Andrade F.L<sup>2</sup>, Melo I<sup>3</sup>, Maia C.S<sup>4</sup>; Tenorio B.M<sup>5</sup>, Tenório F.C.A.M<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco– UFPE; <sup>2</sup>Estudante do Curso de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco- UFPE; <sup>3</sup>Docente da Universidade IBGM- IBGM; <sup>4</sup>Docente da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Departamento de Histologia e Embriologia; <sup>5</sup>Docente da Universidade Federal de Alagoas- UFAL; <sup>6</sup>Docente da Universidade Federal de

### ABSTRACT

Hyperglycemia is the main feature of a group of metabolic diseases called diabetes mellitus. The pathophysiology of diabetes is directly related to pancreas and liver that is responsible for absorbing nutrients. To analyze the effect of melatonin on liver of rats induced by streptozotocin diabetes. The induction of diabetes was obtained by intraperitoneal injection of streptozotocin and test to confirm diabetes was carried out during 3 and 7 days after application. The melatonin treatment was performed at a dose of 200 µg/100g of animal body weight by injection. Morphometry was performed from a graduated graticule in the same points where focused on the liver of the rats in each group located. morphometric, livers showed no significant differences. Research suggests that melatonin acts indirectly by altering the secretion of insulin. Therefore, it was concluded that melatonin may play a role in the effective treatment of diabetes, as can arrive to reduce liver damage caused by morbidity caused by streptozotocin.

**Keywords:** Diabetes; Glucose; Liver; Melatonin; Streptozotocin

### \*Correspondence to Author:

Silva G.S.F.

Estudante do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco– UFPE

### How to cite this article:

Silva G.S.F; Andrade F.L, Melo I, Maia C.S; Tenorio B.M, Tenório F.C.A.M. MORFOMETRIA HEPÁTICA DE RATOS INDUZIDOS A DIABETESPELA ESTREPTOZOTOCINA E TRATADOS COM.. American Journal of Medicine and Health 2018, 1:5.



AePub LLC, Houston, TX USA.

Website: <https://aepub.com/>

## INTRODUÇÃO

O fígado é um dos principais órgãos do corpo humano e possui uma ampla capacidade metabólica, além de influenciar na funcionalidade de diversos órgãos. Uma das principais funções desse órgão consiste na regulação dos níveis de glicose de diferentes formas.

A glicose proveniente dos alimentos vai para o fígado, onde é armazenada na forma de glicogênio ou usada como fonte de energia – é quebrada e distribuída pelo corpo através da veia porta. Esse órgão realiza também o processo da gliconeogênese, que consiste na quebra de compostos não-glicídicos para se transformarem em glicose quando os níveis desta no sangue estão baixos. O fígado é importante ainda para estimular a liberação de insulina pelo pâncreas, através da elevação dos níveis de glicose no sangue. Problemas nessas funções hepáticas podem ocasionar diabetes, tanto pela formação e liberação descontrolada de glicose pelo fígado, quanto pela falta ou excesso de estímulo ao pâncreas.

Diabetes é uma doença metabólica decorrente de problemas quanto à produção, secreção e/ou ação da insulina. A insulina, por sua vez, é um hormônio produzido pelas células beta do pâncreas. Tem como principais funções controlar a quantidade de glicose no sangue e também coordenar a sua ação, promovendo a entrada de glicose nas células conforme a necessidade de energia para suas atividades, e reduzindo dessa forma a glicemia. Logo, problemas com a insulina resultam no aumento de glicose no sangue, ou seja, a hiperglicemia, que por um longo período gera o diabetes. Os principais tipos de diabetes são tipo 1 e

tipo 2. No diabetes tipo 1, o sistema imunológico cria anticorpos que atacam as células beta do pâncreas, influenciando dessa forma na produção da insulina. No diabetes tipo 2, não há problemas quanto à produção da insulina, mas sim quanto à ação desse hormônio. É a chamada resistência insulínica e, por causa disso, há um aumento na produção da insulina para tentar manter os níveis estáveis de glicose.

Com o objetivo de estudar e ampliar os conhecimentos a respeito dessa doença, uma substância de origem natural é utilizada para induzir a diabetes, a estreptozotocina. É uma nitrosamida captada pelas células beta pancreáticas que possuem transportadores de glicose GLUT-2. A alcalinização do DNA celular e subsequente ativação da poli-ADP ribose sintetase causam depleção rápida e letal de NAD nas células pancreáticas, com subsequente redução no nível de ATP e posterior inibição da síntese e secreção da insulina<sup>1</sup>

Outro alvo de estudos é a melatonina, hormônio secretado pela glândula pineal que tem como principal função a regulação do ciclo circadiano nos indivíduos, mas que também é um importante antioxidante. Sabe-se que o diabetes gera um estresse oxidativo pela produção elevada de espécies reativas de oxigênio, que pode causar “danos à via de sinalização da insulina, diminuição da translocação dos transportadores de glicose (GLUT-4) nos adipócitos e redução da internalização da insulina nas células endoteliais”<sup>1</sup>. Nesse sentido, busca-se relacionar a ação antioxidante da melatonina e o estresse oxidativo, já que foi visto que uma baixa produção desse

hormônio está associada a outras diversas patologias. Além de influenciar no estresse oxidativo, estudos relatam que uma baixa produção e secreção de melatonina têm influência na elevação da resistência insulínica, logo, esses indivíduos são mais propensos a desenvolver diabetes tipo 2.

## **OBJETIVOS**

Realizar análise morfométrica do fígado de ratos induzidos a Diabetes pela estreptozotocina e tratados com melatonina.

## **METODOLOGIA**

Foram utilizados 24 ratos albinos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, com 90 dias de idade, virgens, pesando  $200g \pm 30g$ , procedentes do Biotério da Universidade Federal de Pernambuco. Esses animais foram mantidos em gaiolas, com alimentação e água ad libitum, temperatura de 22 °C. Após um período de adaptação, os animais foram divididos em três grupos, cada um constituído por 8 animais, a saber

**Grupo I** - ratos mantidos em ciclo claro/escuro de 12/12 horas (controle);

**Grupo II** - ratos induzidos ao diabetes pela estreptozotocina e mantidos em ciclo claro/escuro de 12/12 horas;

**Grupo III** – ratos induzidos ao diabetes pela estreptozotocina, tratadas com melatonina e mantidos em ciclo claro/escuro 12/12 horas;

### **Indução ao Diabetes**

A indução ao diabetes foi obtida com a injeção intraperitoneal de estreptozotocina na dose de 50mg/kg do peso corporal diluído em tampão citrato. A estreptozotocina foi aplicada durante um

dia e o exame para confirmação da diabetes foi realizado durante o 3º e 7º dia depois da aplicação.

### **Tratamento com melatonina**

O tratamento com melatonina foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Prata-lima et al., (2004)<sup>2</sup>. A melatonina administrada foi proveniente da Sigma, St. Louis, MO, USA e administrada na dose de 200 µg/100g de peso corporal do animal por meio de injeções subcutâneas no início da noite (18:00h). Foi dissolvida em um volume de etanol (0,02 mL) e diluída em 0,9 % NaCl. Os animais controle receberam solução placebo (NaCl). O tratamento de melatonina foi realizado durante sete dias.

### **Análise histológica**

Oito machos de cada grupo foram eutanasiados no 7º dia. Para tanto, os machos foram anestesiados com hidrocloridrato de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por via intramuscular. Em seguida, foi realizado a abertura da cavidade abdominal desde o púbis até o rebordo das costelas. Então, foi retirado o fígado, o qual foi mergulhado imediatamente em líquido de Bouin, permanecendo no mesmo por 48 horas. Em seguida os machos foram eutanasiados aprofundando-se a anestesia até a dose letal. Após esses procedimentos, o órgão foi clivado, obtendo-se fragmentos, os quais 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), analisados em microscópio de luz, da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50.

### Análise morfométrica

A morfometria do fígado foi realizada empregando-se a metodologia descrita por Engelman et al., (2001)<sup>3</sup>. Foi determinada a proporção entre o parênquima não lobular e lobular do fígado, utilizando uma quadrícula com 100 pontos-teste, colocada sobre os cortes das lâminas histológicas coradas pela Hematoxilina-Eosina, pois este facilita a visualização de espaços porta com a utilização de métodos esterológicos. A contagem foi feita em cinco lâminas de cada grupo, onde foram contados 10 campos, utilizando a objetiva de 40x, perfazendo um total de 5.000 pontos por grupo. De maneira semelhante, foram quantificadas as células de Kupffer em lâminas coradas pela hematoxilina-eosina.

### Análise Estatística

A análise estatística foi realizada em um programa computacional InStat®, onde dados serão avaliados por meio de testes não paramétricos de WilcoxonMann-Whitney ( $P>0,05$ ).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise morfométrica demonstrou que a quantidade de células de Kupffer (CK) foi maior nos animais do grupo III quando comparado com o grupo I e II (Tabela 2). Nos tecidos, a melatonina tem potencial regenerativo, e evidencia-se que a aplicação exógena aumenta resposta anti-inflamatória<sup>4</sup>. Bem como diminuindo a amplitude de processos de proliferação celular e danos as mesmas<sup>5</sup>.

Tabela 1: Média e desvio padrão das Células de Kupffer presentes no fígado dos ratos neonatos (1º dia de vida).

	GI	GII	GIII	F <sup>P</sup>
CK	17,2 ± 2,79 <sup>a</sup>	20,72 ± 2,96 <sup>b</sup>	35,86 ± 1,65 <sup>a</sup>	9,86 <sup>0,0014</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ( $P>0,05$ ).

### CONCLUSÃO

Conclui-se que a melatonina desempenha funções essenciais e sua presença no tecido hepático pode acarretar alterações na fisiologia hepática.

### REFERÊNCIAS

1. SILVA, Maísa et al. Efeito da estreptozotocina sobre os perfis glicêmico e lipídico e o estresse oxidativo em hamsters. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abem/v55n1/06.pdf>. Acesso em: 03 out. 2016.
2. PRATA-LIMA, M. F.; BARACAT, E. C.; SIMÕES, M. J. 2004. 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*. v. 37, n. 7, p. 987-995.
3. ENGELMAN, M. F. B. et al. 2001. Estudo morfométrico do fígado de ratos submetidos a doses supra-fisiológica de tiroxina. *ArqBras de Endocrin e Metabol*.v. 45, n. 2.
4. ÇÖL, C. et al. 2010. Exogenous melatonin treatment reduces hepatocyte damage in rats with experimental acute pancreatitis. *J HepatobiliaryPancreatSci*17:682–687.
5. BATISTA, A. P. C. et al. 2013. Melatonin effect on the ultrastructure of Ehrlich ascites tumor cells, lifetime and histopathology in Swiss mice. *Life Sciences* 93: 882–888.

