

EFEITOS DA OOFORECTOMIA SOBRE O SISTEMA GENITAL FEMININO DE RATAS

Dayane Freitas da Silva Aluno¹; Katharine Raquel Pereira dos Santos²

¹Estudante do Curso de Bacharelado em Enfermagem - CAV – UFPE; E-mail: dayannefreitas1@hotmail.com, ²Docente/pesquisador do Depto de Biologia – CAV – UFPE. E-mail: kraquels@yahoo.com.br.

Sumário: O sistema genital feminino vem sendo objeto de estudo devido a sua complexidade e importância para a saúde da mulher, além disso, esses estudos tornam-se proeminentes à medida que aumenta o número de doenças relacionadas à saúde feminina. Algumas dessas patologias, como obesidade, osteoporose e doenças cardiovasculares, têm início com as variações dos níveis de estrógeno e progesterona. Diante desses aspectos, este trabalho buscou analisar a histomorfometria do sistema genital feminino de ratas *Wistar* ooforectomizadas. Foram utilizadas 20 ratas de linhagem *Wistar*, o estudo foi do tipo caso-controle e os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos (cada grupo com 10 animais): Grupo I: ooforectomia (n=10) com 60 dias de idade; Grupo II: sham-ooforectomia (n=10). Os resultados revelaram que as ratas do grupo I apresentaram atrofia dos órgãos com marcante diminuição de seus componentes, o útero com diminuição do estroma, e escassez de fibroblastos, a vagina evidenciando rarefação do espessamento epitelial, e a mama foi evidenciado poucos mastócitos. O grupo II apresentou útero bem desenvolvido, com grande quantidade de fibroblastos, a vagina com maior espessamento da epiderme. Este trabalho contribui de forma positiva, uma vez que proporciona o entendimento das alterações microanatômicas dos órgãos reprodutivos.

Palavras-chave: histologia; genitália feminina; menopausa precoce.

INTRODUÇÃO

O sistema genital feminino vem sendo objeto de estudo devido a sua complexidade e importância para a saúde da mulher, além disso, esses estudos tornam-se proeminentes à medida que aumenta o número de doenças relacionadas à saúde feminina (Barrett-Connor, 1993). Algumas dessas patologias, como obesidade, osteoporose e doenças cardiovasculares, têm início com as variações dos níveis de estrógeno e progesterona (Ceravolo *et al.*, 2007; Casanova e Spritzer, 2007). A redução desses hormônios pode acarretar em cessação reprodutiva, incidência de várias doenças e quando ocorre precocemente, ocasiona a menopausa precoce (Branhan *et al.*, 1993; Montes e Luque, 1988). De acordo com a Sociedade Brasileira do Climatério (SOBRAC 2013) a menopausa é definida como a última menstruação, geralmente confirmada após doze meses consecutivos sem a ocorrência de um período menstrual, em consequência a falência ovárica definitiva. Está relacionada ao início do processo de envelhecimento (Landau, 1994). A menopausa precoce também pode ser induzida através da ooforectomia bilateral (Studd, 1989) e causa uma redução abrupta dos níveis séricos de estrógeno e progesterona no organismo e provoca importantes efeitos na saúde feminina a curto, médio e longo

prazo, o que ocasiona alterações fisiológicas e psicológicas. Os sintomas incluem ondas de calor, instabilidade emocional, insônia, obesidade, osteoporose, infecções urinárias, doenças cardiovasculares, maior probabilidade de desenvolver diabetes e hipertensão. No sistema genital feminino, o sintoma mais frequente é a secura, associada a um progressivo estreitamento da vagina, onde há redução da camada basal do epitélio. Provoca também uma redução da rugosidade e da elasticidade vaginal (Adam *et al.*, 1981; Halliwell e Grootveld, 1987; Lima *et al.*, 2007; Speroff *et al.*, 1991; Studd, 1989), assim como diminuição da espessura das camadas do útero e das células da glândula mamária, visto que estes hormônios estimulam o crescimento celular. Há relatos na literatura de que a densidade elevada de mastócitos promovem o crescimento neoplásico pelo fato destes aumentarem a angiogênese (IAMAROON *et al.*, 2003). Sabe-se, a um certo tempo que os mastócitos participam do processo inflamatório. E este conhecimento, é baseado no fato, de que os mastócitos estão presentes e são recrutados para os locais de inflamação. Um número maior de mastócitos foi detectado em neoplasias que apresentavam caráter maligno (HARTVEIT *et al.*, 1981). Entretanto, o nível de participação dos mastócitos em processos inflamatórios e a importância do seu papel, ainda não foram completamente elucidados até hoje (SANTOS, 2010). Diante disto, este trabalho tem como objetivo Analisar a histomorfometria do sistema genital feminino de ratas Wistar ooforectomizadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 20 ratas de linhagem Wistar (*RattusNorvegicusAlbinus*), adultas jovens, pesando entre 200g e 300g e oriundas do Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE. O estudo foi do tipo caso-controle e os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos (cada grupo com 10 animais): Grupo I: ooforectomizado (n=10) com 60 dias de idade; Grupo II: sham-ooforectomizado (n=10) com 60 dias de idade. No grupo ooforectomia inicialmente foi administrada medicação antibiótica (Ampicilina sódica) 20mg/kg por via intraperitoneal 10 minutos antes da cirurgia. A ooforectomia foi realizada com os animais pertencentes ao grupo I previamente anestesiados, utilizando-se inicialmente 0,1 ml de xilazina (20mg/ml) e quetamina (50 mg/ml) por 100 gramas de peso, por via intraperitoneal. Os animais foram posicionados lateralmente para a localização dos ovários, o qual se distância 1cm da coluna vertebral e 1 cm abaixo da última costela. Foi realizada tricomia manual bilateralmente e antisepsia com álcool 70% na região a ser incisada. O material removido foi fixado em formol neutro tamponado (NBF) a 10% e processado histologicamente para confirmação da remoção bilateral dos ovários. No período pós-operatório os animais foram colocados em gaiolas isoladas para a recuperação anestésica. Foi administrado dipirona 200mg/kg por via oral em dose única. Após o período pós-operatório, os animais foram acomodados em gaiolas e separados nas condições de ciclo claro/escuro 12/12h por um período de 6 meses. Os animais do grupo Sham-ooforectomia passaram pelos mesmos procedimentos cirúrgicos descritos acima, porém os mesmos não sofreram a remoção bilateral dos ovários. O material obtido foi mergulhado em uma solução de NBF a 10 %, e permaneceu nesta solução pelo período de 24 horas. Após esse procedimento, os fragmentos do útero, vagina e mama foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Para cada fragmento de tecido foram confeccionados

cortes semi-seriados com espessura 4µm. Os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (H.E.) e analisados sob microscopia de luz. As imagens histológicas do útero, vagina e mama foram capturadas por câmera digital (Moticam 2300) acoplada ao microscópio óptico (Nikon E-200), sob foco fixo e clareza de campo, obtendo-se 20 campos por lâmina com aumento final de 100X e 400X. As fotomicrografias foram avaliadas através do software ImageJ versão 1.44 (Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.), onde foram analisados o número fibroblastos no endométrio uterino, o número de mastócitos na mama e a espessura total do epitélio vaginal, bem como, a espessura de cada uma das suas camadas. As medidas de espessura foram realizadas em micrômetro.

RESULTADOS

Os resultados analisados revelaram que as ratas do grupo I apresentaram atrofia dos órgãos com marcante diminuição de seus componentes, o útero com diminuição do estroma, poucas glândulas tubulares e escassez de fibroblastos, a vagina evidenciando rarefação do espessamento epitelial, com diminuição do espessamento das camadas, e na mama foi evidenciado poucos mastócitos imersos em grande quantidade de tecido adiposo. O grupo II apresentou útero bem desenvolvido com epitélio superficial do tipo colunar, núcleos volumosos, o estroma apresentou numerosas glândulas tubulares tortuosas com epitélio cúbico, e grande quantidade de fibroblastos, a vagina com maior espessamento da epiderme e conseqüentemente das camadas, e a mama mastócitos imersos em grande quantidade de tecido adiposo.

DISCUSSÃO

A análise histomorfométrica revelou que o grupo I apresentou uma diminuição do número de fibroblastos quando comparado com o grupo II. Esses resultados corroboram os achados de MARQUES (2002), o qual relata que em ratas do grupo II, a média dos pesos uterinos e seus constituintes foi maior que dos úteros das ratas do grupo I. o grupo II, neste foi comum o achado de secreção intra-ductal, com nítido predomínio dos ductos sobre os alvéolos, possivelmente resultante da estimulação pelos estrogênios. SEGUNDO SANTOS (2001) o estrógeno provoca aumento do tecido conjuntivo, além da proliferação celular, concordando com nossos resultados, já os achados de Hargreaves et al. (1998) não observaram diferenças com relação a proliferação celular mamaria resultante da estimulação pelo estrógeno. Há relatos na literatura de que a densidade elevada de mastócitos promovem o crescimento neoplásico pelo fato destes aumentarem a angiogênese (IAMAROON et al., 2003). Um número maior de mastócitos foi detectado em neoplasias que apresentavam caráter maligno (HARTVEIT et al., 1981). A produção por essa célula de mediadores químicos que podem induzir reabsorção óssea indica um possível papel dessa célula na patogênese da osteoporose, porem os resultados não evidenciaram predomínio de mastócitos entre os grupos. Entretanto, quando comparado às mamas direita e a esquerda pôde-se observar que o número de mastócitos da mama direita foi significativamente maior quando comparada com a mama esquerda. Contudo é necessário mais estudos para elucidar o papel dessas células no índice de proliferação de apenas uma das mamas, a fim de desvendar esses achados.

CONCLUSÕES

Pela observação dos aspectos analisados este trabalho permite concluir que as ratas do grupo I apresentaram atrofia dos órgãos com marcante diminuição de seus componentes. O grupo II apresentou órgãos bem desenvolvidos, resultando em proliferação celular e tecidos com espessamento maior, evidenciando que o estrógeno atua na proliferação e estimulação de células e tecidos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio ao projeto com as bolsas remuneradas auxiliando na execução da pesquisa, a UFPE pelos laboratórios e materiais para desenvolver as atividades, e a minha orientadora, Professora Dr. Katharine Santos por estar sempre disposta a tirar as dúvidas e auxiliar durante todo desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ADAM, S.; WILLIAMS, V.; VESSEY, M. P. Cardiovascular disease and hormone replacement treatment: a pilot case-control study. **British Medical Journal** (Clinical Research), London, v.282(6272), p.1277-1278, 18 Apr. 1981.
- BARRETT-CONNOR E. **Epidemiology and the menopause: a global overview**. Int J Fertil Menopausal Stud. 1993; 38(Suppl 1):6-14.
- BRANHAN, W.S.; ZEHER, D.R. & Sheehan, D.M. Differential sensitivity of rat uterine growth and epithelium hypertrophy to estrogens and antiestrogens. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 203: 297 - 303, 1993.
- CERAVOLO, G. S.; TOSTES, R. C.; FORTES, Z. B.; CARVALHO, M. H. C. **Efeitos do estrógeno no sistema cardiovascular. Hipertensão**. São Paulo, v.10(4), p.124-130, 2007.
- LIMA, S. M. R. R.; BELLÓ-KLEIN, A.; FLUES, K.; PAULINI, J.; MONTE, O.; VASCONCELLOS, LEONARDO S. et al. Influência da ooforectomia na variação ponderal em ratas jovens e adultas. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 48, n. 2, p. 299-304, 2004.
- BRITO, NARA MACEDO BOTELHO et al. Estudo microscópico de ovário autotransplantado em ratas submetidas à ooforectomia. **Rev. para. med**, v. 16, n. 2, p. 28-32, 2002.
- PIOVESAN, ANA CLAUDIA et al. Estudo morfológico e molecular da mama de ratas castradas tratadas com isoflavona ou estrogênios. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 27, n. 4, p. 204-9, 2005.
- MARQUES, DAYANA. et al. **Efeitos da isoflavona e estradiol sobre o perfil lipídico (cadioprotetor) em ratas ooforectomizadas como modelo de menopausa**. Universidade Federal do Ceará UFC Departamento de Saúde Materno Infantil, 2002.
- DOS SANTOS, LUCIANA DE OLIVEIRA MARQUES; BIONDO-SIMÕES, MARIA DE LOURDES PESSOLE; IOSHII, SÉRGIO OSSAMU. Efeito dos estrógenos conjugados e da medroxiprogesterona sobre a mama: estudo experimental. **RBGO**, v. 23, n. 8, 2001.
- HARGREAVES DF, KNOX F, SWINDELL R, POTTEN CS, BUNDRED NJ Epithelial proliferation and hormone receptor status in the normal post-menopausal breast and the effects of hormone replacement therapy. **Br J Cancer** 1998; 78:945-9.