

EFEITOS DA MELATONINA NA HISTOMORFOMETRIA DOS RINS E DO FÍGADO DE RATOS WISTAR EXERCITADOS COM DOENÇA DE PARKINSON



<https://doi.org/10.22533/at.ed.0051125180311>

Data de aceite: 18/07/2025

Kananda Oliveira Garcia Ruiz

Acadêmicos do Curso de Medicina da
Universidade Federal de São João del-Rei
– Campus Dom Bosco - UFSJ

José Victor Ribeiro Silva Gomes

Acadêmicos do Curso de Medicina da
Universidade Federal de São João del-Rei
– Campus Dom Bosco - UFSJ

Ismael Augusto Lima Santos

Acadêmico do Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
São João del-Rei – Campus Dom Bosco
– UFSJ

Gustavo Amorim Alves

Mestre em Ciências Morfofuncionais/
Enfermeiro

Laila Cristina Moreira Damázio

Professora do Curso de Medicina da
Universidade Federal de São João
del-Rei – UFSJ/DEMED e do Curso de
Fisioterapia da UNIPAC/BARBACENA

RESUMO: A doença de Parkinson (DP), segunda condição neurodegenerativa mais comum do sistema nervoso central (SNC), é um distúrbio idiopático caracterizado por manifestações sistêmicas motoras e não

motoras. O estudo teve como objetivo geral analisar os efeitos da Melatonina no rim e fígado de ratos exercitados com Doença de Parkinson. Foram utilizados um total de 64 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) com massa corporal entre 250 e 450 g e 40 dias de vida. Os animais que receberam o tratamento com melatonina por meio de injeções via intraperitoneal, na dosagem de 20 mg/kg, na frequência de 5 dias na semana por 5 semanas antes da cirurgia de indução da DP. Com a finalidade de se avaliar a função motora, todos os animais passaram por testes motores após a cirurgia de indução de DP. Foram utilizados os testes de barras paralelas, passo em falso e campo aberto. O protocolo de exercício físico resistido progressiva foi realizado 5 vezes por semana, durante 4 semanas, de 30-35 minutos diários. Para indução da DP foi aplicada a substância 6-OHDA (Sigma-Aldrich Brasil Ltda), na dosagem 2 μ l/10 μ g dissolvida em 0,02% de ácido ascórbico no *striatum* nas coordenadas alvo para o *striatum* são AP = 4,4 LR = -1,2 e DV = -7,8 do bregma. Os rins e fígado foram retirados para processamento histológico e corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Foi realizado o cálculo da área da cápsula subtraindo a

área do tufo glomerular e contagem de glomérulos nos rins. No fígado foi aferido o número de hepatócitos, o cálculo do diâmetro teórico. Conclui-se que a melatonina associada ao exercício físico resistido progressivo (ERP) foi capaz de reduzir a área do espaço de Bowman em ratos doentes. Além disso, a aplicação desses dois fatores, de forma isolada, foi capaz de reverter a diminuição do diâmetro do tufo glomerular causada pela DP. Em relação ao fígado, por sua vez, a melatonina, em alguns casos associada ao exercício físico, promoveu a diminuição da área, perímetro e diâmetro teórico dos hepatócitos.

PALAVRAS-CHAVES: Doença de Parkinson. Exercício. Melatonina. Fígado. Rins.

INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP), segunda condição neurodegenerativa mais comum do sistema nervoso central (SNC), é um distúrbio idiopático caracterizado por manifestações sistêmicas motoras e não motoras (JANICE, 2014). A incidência de tal condição está atrelada ao envelhecimento, sendo comum o seu início em indivíduos com 65 a 70 anos, e rara a sua manifestação antes da quarta década de vida (TYSNES e STORSTEIN, 2017).

Do ponto de vista neuropatológico, na DP ocorre a agregação anômala da proteína alfa-sinucleína no tecido neuronal com consequente formação de corpos de Lewy nas células, fator responsável pela morte de neurônios (CABREIRA e MASSANO, 2019). A instalação desse processo e o acúmulo desses corpos na *substantia nigra pars compacta* do mesencéfalo ocasiona a perda de neurônios dopaminérgicos da região (CABREIRA e MASSANO, 2019), além disso, a degeneração progressiva da via dopaminérgica nigroestriatal ocasiona uma depleção de dopamina no SNC (RAZA *et al.* 2019). Tal condição é a responsável pela manifestações clínicas primárias da doença, como as disfunções do sistema motor somático (RAZA *et al.* 2019).

A melatonina é o principal hormônio liberado pela glândula pineal (TORDJMAN *et al.* 2017). Esse composto é sintetizado principalmente pelos pinealócitos a partir do aminoácido triptofano, o qual é hidroxilado e descarboxilado em serotonina. As enzimas serotonina-N-acetil-transferase e 5-hidroxi-indol-O-metil-transferase, encontradas principalmente na glândula pineal, são responsáveis por transformar a serotonina em melatonina (TORDJMAN *et al.* 2017). Fontes extrapineais de melatonina incluem cérebro, retina, cristalino, cóclea, pele, trato gastrointestinal, fígado, rim, entre outros; locais que também contém enzimas biossintéticas de melatonina. A disfunção na produção ou liberação de melatonina tem sido associada a estados patológicos envolvendo o sistema nervoso, dentre os quais pode-se mencionar a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson (VASEY *et al.* 2021).

A melatonina tem efeitos antioxidantes exercidos por mecanismos diretos e indiretos que tornam essa molécula um protetor endógeno contra radicais livres derivados de oxigênio e nitrogênio. Os principais mecanismos de ação atribuídos à melatonina são a eliminação de radicais livres, estimulação de enzimas antioxidantes endógenas e melhoria da eficiência de outros antioxidantes (CHITIMUS *et al.* 2020). Além disso, devido a sua

alta produção nas mitocôndrias neuronais, a melatonina é capaz de interferir na disfunção neuronal nos estágios iniciais da neurodegeneração (CHITIMUS *et al.* 2020), sendo assim, há evidências experimentais crescentes mostrando o potencial terapêutico da melatonina em condições neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson (TORDJMAN *et al.* 2017).

No fígado, a melatonina demonstrou efeitos protetores em lesões hepáticas induzidas por poluentes químicos, drogas e álcool, bem como doenças hepáticas, incluindo esteatose hepática, hepatite, fibrose, cirrose e hepatocarcinoma. Nessas situações, o hormônio atua por meio da prevenção de danos oxidativos, melhora da fisiologia mitocondrial, inibição de processos como infiltração de neutrófilos hepáticos, necrose e apoptose, além de reduzir a gravidade das alterações morfológicas e suprimir a fibrose hepática. (ZHANG *et al.* 2017).

No rim, por sua vez, a melatonina tem demonstrado melhora da função renal e redução da Pressão Arterial (PA), acompanhados pela normalização dos ritmos circadianos (RAHMAN *et al.* 2019). Além disso, alguns estudos experimentais demonstram os potenciais efeitos nefroprotetores da melatonina contra lesões renais, exercendo efeitos benéficos para inibir o estresse oxidativo, inflamação, apoptose nas células renais, e promovendo o aumento dos níveis de agentes antioxidantes como a glutatona (GSH) (PROMSAN *et al.* 2020).

Nesse sentido, uma vez que a melatonina vem sendo estudada por seus efeitos protetores em diversos tecidos, faz-se necessária a análise de sua ação no fígado e rins de ratos com DP induzida, a fim de se observar os efeitos de sua aplicação exógena e possíveis alterações histomorfométricas na estrutura dos tecidos e componentes desses órgãos.

O estudo teve como objetivo geral analisar os efeitos da Melatonina no rim e fígado de ratos exercitados com Doença de Parkinson.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados um total de 64 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) com massa corporal entre 250 e 450 g e 40 dias de vida. Os animais são provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ) e, durante o período do experimento, foram mantidos em gaiolas de polipropileno, com acesso livre a água e ração, em sala com temperatura ambiente entre 21 e 22°C, fotoperíodo claro/escuro de 12 horas e umidade relativa do ar de 60-70%. Todos os procedimentos realizados respeitaram os critérios da Lei nº 11.794, seguindo as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Vale ressaltar, ainda, que o projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSJ (CEUA/UFSJ), com aprovação e CEUA nº 4010020922.

Trinta e dois (n=32) animais foram submetidos à cirurgia de indução da DP por aplicação de 6-OHDA no *striatum* e foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes subgrupos: 8 animais com aplicação de melatonina antes da indução da DP - DPSEML; 8 animais sem aplicação da melatonina (aplicação de solução salina) - DPSENT; 8 animais com aplicação de melatonina associado ao treinamento físico progressivo resistido antes da indução da DP - DPEXML; 8 animais com a prática de exercício físico progressivo resistido sem melatonina - DPEXNT.

Trinta e dois (n=32) animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico, mas não à lesão por 6-OHDA (Sham) da DP, e também foram distribuídos em subgrupos conforme descrito acima: 8 animais com aplicação de melatonina antes da cirurgia (Sham) - SHSEML; 8 animais sem aplicação da melatonina (apenas uso de solução salina - SHSENT; 8 animais com aplicação de melatonina associado a prática de exercício físico progressivo resistido antes da cirurgia (sham) - SHEXML; 8 animais com a prática de exercício físico progressivo resistido sem melatonina (sham) - SHEXNT.

Tratamento com melatonina

Os animais que receberam o tratamento com melatonina por meio de injeções via intraperitoneal, na dosagem de 20 mg/kg, na frequência de 5 dias na semana por 5 semanas antes da cirurgia de indução da DP. Os animais que não foram tratados com melatonina receberam injeções de solução salina na dosagem de 0,5mL/100g na frequência de 5 dias na semana por 5 semanas antes da cirurgia de indução da DP.

Testes para avaliação motora

Com a finalidade de se avaliar a função motora, todos os animais passaram por testes motores após a cirurgia de indução de DP. Foram utilizados os testes de barras paralelas, passo em falso e campo aberto (*Open Field Test*) (DAMÁZIO *et al*, 2015; ROYCE *et al*, 1977).

Protocolo de treinamento físico Progressivo Resistido

Para a realização do treinamento físico progressivo resistido, os animais foram adaptados à escada durante três dias, os quais antecederam o início do treinamento. Na adaptação, os ratos foram posicionados na câmara de alojamento por 60 segundo para se familiarizar com o ambiente. Após esse processo foram realizadas três tentativas por dia, sem nenhuma sobrecarga. Na primeira tentativa, os ratos escalaram uma distância equivalente a 35cm da câmara; na segunda, 55cm; e na terceira uma distância de 110 cm.

As dimensões da escada vertical foram propostas no estudo de Peixinho-Pena *et al*. Ela apresenta 18cm de largura, 110cm de comprimento, e 80° de inclinação. A caixa de alojamento, localizada na extremidade superior da escada, apresenta dimensões de 20cm de altura, de largura e de setores.

Após o período de adaptação, os ratos pertencentes ao grupo treinado com base no protocolo de treinamento com exercícios físicos progressivos de alta intensidade foram submetidos ao exercício na escada durante quatro semanas, cinco dias por semana. Foram realizadas oito sessões de oito escaladas para cada animal, essas sessões tinham uma duração média de 35 minutos. A primeira e segunda escaladas foram realizadas com um peso correspondente a 50% do peso corporal do animal, a terceira e quarta escaladas com 75%, a quinta e sexta escaladas com 90% e a sétima e oitava escaladas com 100% do peso corporal do animal.

Entre as séries havia um intervalo de 60 segundos para que os animais conseguissem descansar na câmara. O peso utilizado foi fixado na porção proximal da cauda do animal, a uma distância média de 3cm da sua raiz caudal. Tais pesos eram montados no dia do exercício com base no peso que o animal apresentava.

Cirurgia de indução de DP

A cirurgia foi iniciada com anestesia intraperitoneal com Cetamina (75mg/Kg) e Xilazina (10mg/Kg). Em seguida, após o posicionamento da cabeça do animal na mesa estereotáxica, foi realizada a tricotomia e a limpeza com álcool iodado na região do procedimento de indução de DP. Na sequência, foi aplicada a substância 6-OHDA (Sigma-Aldrich Brasil Ltda), na dosagem 2 μ l/10 μ g dissolvida em 0,02% de ácido ascórbico no *striatum* nas coordenadas alvo para o *striatum* são AP = 4,4 LR = -1,2 e DV = -7,8 do bregma (HERMAN & WATSON, 1987; GARCÍA *et al*, 2000).

Processamento do rim e do fígado

O animal foi eutanasiado após fim do período experimental pelo método de inalação de isoflurano. O rim direito e o lobo direito do fígado foram retirados da cavidade abdominal, fixados em solução de formaldeído tamponado a 10% por 24 horas e foram armazenados em álcool 70% para posterior corte das amostras e processamento histológico.

No rim e no fígado foram cortes transversais, colocados e identificados nos cassetes e seguirão para processamento, sendo este constituído pela desidratação em soluções alcoólicas crescentes nas concentrações de 70%, 80%, 90% e 100%, clarificação em Xilol, impregnação em parafina a 60°C e inclusão (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Após o processamento das amostras foi realizada a microtomia com espessura de 5 μ m e coloração com Hematoxilina e Eosina (HE).

Coloração de Hematoxilina e Eosina

A montagem das lâminas seguiu os seguintes processos: desparafinização (Xilol 1 e 2), hidratação (álcool 100%, 100%, 95%, 70%), coloração com Hematoxilina, lavagem em água corrente, coloração em Eosina, lavagem em água corrente, desidratação (álcool 70%, 95%, 100% e 100%) e fixação (Xilol 1 e 2). Dessa forma foi possível observar a morfologia dos hepatócitos e glomérulos (FELDMAN e WOLFE, 2014).

Análise histomorfométrica

Após a montagem das lâminas e coloração, as amostras foram fotomicrografadas e campos de análise foram separados de modo aleatório para cada animal. Em seguida foi realizada a análise da morfometria dos órgãos com o auxílio do programa *software Image J*. Nos rins foram mensurado diâmetro do tufo glomerular, área do tufo glomerular, áreas da cápsula e do espaço de Bowman de 10 fotos por animal tiradas com objetiva de 40x. Para saber a área do espaço de Bowman, foi feito o cálculo da área da cápsula subtraindo a área do tufo glomerular (DANILEWICZ et al., 1998; DIXIT et al., 2014). A contagem de glomérulos foi realizada na objetiva de 4x com auxílio da malha gradeada do *software image j* na dimensão de 940000um² contado nos dois campos centrais de 5 fotografias (ZANUZO, 2019). No fígado foi aferido o número de hepatócitos com objetiva de 20x de 1 foto por animal com auxílio na malha gradeada posicionada no centro da imagem na dimensão de 94.0um² contabilizando hepatócitos presentes na intersecção eliminando as bordas. A contagem também foi realizada contando todos os hepatócitos presentes dentro de dois campos centrais na dimensão de 9400um² utilizando objetiva de 40x (CALDEIRA et al., 2021). O diâmetro dos hepatócitos foram calculados em diâmetro teórico conforme descrito por Saout e colaboradores por meio da fórmula $Dt = \sqrt{\frac{A}{\pi}}$ de 10 hepatócitos aleatórios.

Análise Estatística

As análises dos dados foram realizadas com o teste de normalidade, seguido da análise de variância (*one-way ANOVA*), seguido do *post-hoc* de *Tukey*, considerando o nível de significância de 5%. Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média (SEM).

RESULTADOS

Fígado - contagem de hepatócitos

Os dados mostraram que não houve diferença significativa em relação à contagem de hepatócitos na objetiva de 40x ($p=0,2163$) com malha gradeada em 9400um. A contagem na objetiva de 20x com malha gradeada na dimensão de 94.00um também não apresentou diferença estatisticamente relevante. ($p=0,0751$), como demonstrado na figura 1.

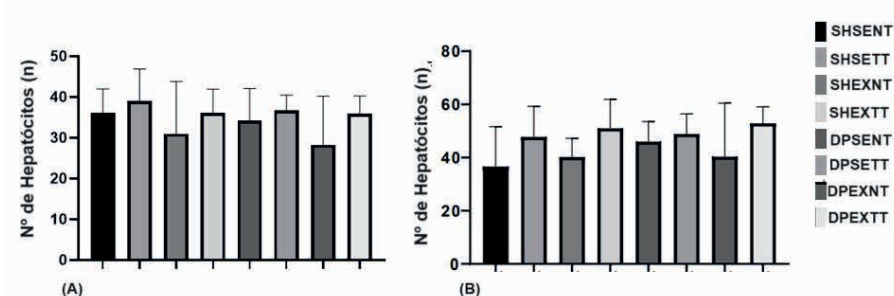


Figura 1. Número de hepatócitos nos fígados analisados. (A) análise na objetiva de 40X e (B) análise na objetiva de 20X.

Fígado - área dos hepatócitos

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa, na forma de redução da área dos hepatócitos, entre o grupo controle e o grupo que recebeu melatonina ($p=0,0116$), entre o controle e o grupo que se exercitou e recebeu melatonina ($p<0,0001$) e entre esse último grupo e o grupo que somente se exercitou ($p=0,0448$), como evidenciado na figura 2. Portanto, na amostra analisada, em animais saudáveis, a melatonina reduziu a área dos hepatócitos, efeito que se mostrou ainda maior quando combinado com o exercício. Entretanto, somente o exercício não foi capaz de produzir qualquer alteração significativa. Além disso, nem o exercício nem a melatonina produziram quaisquer alterações nos animais com Doença de Parkinson em comparação aos controles.

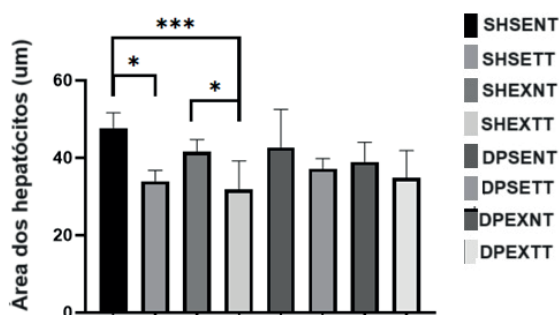


Figura 2. Média da área dos hepatócitos nos fígados dos grupos analisados. (* $p<0,05$).

Perímetro hepatócitos

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa, na forma de redução do perímetro dos hepatócitos, entre o grupo controle e o grupo que recebeu melatonina e se exercitou ($p=0,0004$) e entre esse último grupo e o grupo que somente se exercitou ($p=0,0072$; Figura 3). Portanto, na amostra analisada, em animais saudáveis, a melatonina combinada com o exercício reduziu a área dos hepatócitos, seja em comparação ao grupo controle ou ao grupo que somente se exercitou. Entretanto nenhuma das intervenções pôde, sozinha, produzir qualquer alteração significativa. Além disso, nem o exercício nem a melatonina produziram quaisquer alterações nos animais com Doença de Parkinson em comparação aos controles.

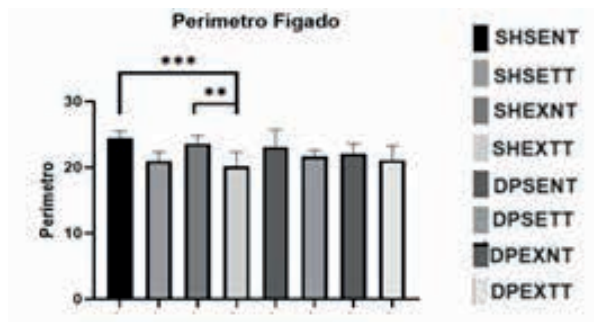


Figura 3. Média do perímetro dos hepatócitos.

Diâmetro teórico

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa, na forma de redução do diâmetro teórico dos hepatócitos, entre o grupo controle e o grupo que recebeu melatonina ($p=0,0193$), entre o controle e o grupo que se exercitou e recebeu melatonina ($p=0,0001$) e entre esse último grupo e o grupo que somente se exercitou ($p=0,0315$; Figura 4). Portanto, na amostra analisada, em animais saudáveis a melatonina reduziu o diâmetro teórico dos hepatócitos, efeito que se mostrou ainda maior quando combinado com o exercício. Entretanto, somente o exercício não foi capaz de produzir qualquer alteração significativa. Além disso, nem o exercício nem a melatonina produziram quaisquer alterações nos animais com Doença de Parkinson em comparação aos controles.

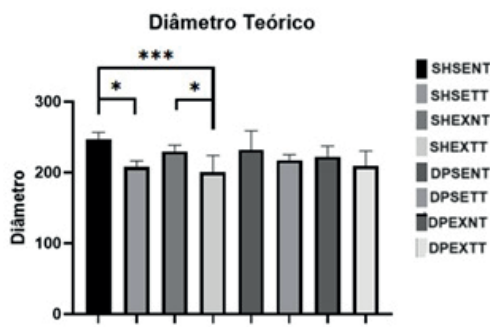


Figura 4. Média do diâmetro teórico hepático.

Pelos dados obtidos, nota-se que não houve alteração significativa no fígado entre os animais com doença de Parkinson. No entanto, entre os animais saudáveis, a administração de melatonina resultou em menor área e diâmetro menor dos hepatócitos em relação ao grupo controle. Ademais, a administração de melatonina associada a exercício resultou em menor área, diâmetro e perímetro dos hepatócitos em relação ao grupo controle e também em relação ao grupo que somente se exercitou.

Rim

Área do Glomérulo Renal

A análise dos dados mostrou que não houve diferença significativa em relação à área do glomérulo ($p=0,2008$), área do tufo glomerular ($p=0,38$) e em relação à contagem dos glomérulos em objetiva de 4x ($p=0,0536$; figura 5).

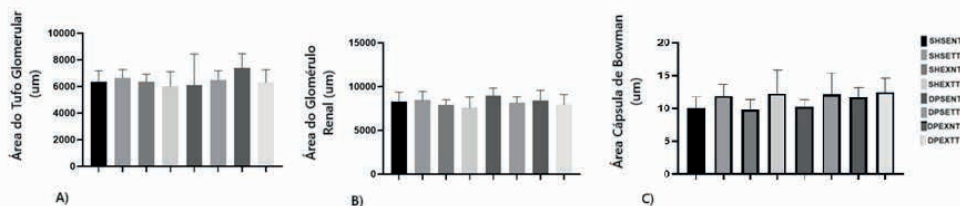


Figura 5. Área das estruturas glomerulares. (A) Área do tufo glomerular. (B) Área do Glomérulo Renal. (C) Área Cápsula de Bowman.

Diâmetro do tufo glomerular.

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa, na forma de redução do diâmetro, entre o grupo de ratos com DP não tratado ou exercitado ($p=0,0007$). Além disso, o grupo com DP apresentou menor diâmetro em comparação aos grupos com DP tratados com melatonina ($p=0,0301$) ou exercitados ($p=0,0473$), mas não com ambas intervenções. Portanto, na amostra analisada, a DP foi responsável por reduzir o diâmetro do rim em relação ao grupo controle. Entretanto, o uso de melatonina ou a prática de exercício físico foram capazes de reverter essa tendência quando aplicados de forma independente. No entanto, quando aplicados em conjunto, as duas intervenções não apresentaram resultados significativos.

Área do espaço de Bowman

Houve diferença estatisticamente significativa, na forma de redução da área, entre o grupo controle e o grupo que recebeu melatonina ($p=0,0136$). Além disso, nos animais com DP, administração de melatonina também provocou redução significativa da área em relação ao controle, seja de forma isolada ($p=0,0493$) ou em associação com o exercício ($p=0,0068$). Além disso, a combinação de melatonina e exercício físico em ratos doentes também provocou redução significativa da área em relação ao grupo doente que somente se exercitou ($p=0,0247$). Portanto, na amostra analisada, a administração de melatonina foi responsável por provocar redução na área do espaço de Bowman, seja em animais doentes ou saudáveis, de forma isolada ou associada ao exercício físico.

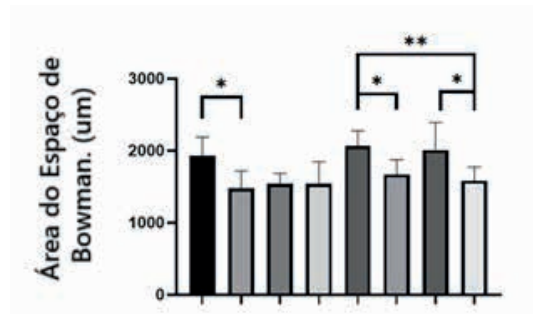


Figura 6. Média da área do espaço de Bowman.

DISCUSSÃO

O fígado desempenha funções fundamentais, tais como armazenamento de nutrientes, síntese de moléculas, excreção de substâncias (GUYTON *et al*, 2021). Além disso, é interligado a diferentes sistemas do corpo por meio de uma rede venosa e arterial extensa que integra o sistema porta hepático, fator que confere a esse órgão outra função importante: a metabolização de compostos oriundos das diferentes partes do corpo, em especial aqueles absorvidos pelo intestino. (ZHANG, *et al*, 2017; POISSON, *et al*, 2017)

Devido a todas essas particularidades, esta estrutura está sujeita a inúmeros danos cujos mecanismos diversos são descritos na literatura. Dentre eles pode-se mencionar a apoptose induzida pelo acúmulo de ácidos biliares, lesões inflamatórias desencadeadas pelo acúmulo de radicais livres, recrutamento excessivo de neutrófilos e células de Kupffer, disfunção mitocondrial, formação de peroxinitrito, entre outros (BRASILEIRO FILHO, 2016). Todos esses mecanismos têm como fator comum a situação de estresse oxidativo, o qual induz a morte celular. A continuidade desses mecanismos leva ao processo de fibrose ou, em casos mais graves, ao processo de necrose do tecido hepático (BRASILEIRO FILHO, 2016; ZHANG, *et al*, 2017; JAESCHKE *et al*, 2002)

Uma vez que os mecanismos de lesão hepática são diversos, este artigo busca entender se a melatonina, a DP e o exercício físico geram algum tipo de alteração na morfologia do fígado, seja um dano tecidual ou um efeito protetor sobre o órgão. A investigação de como esses fatores influenciam o fígado pode revelar novos insights sobre a prevenção e o tratamento de lesões hepáticas, considerando a complexidade e a interconexão dos sistemas que afetam este órgão vital.

Fígado e Doença de Parkinson

Na análise dos resultados obtidos, nota-se que não houve diferenças na contagem celular e nos parâmetros de área, perímetro e diâmetro teórico dos hepatócitos entre os animais saudáveis e os animais com DP. A ausência de alterações na histomorfometria sugere uma correspondência com a literatura encontrada acerca da DP, na qual não é

descrita uma relação direta entre a DP e a alteração morfológica da estrutura hepática. Entretanto, um estudo recente aponta que o fator de crescimento hepático, componente relacionado ao funcionamento e crescimento do fígado, pode desempenhar algum papel neuroprotetor em modelos animais da DP pré-clínica (ANGELOPOULOU, *et al.* 2021).

Fígado, melatonina e exercício físico

Os resultados dessa análise indicam que entre os animais saudáveis, a administração de melatonina resultou em menor área e diâmetro menor dos hepatócitos em relação ao grupo controle. Ademais, a administração de melatonina associada a exercício resultou em menor área, diâmetro e perímetro dos hepatócitos em relação ao grupo controle e também em relação ao grupo que somente se exercitou.

Frente a diferentes estímulos, as células hepáticas reagem de diferentes modos. Dentre os mecanismos, diante de uma situação em que ocorre o aumento do estímulo patológico e da demanda metabólica, uma das principais adaptações celulares é a hiperplasia e a hipertrofia - fator comum para as inúmeras células do corpo (BRASILEIRO FILHO, 2016). Sabe-se ainda, que em algumas doenças, tais alterações podem ser encontradas, à exemplo da esteatose hepática - na qual há a deposição de lipídios nos hepatócitos promovendo o aumento celular, e da cirrose - na qual a lesão hepática, a disfunção endotelial e a fibrose progressiva, promovem a hiperproliferação das células na tentativa de se compensar o dano sofrido. (GUYTON *et al.*, 2021)

Nessa lógica, alguns compostos vêm sendo estudados devido seu efeito protetor na estrutura hepática. À exemplo da melatonina, um hormônio que desempenha diversas funções no organismo (TORDJMAN *et al.* 2017). Dentre essas funções, nota-se que esse hormônio está associado ao sistema de defesa antioxidante e é capaz de proteger moléculas de danos oxidativos; nesse processo, esse composto fornece proteção aos tecidos contra lesões degenerativas ou proliferativas, seja pela eliminação direta de radicais livres, seja pelo estímulo - direto e indireto - de uma série de enzimas antioxidantes (TORDJMAN *et al.* 2017).

No fígado, em específico, a ação antioxidante da melatonina inibe vias responsáveis pela formação de óxido nítrico, o qual, em altas concentrações, contribui para a formação de lesões hepáticas tóxicas (OLESHCHUK, *et al.* 2019). Além disso, estimula a atividade de enzimas antioxidantes como a glutathione peroxidase, superóxido dismutase e catalase que agem na prevenção de hepatopatias (OLESHCHUK, *et al.* 2019). Ademais, o conjunto dessas ações supracitadas mantém o funcionamento das estruturas do fígado prevenindo possíveis alterações como a necrose hepatocelular e o aumento de lesões devido à radicais livres. (OLESHCHUK, *et al.* 2019).

O exercício físico, por sua vez, atua como outro fator que beneficia a atividade e função hepática na prevenção de inúmeras doenças metabólicas (THYFAULT, *et al.* 2020).

Dentre seus inúmeros benefícios, nota-se que ele é responsável por oxidar gordura no fígado, resultando em depósitos reduzidos de tecido adiposo visceral e armazenamento de gordura ectópica. Além disso, é capaz de melhorar a atividade antioxidante do fígado, uma vez que ativa vias de sinalização que aumentam a expressão de enzimas antioxidantes, promovendo adaptação e reversão dos danos causados pelo estresse oxidativo. Essa adaptação é influenciada pelo volume, intensidade, frequência e modalidade do exercício. (THYFAULT, *et al.* 2020; LUCCA, *et al.* 2018).

Ao se correlacionar tais informações com os resultados obtidos, sugere-se que a melatonina, associada ou não à prática de exercícios, foi um fator responsável por alterar a estrutura hepática nos ratos que não foram induzidos à cirurgia de DP; uma vez que, no grupo saudável, a área e o diâmetro apresentaram médias menores em relação aos grupos controles; além de ter demonstrado um desempenho maior em relação ao exercício físico. Embora as médias dos parâmetros analisados tenham sido menores em todos os grupos tratados com melatonina, a análise acima encontra limitações, uma vez que não foi encontrada relevância estatisticamente relevante acerca do tratamento com melatonina e do exercício físicos em ratos com DP e, portanto, de seus efeitos protetores.

Além disso, outros parâmetros poderiam ter sido adicionados à análise histomorfométrica a fim de se promover um entendimento amplo das alterações causadas, à exemplo dos marcadores bioquímicos de função hepática, como as transaminases e bilirrubinas, e outros métodos de avaliação de estresse oxidativo do tecido - fator que não foi o enfoque deste trabalho e, portanto, outro fator limitante dessa análise.

Rim

Os rins interferem de forma direta na homeostase devido às inúmeras funções essenciais que desempenham no organismo. Eles são responsáveis pela secreção de hormônios, regulação do equilíbrio ácido-base, excreção de metabólitos, além de participarem no processo de filtração do plasma sanguíneo para formação da urina (GUYTON, *et al.* 2021). Para a realização dessas inúmeras funções recebem aproximadamente cerca de 20 a 25% do débito cardíaco que nutrem os néfrons, as unidades funcionais do rim (HURA, *et al.* 2011). Cada néfron é formado por um corpúsculo renal e por um túbulo renal. A estrutura do corpúsculo se divide em cápsula glomerular (de Bowman) e glomérulo, sendo que este último se constitui em uma rede de capilares (tufo glomerular) englobada pela membrana glomerular; e são nesses componentes que o processo de filtração sanguínea se inicia (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Na porção tubular, por sua vez, ocorre a reabsorção e excreção de substâncias de tal modo que o filtrado resultante é conduzido para as pirâmides renais, processo no qual o resultado é a formação da urina (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Similar ao que foi descrito no fígado, uma vez que o rim também participa da excreção de inúmeras substâncias, também está sujeito a inúmeras lesões em sua estrutura (BRASILEIRO FILHO, 2016).

Rim e Doença de Parkinson

Na análise dos resultados obtidos, nota-se que não houveram alterações estatisticamente relevantes na contagem de células e nos parâmetros da área do tufo glomerular e da área da cápsula de bowman entre os animais saudáveis e os animais com DP. Entretanto, em relação ao diâmetro do tufo glomerular, a DP foi responsável por causar uma diminuição estatisticamente significativa da média dos diâmetros em relação ao grupo controle. Quanto à análise da área do espaço de Bowman, por sua vez, embora não tenha dado uma relevância estatística, a DP foi responsável por promover um aumento da média desses espaços em comparação aos grupos controle.

Os capilares glomerulares integram um processo renal complexo na filtração do sangue para a formação da urina, de modo que as alterações nessas estruturas são descritas em diferentes glomerulopatias e estão associadas à progressão de inúmeras doenças (KATAOKA, et al. 2023). Em específico, a atrofia desses capilares reflete uma alteração na taxa de filtração glomerular ocasionada por distúrbios de natureza inflamatória nas células endoteliais e nas demais células da barreira de filtração glomerular, e também por outros mecanismos, tais como alterações e lesões nos podócitos intimamente relacionados à esses capilares, alterações na pressão intracapilar, alterações de pressão no espaço de Bowman devido à deposição de proteínas e/ou proliferação das células mesangiais dos glomérulos (ABREU, et al. 2017). A continuidade desses processos culminam na perda de néfrons. (ABREU, et al. 2017)

Ao se relacionar essa cascata de eventos aos resultados obtidos, infere-se que a DP pode afetar de alguma forma a interface de filtração desses capilares devido à diminuição da média dos diâmetros do tufo glomerular. Entretanto, existe pouca associação na literatura entre a DP e alterações glomerulares. Além disso, outro fator que pode limitar essa informação é a de que, embora o diâmetro do tufo tenha apresentado redução estatisticamente significativa nas suas médias em ratos com DP, não foram encontradas diferenças entre as médias de área do tufo glomerular entre os ratos com DP e os grupos saudáveis.

Outro fator importante a ser discutido é o aumento causado nas médias do espaço de Bowman em relação aos seus respectivos grupos controle. A hipertrofia dos glomérulos, com consequente aumento do espaço de Bowman, também está relacionada a diferentes nefropatias, constituindo-se como uma estratégia adaptativa dos glomérulos frente a um aumento patológico da hiperfiltração glomerular (LOPEZ-NOVOA, et al 2011. ;SALGADO, et al. 2004; KATAOKA et al. 2023).

Além disso, a associação entre colapso glomerular (diminuição ou atrofia do tufo capilar) e aumento glomerular (representado, nesse estudo, por um aumento do espaço de Bowman) está associado ao quadro de nefroesclerose em pacientes (KOTARO, et al. 2017; CHAGNAC, et al. 2019). A análise feita, embora não tenha encontrado relevância

significativa entre as áreas do espaço de bowman dos grupos com DP e dos grupos saudáveis, demonstrou uma diminuição das médias desses espaços nos ratos com DP em relação aos grupos controles, sugerindo uma alteração que pode ter sido desencadeada pela doença. Além disso, infere-se, a partir dos dados mencionados acima, que a DP ocasionou uma possível nefroesclerose nos ratos devido à ocorrência concomitante da diminuição dos diâmetros e aumento dos espaços de bowman em relação aos grupos saudáveis. No entanto, outras análises poderiam ser realizadas para complementar essa inferência; tais como a análise dos pesos dos órgãos dos animais, e, similar ao fígado, exames bioquímicos para a avaliação da função renal.

Rim, melatonina e exercício físico

Na análise dos resultados obtidos o uso de melatonina apresentou resultados estatisticamente relevantes na reversão da diminuição do diâmetro causada pela DP. Entretanto, a reversão dessa tendência somente foi possível quanto a melatonina foi aplicada de modo isolado nos ratos doentes. Quanto à área do espaço de Bowman, o uso de melatonina foi responsável pela diminuição da área desse espaço em animais saudáveis e animais com DP, associada ou não à prática concomitante de exercícios físicos.

Assim como foi escrito em relação ao fígado, a melatonina também apresenta inúmeros mecanismos renoprotetores. São descritas inúmeras ações desse hormônio benéficas aos rins, tais como seus efeitos na eliminação de radicais livres, inibição da apoptose, diminuição da fibrose nos tecidos e seus efeitos anti-inflamatórios, principalmente nos estágios iniciais das doenças glomerulares (LUO, *et al.* 2022; TANG, *et al.* 2023).. Todos esses processos atuam diretamente na prevenção de lesões renais. Dessa forma, é descrito que tal hormônio pode ser eficaz no tratamento de inúmeras doenças que se relacionam à saúde dos rins, tais como a diabetes mellitus (KARAMITRI & JOCKERS. 2022), a doença renal crônica (THEOFILIS, *et al.* 2022) e a hipertensão arterial sistêmica (TAIN, *et al.* 2022).

O exercício físico, por sua vez, é descrito na literatura como uma das principais estratégias na prevenção de doenças crônicas (NASCIMENTO, *et al.* 2012). Na doença renal crônica, por exemplo, a associação de exercícios físicos ao tratamento, adaptados para a realidade de cada paciente, promove melhora da resistência física, da sarcopenia e da qualidade de vida. Além disso, o exercício físico resistido pode retardar a progressão da DRC; melhorando o perfil metabólico de alguns pacientes (NASCIMENTO, *et al.* 2012; SANTANA. 2016).

Sugere-se, portanto, a partir dos conhecimentos das lesões renais e das ações benéficas da melatonina descritas acima, que esse hormônio foi capaz de promover uma ação protetora aos glomérulos renais - reversão de danos ou proteção dos glomérulos. Visto que promoveu uma diminuição do espaço de Bowman, em ratos saudáveis e

doentes, quando usada de modo isolado ou associada aos exercícios físicos. Além disso, a combinação de melatonina e exercício físico em ratos doentes também provocou redução significativa da área em relação ao grupo doente que somente se exercitou. Por fim, a melatonina também promoveu uma reversão da diminuição do diâmetro do tufo glomerular em ratos doentes; embora, neste último caso, esse efeito tenha sido obtido com o seu uso isolado. Quanto ao exercício físico, a prática em ratos com DP também foi responsável por reverter a diminuição do diâmetro do tufo glomerular causada pela DP. Esse resultado foi obtido com a prática isolada, de modo que a combinação de exercícios físicos e melatonina não tiveram resultados significativos quando aplicados em conjunto nesses ratos doentes.

CONCLUSÃO

Neste trabalho, conclui-se que a melatonina associada ao exercício físico resistido progressivo (ERP) foi capaz de reduzir a área do espaço de Bowman em ratos doentes. Além disso, a aplicação desses dois fatores, de forma isolada, foi capaz de reverter a diminuição do diâmetro do tufo glomerular causada pela DP. Em relação ao fígado, por sua vez, a melatonina, em alguns casos associada ao exercício físico, promoveu a diminuição da área, perímetro e diâmetro teórico dos hepatócitos. Nesse sentido, embora o uso da melatonina seja incipiente como forma de tratamento único, mais estudos e investigações adicionais são necessários para o entendimento das possíveis ações e efeitos desse hormônio em órgãos como o fígado e o rim; e em doenças crônicas como a Doença de Parkinson.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos amigos que me acompanharam nessa jornada de pesquisa. Ao Gustavo, uma das melhores surpresas deste laboratório, agradeço pelas risadas e pelos inúmeros abraços nos dias difíceis. Ao José, companheiro de curso, agradeço por toda ajuda com a análise dessa pesquisa e por sempre me socorrer. Ao Ismael, agradeço por toda paciência em me ensinar e por sempre me mostrar que as coisas não são tão difíceis assim. À minha orientadora Laila Cristina Moreira Damázio, agradeço pela oportunidade de participar desse projeto e agradeço por sempre ter me inspirado nessa trajetória de faculdade. À minha mãe, uma verdadeira força da natureza, agradeço por sempre ter me incentivado. Estou muito feliz de ter encontrado vocês nesse caminho. Sorte a minha.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Reabilitação da Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ), Minas Gerais, com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/UFSJ).

REFERÊNCIAS

ANGELOPOULOU, E.; PAUDEL, Y. N.; PIPERI, C. Role of Liver Growth Factor (LGF) in Parkinson's Disease: Molecular Insights and Therapeutic Opportunities. *Molecular Neurobiology*, 19 fev. 2021.

ABREU, T. T. et al. Lesão Renal Glomerular: Processo Inflamatório e o Papel das Quimiocinas. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, v. 21, n. 2, 18 set. 2017.

BRASILEIRO FILHO, G. Bogliolo. *Patologia Geral*. 9a edição. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, RJ, 2016.

CALDEIRA, M. E. C.; VELOSO, E. V. L.; SALES, J. E.S.; MACHADO, R. A. S.; ARAÚJO, P. P. B.; SILVA, R. C. M.; MENEZES, D. J.A.; SOUSA, O.B. Testes de morfometria, estereologia e bioquímica hepática em ratos albinos infantis submetidos à ingestão residual de pregabalina no leite materno. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, [S. l.], v. 10, n. 16, pág. e491101624117, 2021.

CABREIRA, V.; MASSANO, J.. Doença de Parkinson: Revisão Clínica e Atualização. *Acta Médica Portuguesa*, v. 32, n. 10, p. 661–670, 2019.

CHAGNAC, A. *et al.* Consequences of Glomerular Hyperfiltration: The Role of Physical Forces in the Pathogenesis of Chronic Kidney Disease in Diabetes and Obesity. *Nephron*, v. 143, n. 1, p. 1–5, 4 abr. 2019.

CHITIMUS, D. M. et al. Melatonin's Impact on Antioxidative and Anti-Inflammatory Reprogramming in Homeostasis and Disease. *Biomolecules*, v. 10, 2020

DAMÁZIO, L. C. M. *et al.* Exercício físico promove neuroproteção estrutural e funcional em ratos com isquemia cerebral. *Revista Neurociências*, v. 23, n. 4, p. 581–588, 2015.

FELDMAN AT WOLFE D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods Mol Biol*. New York. v.11, n.80, p.31-43. 2014.

GASPAR, R. C. Papel do exercício físico na regulação da proteína Notch1 em camundongos obesos: efeitos sobre a lipogênese e gliconeogênese hepática. 2021. 1 recurso online (91 p.) Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas, Limeira, SP

GARCÍA, J. C. *et al.* Depletion of brain glutathione potentiates the effect of 6-hydroxydopamine in a rat model of Parkinson's disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, v. 14, n. 3, p. 147–153, 2000.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. Guyton & Hall. *Tratado de Fisiologia Médica*. 14. ed. [s.l.] Elsevier, 2021

HARUHARA, K. et al. Volume ratio of glomerular tufts to Bowman capsules and renal outcomes in nephrosclerosis. *American journal of hypertension*, v. 32, n. 1, p. 45–53, 2019.

HERMAN, J. P.; WATSON, S. J. The rat brain in stereotaxic coordinates (2nd edn). [s.l.: s.n.]. v. 10.

HORNBERGER TA, FARRAR RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*, Chicago, v.29, n.1, p.16-31, 2004

HURA, Claudia; STEIN, Jay H. Renal blood flow. *Comprehensive Physiology*, 2011.

- JAESCHKE, H. Mechanisms of Hepatotoxicity. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, v. 65, n. 2, p. 166–176, 2002.
- JANICE, M. B. Parkinson's disease: a review. *Frontiers in Bioscience (Schol Ed)*, v. 6, p. 65-74, Jan 2014.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica, texto e atlas*. Rio de Janeiro. 12, ed. 2013.
- KATAOKA, H.; NITTA, K.; HOSHINO, J. Glomerular hyperfiltration and hypertrophy: an evaluation of maximum values in pathological indicators to discriminate “diseased” from “normal”. *Frontiers in medicine*, v. 10, p. 1179834, 2023.
- KOTARO HARUHARA et al. Volume Ratio of Glomerular Tufts to Bowman Capsules and Renal Outcomes in Nephrosclerosis. v. 32, n. 1, p. 45–53, 24 out. 2018.
- LÓPEZ-NOVOA, J. M. et al. Etiopathology of chronic tubular, glomerular and renovascular nephropathies: Clinical implications. *Journal of Translational Medicine*, v. 9, p. 13, 20 jan. 2011.
- LUCCA, M. S. DE; PEREIRA, E. T.; LIMA, L. M. Interactions between physical exercise, alcohol and liver. *Revista Médica de Minas Gerais*, v. 28, 2018.
- LUO, Q. et al. Renal Protective Effects of Melatonin in Animal Models of Diabetes Mellitus-Related Kidney Damage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Diabetes Research*, v. 2022, p. 3770417, 2022.
- NASCIMENTO, L. C. DE A.; COUTINHO, É. B.; SILVA, K. N. G. DA. Efetividade do exercício físico na insuficiência renal crônica. *Fisioterapia em Movimento*, v. 25, n. 1, p. 231–239, mar. 2012.
- OLESHCHUK, O. et al. Hepatoprotective effect of melatonin in toxic liver injury in rats. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, v. 55, n. 6, p. 304, 2019.
- PENA, L. F. P. *et al.* A strength exercise program in rats with epilepsy is protective against seizures. *Epilepsy & Behavior*. v. 23, p. 323-328. Nov 2012.
- POISSON, J. et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *Journal of Hepatology*, 2017.
- PROMSAN, S. LUNGKAPHIN, A. The roles of melatonin on kidney injury in obese and diabetic conditions. *Biofactors*, v. 46, n. 4, p. 531-534, 2020
- RAHMAN, A. *et al.* Melatonin in chronic kidney disease: a promising chronotherapy targeting the intrarenal renin–angiotensin system. *Hypertension Research*, v. 42, p. 920-923, 2019
- RAZA, C. *et al.* Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life Sciences*, v. 226, p. 77-90, 2019
- SALGADO, P. et al. Fisiopatologia da nefropatia diabética. *Rev. méd. Minas Gerais*, p. 180–185, 1 jan. 2004.

SANTANA, D. A. Efeitos agudos do exercício físico aeróbio sobre a função renal de pacientes com doença renal crônica não dialíticos. Tese (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. São Paulo, p.54. 2016. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5164/tde-06032017-104953/publico/DaviAlvesdeSantana.pdf>>. Acesso em: 28 ago. 2024.

SAOUT, C. et al. An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the Bay of Brest (France). *Aquaculture*, v. 172, n. 3, p. 301–314, 15 mar. 1999.

TAIN, Y.L., HSU C.N. Developmental and Early Life Origins of Hypertension: Preventive Aspects of Melatonin. *Antioxidants* (Basel). 2022

TANG, K.-S. et al. Melatonin and Kidney Health: From Fetal Stage to Later Life. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 9, p. 8105–8105, 30 abr. 2023.

THEOFILIS, P., VORDONI, A., KALAITZIDIS, R.G. The Role of Melatonin in Chronic Kidney Disease and Its Associated Risk Factors: A New Tool in Our Arsenal? *Am J Nephrol*. 2022

THYFAULT, J. P.; BERGOUIGNAN, A. Exercise and metabolic health: beyond skeletal muscle. *Diabetologia*, v. 63, n. 8, p. 1464–1474, 2020.

TORDJMAN, S. et al. Melatonin: Pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Current Neuropharmacology*, v. 15, p. 434-443, 2017.

TYSNES, O; STORSTEIN, A. Epidemiology of Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*. v. 124, p. 901-905, 2017

VASEY, C. *et al.* Circadian Rhythm Dysregulation and Restoration: The Role of Melatonin. *Nutrients*, v. 13, 2021.

ZANG, J. *et al.* Effects of Melatonin on Liver Injuries and Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, 2017.

ZANUZO, K. Efeitos da suplementação crônica com vitamina D associado à natação regular sobre aspectos histomorfométricos renais em roedores obesos. 2019. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, 2019.