

ESTUDO DO EFEITO DA CASTRAÇÃO, SUPLEMENTAÇÃO COM PROPIONATO DE TESTOSTERONA E *TRIBULUS* *TERRESTRIS* L. NO FÍGADO DE CAMUNDONGOS SUÍÇOS MACHOS

*Study of effect of castration, supplementation
with testosterone propionate and
Tribulus Terrestris L. in males swiss mice liver*

Lucas Roberto Moreira¹

Thainá Valente Bertozzo¹

Jonatas Medeiros de Almeida Angelo¹

Marcia Clélia Leite Marcellino¹

¹Universidade do Sagrado
Coração – Bauru/SP

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* L. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

RESUMO

Introdução: o declínio hormonal associa-se à depressão. O uso de testosterona sintética aumentou significativamente, buscando minimizar os sintomas desse quadro. O *Tribulus terrestris* L. (TT) é uma planta que supostamente possui componentes análogos à testosterona. **Objetivo:** analisar a histologia do fígado de animais normais e com declínio reprodutivo, suplementados com propionato de testosterona e TT. **Métodos:** foram utilizados 40 camundongos suíços machos divididos em quatro grupos, sendo um castrado. Os grupos controle e castrado receberam o veículo aquoso, no qual as drogas dos demais grupos foram diluídas. O grupo TT recebeu extrato das

Recebido em: 27/08/2018

Aceito em: 29/11/2018

flores da planta na dosagem de 10 mg/kg e o grupo testosterona recebeu propionato de testosterona na dosagem de 20 mg/kg. Todas as administrações foram via gavagem durante 30 dias. Os animais foram eutanasiados e o fígado coletado para confecção de lâminas. **Resultados e Discussão:** não foram encontrados parâmetros discrepantes do grupo controle em nenhuma lâmina de estudo, entretanto, o exercício físico adotado no teste concomitante de comportamento pode ter relação com os resultados. **Conclusão:** o exercício físico aeróbio tem a capacidade de restaurar e modular enzimas hepáticas, aumentando a glicogenólise e a gliconeogênese, diminuindo esteatose hepática e estresse oxidativo, causando efeito hepatoprotetor, aumentando mitoses e capilares sinusóides, que melhoram a irrigação e favorecem a regeneração hepática.

Palavras-chave: Fígado. Histologia. Testosterona. *Tribulus terrestris* L.

ABSTRACT

Introduction: *hormonal decline is associated with depression. The use of synthetic testosterone increased significantly to minimize the symptoms of this condition. Tribulus terrestris L. (TT) is a plant that supposedly has components analogous to testosterone.* **Objective:** *analyze liver histology of normal and reproductive decline animals supplemented with testosterone propionate and TT.* **Methods:** *forty male Swiss mice were divided into four groups, one castrated. The control and castrated groups received the aqueous vehicle in which the drugs from the other groups were diluted. The TT group received extract of the flowers of the plant at a dose of 10 mg / kg and the testosterone group received testosterone propionate at the dosage of 20 mg / kg. All administrations were by gavage for 30 days. The animals were euthanized and the liver was collected for the preparation of slides.* **Results and Discussion:** *there were no discrepant parameters of the control group found in any study slide, however, the physical exercise adopted in the concomitant behavior test may be related to the results.* **Conclusion:** *aerobic physical exercise has the capacity to restore and modulate liver enzymes, increasing glycogenolysis and gluconeogenesis, decreasing hepatic steatosis and oxidative stress, causing hepatoprotective effect, increasing mitoses and sinusoid capillaries, which improve irrigation and favor liver regeneration.*

Keywords: *Liver. Histology. Testosterone. Tribulus terrestris L.*

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* L. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* L. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

INTRODUÇÃO

A depressão é citada na literatura como um transtorno de humor. Possui prevalência duas vezes maior em mulheres, entretanto, muitos homens na fase senil são diagnosticados com essa síndrome. Tal acontecimento pode estar relacionado ao fato do homem entrar na condição de hipogonadismo tardio ou andropausa com a idade, fazendo com que os níveis séricos de testosterona despenquem. (HIRSCHFELD, 2002; ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2009).

Os sintomas da depressão e do hipogonadismo são extremamente similares, fazendo com que as condições se relacionem (MYERS *et al.*, 2003).

Como tratamento são utilizados os fármacos antidepressivos nas mais diversas classes, entretanto, todos possuem sérios efeitos adversos, como a redução da libido. (GOLAN, 2014). Com a correlação das duas condições, nos últimos anos houve um aumento da procura por suplementação com testosterona sintética, entretanto tal prática pode ser perigosa, podendo inclusive causar atrofia testicular.

Como proposta de tratamento alternativo existe a planta *Tribulus terrestris* L., que supostamente possui componentes análogos ou com a capacidade de aumentar as concentrações séricas de testosterona (LEMOS JUNIOR, 2011), o qual foi comprovado por Moreira *et al.*, (2017), todavia sem mencionar o mecanismo específico.

Apesar dos diversos estudos, não é possível chegar a um veredito sobre dose segura, propostas de tratamento e alvos terapêuticos. Sendo assim, este estudo objetivou estudar os efeitos da suplementação com o extrato da planta e com testosterona sintética no fígado de camundongos suíços.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e sua distribuição em grupos

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sagrado Coração, registrado no número 9871190216. Para tal, utilizaram-se quarenta camundongos suíços machos, com 120 dias de idade, que foram cedidos pelo biotério da Universidade do Sagrado Coração, onde permaneceram durante o experimento. O ambiente foi mantido entre 22 e 25°C, com ciclo claro-escuro de 12 horas, limpo e bem arejado.

Os animais foram divididos em quatro grupos de dez e foram acondicionados em gaiolas de polietileno.

Utilizou-se um grupo como controle do experimento. Um segundo grupo foi denominado de grupo castrado e ambos receberam o veículo aquoso, no qual as drogas ofertadas aos outros grupos foram diluídas. Um grupo recebeu a suplementação com o propionato de testosterona na dosagem de 20 mg/kg, sendo assim denominado grupo testosterona. O último grupo recebeu o tratamento com a planta medicinal a partir do extrato das flores do *Tribulus terrestris* L. na dosagem de 10 mg/kg (GAUTHAMAN e GANESAN, 2008).

As drogas foram manipuladas por uma farmácia especializada da cidade de Bauru, interior de São Paulo, Brasil. A mesma forneceu o laudo de qualidade do produto.

Os tratamentos foram dados aos animais via gavagem por um período de 30 dias no volume de 0,2 ml.

Orquiectomia bilateral

De acordo com Andrade (2006 apud CARVALHO *et al.*, 2011), o animal atinge a maturidade sexual aos sessenta dias de vida. Entretanto, já pode-se notar presença de hormônios sexuais com metade desta idade.

Sendo assim, os animais do grupo castrado sofreram o processo de orquiectomia bilateral com 30 dias de vida, onde foram pinçados e seccionados testículos providos de epidídimo.

A anestesia deu-se por cloridrato de quetamina e xilazina (0,5:0,5) via intraperitoneal de acordo com o peso de cada animal. Após a secção, foi realizada sutura com fio reabsorvível e os animais receberam para analgesia dose única de dipirona sódica 0,5g/ mL via subcutânea. Como protocolo, e por se tratar de um processo invasivo, os animais receberam o antibiótico enrofloxacino 2,5% a 10 mg/kg pela via intramuscular.

Coleta do fígado

A eutanásia foi realizada com dose letal de Tiopental (150mg/Kg) e Lidocaína (10mg/Kg). Os animais foram abertos e os fígados seccionados e colocados em formol 10% por 48 horas, depois em solução de álcool 70% e enviados ao laboratório de histologia da Universidade do Sagrado Coração. Neles foram realizados o emblocamento em parafina, os cortes histológicos e a coloração Hematoxilina-Eosina (HE).

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* l. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* l. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

Resultados e Discussão

Seguem descritos os achados a partir da análise das lâminas de cada grupo de estudo.

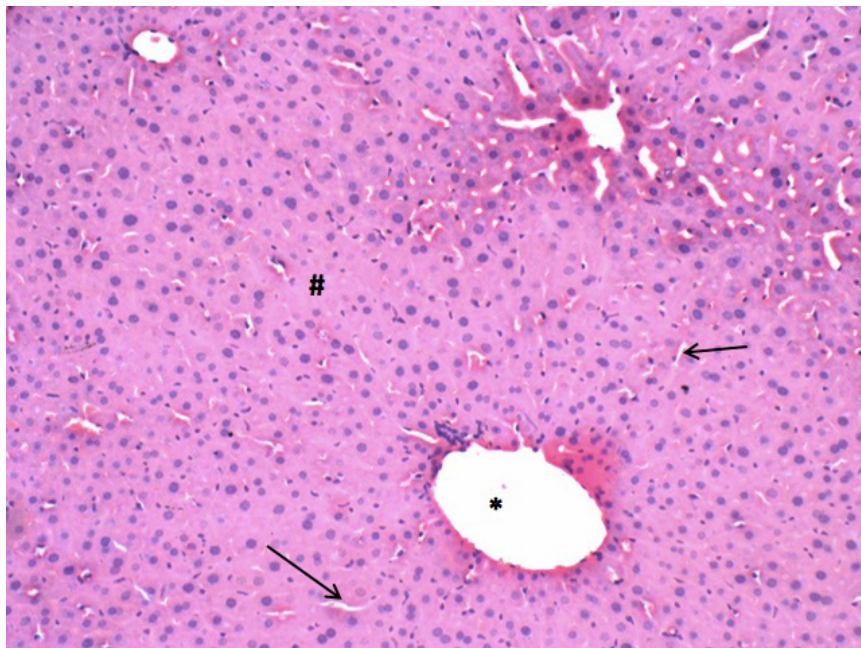


Figura 1 - Grupo Controle – Hepatócitos poliédricos (#), com núcleo centralizado, formando cordões que delimitam capilares sinusóides (setas). Veia central centralizada (*). Coloração HE (hematoxilina e eosina). Aumento de 20x.

Fonte: elaborado pelo autor.

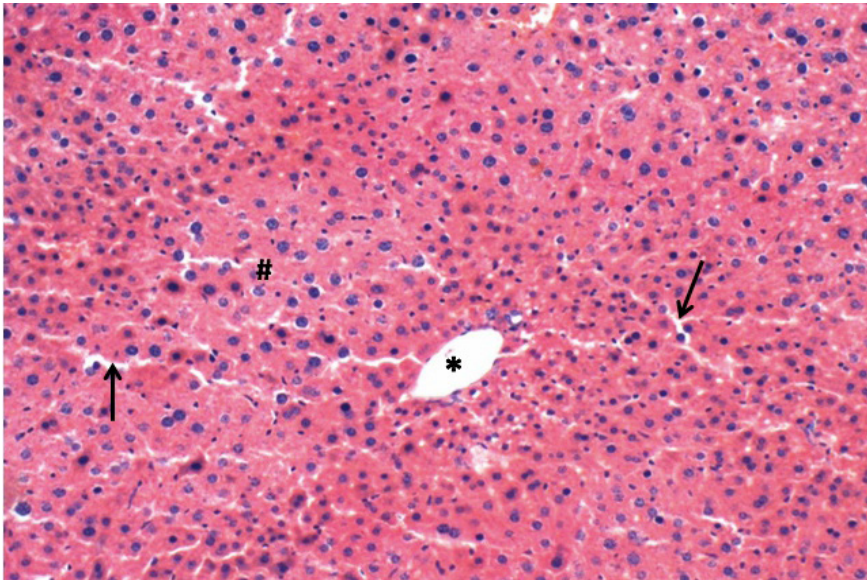


Figura 2 - Grupo Castrado – Hepatócitos poliédricos (#), com núcleo centralizado, formando cordões que delimitam capilares sinusóides (setas). Veia central centralizada (*). Coloração HE (hematoxilina e eosina). Aumento de 20x.

Fonte: elaborado pelo autor.

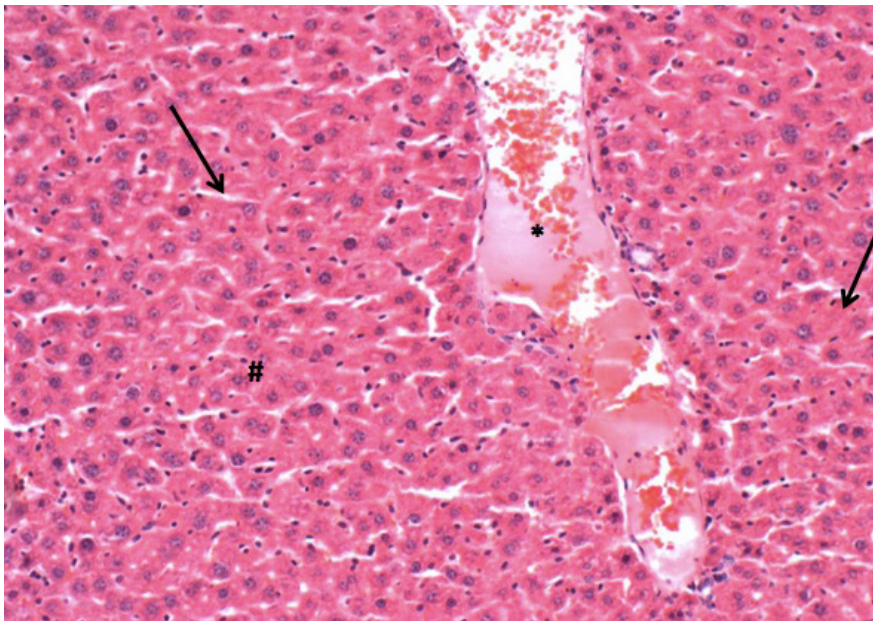


Figura 3 - Grupo Testosterona – Hepatócitos poliédricos com núcleo centralizado, formando cordões (#) e delimitando capilares sinusóides (setas) com diâmetro normal. Veia central centralizada (*) com presença de hemácias e material amorfo. Coloração hematoxilina e eosina. Aumento de 20x.

Fonte: elaborado pelo autor.

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* l. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* L. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

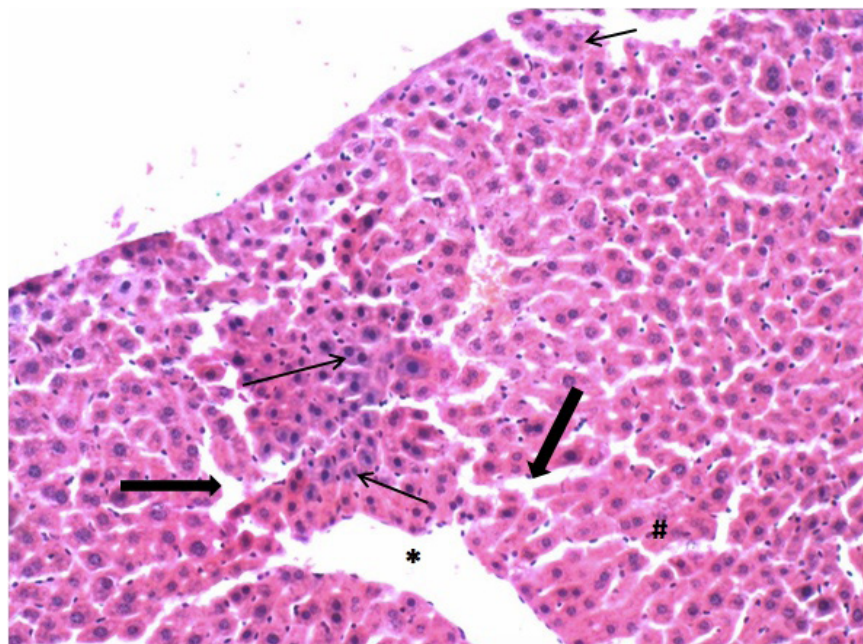


Figura 4 - Grupo TT – Fígado – Hepatócitos em sua maioria poliédricos (#), com núcleo centralizado. Presença de capilares sinusóides (setas grossas) com diâmetro aumentado. Veia central centralizada com proporções normais (*). Periféricamente grande número de células em divisão celular. Coloração HE (hematoxilina e eosina). Aumento de 20x.

Fonte: elaborado pelo autor.

Concomitante a este estudo, todos os animais foram submetidos ao nado forçado sem sobrecarga para a realização de testes comportamentais (MOREIRA, 2017). Diante do exposto, é coerente considerar o efeito do exercício aeróbico sobre os parâmetros hepáticos aqui avaliados. Para Lee *et al* (2006), o treinamento físico aeróbico em animais obesos ou hipoglicêmicos tem capacidade de modular e restaurar os níveis de enzimas hepáticas envolvidas nas reações de glicogenólise e gliconeogênese, favorecendo a regulação dessas disfunções metabólicas. Da mesma forma, o exercício aeróbico modula a expressão de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CA), se opondo ao estresse oxidativo. Diante do exposto, a descrição histológica do presente estudo corrobora com os efeitos hepatoprotetores promovidos pelo exercício aeróbico.

Um estudo realizado por Almasi *et al* (2017) utilizou a administração de injeção intraperitoneal diária de 500, 700 e 1000 mg / kg de extrato de *Tribulus terrestris* L. em ratos com esteato-

se hepática induzida experimentalmente. Foram avaliados os níveis séricos de biomarcadores dos perfis hepáticos e lipídicos séricos, também o exame histopatológico do tecido hepático. Os resultados obtidos evidenciaram melhora em todos os parâmetros avaliados, sugerindo que o TT exerce efeito hepatoprotetor. No presente estudo o grupo tratado com TT na dose de 10mg/kg durante 30 dias, por via oral, também apresentou alterações hepáticas não deletérias, visto que o aumento do diâmetro dos vasos sinusóides e aumento de mitose dos hepatócitos descritos na análise histológica sugerem que a planta apresenta capacidade de melhorar a irrigação do tecido hepático, favorecendo sua regeneração. Essa observação corrobora com o efeito hepatoprotetor do estudo mencionado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentro dos parâmetros avaliados, podemos citar que o exercício físico foi o único capaz de alterar parâmetros no fígado dos animais a nível histológico. Isso se deu pela sua capacidade de modular e restaurar enzimas hepáticas, aumentando a glicogenólise e gliconeogênese, causando o efeito hepatoprotetor mencionado. Tal efeito causa aumento dos capilares sinusóides e do número de mitoses, causando melhor irrigação e, conseqüentemente, melhor regeneração do tecido hepático, além de diminuir esteatose hepática e estresse oxidativo.

Novos estudos se fazem necessários para elucidar os resultados e comparar claramente a influência do exercício físico isolado e associado aos tratamentos utilizados, além de uma dosagem fitoquímica da espécie vegetal utilizada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade do Sagrado Coração pela oportunidade da realização do experimento e pela concessão do espaço para realização do mesmo. Agradeço a Dra. Patrícia Saraiva pela análise das lâminas e por todos os ensinamentos transmitidos durante o experimento.

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* l. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* L. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.

REFERÊNCIAS

ALMASI, F.; KHAZAEI, M.; CHEHREI, S.; GHANBARI, A. Efectos hepatoprotectores del Extracto Hidroalcohólico de *Tribulus terrestris* en Ratas con Inducción de Hígados Grasos no Alcolicos. *Int. J. Morphol.*, Temuco, v. 35, n. 1, p. 345-350, 2017.

ANDRADE JUNIOR, E. S. de.; CLAPAUCH, R.; BUKSMAN, S. Short term testosterone replacement therapy improves libido and body composition. *Arq Bras Endocrinol Metab.* São Paulo, v. 53, n. 8, nov. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302009000800014>.

CARVALHO, C. A de. et al. Aspectos macroscópicos e histológicos da mucosa gástrica de ratos wistar e sua utilização em modelo de úlceras gástricas. *Arch. Vet. Sci.*, Curitiba, v.16, n.1, p.44-53, 2011. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/veterinary/article/viewFile/17926/14962>>.

GAUTHAMAN, K.; GANESAN, A. P. The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction--an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicine.* Stuttgart, v. 15, n. 1-2, p. 44-54. Jan. 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18068966>>.

GOLAN, D. E. **Princípios de farmacologia:** a base fisiopatológica da farmacologia. Rio de Janeiro: GEN, 2014.

HIRSHFELD, R. M. A. et al. Partial Response and Nonresponse to Antidepressant Therapy: Current Approaches and Treatment Options. *J Clin Psychiatry.* Memphis, v. 63, n. 9, p. 826-837, set. 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12363125>>

LEE, P. H. et al. Stage of exercise and health - related quality of life among overweight and obese adults. *J Adv Nurs*, Oxford, v. 53, n. 3, p. 295-303, feb. 2006.

LEMOS JUNIOR, H. P.; LEMOS, A. L. A.; LEMOS, L. M. D. *Tribulus Terrestris*. **Diagn Tratamento.** São Paulo, v. 16, n. 4, p. 170-173, 2011. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/1413-9979/2011/v16n4/a2727.pdf>>

MOREIRA, L. R.; BERTOZZO, T. V.; ANGELO, J. M. A.; MARCELLINO, M. C. L. Investigação do efeito do declínio reprodutivo e da suplementação com *Tribulus terrestris* L. no comportamento de camundongos suíços submetidos ao teste do nado forçado. *SALUSVITA*, Bauru, v. 36, n. 4, p. 1067-1080, 2017. Disponível em:

<https://secure.usc.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita_v36_n4_2017_art_07.pdf>

MYERS, J. B.; MEACHAM, R. B. Androgen replacement therapy in the aging male. **Rev Urol**. Mercer Islands, v. 5, n. 4, p. 216–226, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1508369/>>.

MOREIRA, Lucas Roberto *et al.* Estudo do efeito da castração, suplementação com propionato de testosterona e *Tribulus Terrestris* l. no fígado de camundongos suíços machos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 37, n. 4, p. 923-932, 2018.