

Comparação dos Efeitos de Glicocorticóide sobre os Órgãos-Alvo nos Ratos de Diferentes Idades

Raquel Pettenon, Vandélise Cassol,
Viktor Ivanovitch Goudochnikov

Resumo

Em experimentos recentes mostrou-se a maior sensibilidade de ratas jovens aos efeitos de glicocorticóide (GC) sobre os parâmetros gravimétricos de órgãos alvo, em comparação com ratas adultas. Porém, nestes experimentos a avaliação dos efeitos de GC foi realizada separadamente, num experimento para animais jovens e noutro experimento para animais adultos. Além disso, ainda não foi estudado o mesmo assunto (da possível dependência da idade para ação de GC) nos ratos do sexo masculino. Portanto, no trabalho atual avaliou-se paralelamente reações de parâmetros gravimétricos de órgãos alvo ao GC nos ratos machos. Usou-se ratos jovens (56 dias de idade, com peso corporal de 210-220 g) e ratos adultos (94 dias de idade, peso corporal 290-320 g). O GC acetato de dexametasona (DMA) foi injetado aos ratos duas vezes, com intervalo de um dia entre as datas de injeções. Aproximadamente 24 horas após a última injeção foram extraídos o timo, baço e glândulas supra-renais, para avaliação dos pesos antes e depois da secagem durante 24 horas no ambiente de 50°C. Nos ratos jovens o DMA na dose de 0,2 mg/kg do peso corporal causou a diminuição ($P < 0,01$) dos pesos absoluto, seco e relativo (mg/g do peso corporal) do timo (por 54,3-68,8%) e do baço (por 32,1-41,3%), não alterando significativamente parâmetros gravimétricos de glândulas supra-renais. Nos ratos adultos os graus da influência inibidora do DMA na dose 0,2 mg/kg foram menores (52,8-53,7% para timo e 23,2-24,3% para baço). A diferença entre idades foi confirmada também no caso de dose maior

do DMA (2 mg/kg), incluindo os dados sobre inibição significativa de glândulas supra-renais ($P < 0,05$). Realmente, neste caso o grau da inibição do timo, baço e glândulas supra-renais para ratos jovens foi 77,4-90,2%, 59,5-70% e 30,8-37,1% respectivamente. Entretanto, para ratos adultos os graus de inibição dos órgãos alvo foram 47,8-74,5%, 38,4-51% e 26,2-33,3% respectivamente para timo, baço e glândulas supra-renais. Os resultados obtidos nos ratos do sexo masculino confirmam a maior sensibilidade de ratos jovens para efeitos de GC. Sugere-se que, pelo menos parcialmente, este fenômeno pode ser explicado pelo envolvimento de GC na involução fisiológica do timo que ocorre no período peripuberal.

Palavras-chave: glicocorticóide; órgãos alvo; idade

Comparison of Glucocorticoid effects on Target Organs in Rats of Different age Groups

Abstract: Our recent experiments have shown higher sensitivity of young female rats to the action of glucocorticoid (GC) on gravimetric indices of target organs, as compared to adult animals. However, those experiments employed separate evaluation of GC effects, in one experiment for young rats and in another experiment for adult animals. Besides, the same aspect (that concerns possible dependence on age for GC action) was not studied yet in male rats. Therefore, present work evaluated in parallel the reactions of gravimetric indices of target organs in male rats. Young (56-day old, 210-220 g BW) and adult (94-day old, 290-320 g BW) rats were used. The GC hormone, dexamethasone acetate (DMA) was injected to the animals two times, with the interval of one day between the injection dates. Approximately 24 h after the last injection thymus, spleen and adrenals were isolated for posterior evaluation of their weights, before and after drying for 24 h at 50°C. In young rats, DMA (0.2 mg/kg BW) caused the decrease ($P < 0.01$) in absolute, dry and relative (mg/g BW) weights of thymus (by 54.3-68.8%) and spleen (by 32.1-41.3%), without significant alteration of gravimetric indices of adrenals. In adult animals, the degrees of inhibitory influence of DMA (0.2 mg/kg) were lower (52.8-53.7% for thymus and 23.2-24.3% for spleen). This age-related difference was confirmed also for higher DMA dose (2 mg/kg), including the data on significant inhibition of adrenals ($P < 0.05$). Indeed, in this case the degrees of inhibition of thymus, spleen and adrenals for young rats were 77.4 - 90.2%, 59.5 - 70.0% and 30.8 - 37.1% respectively. Meanwhile, in adult animals the degrees of inhibition of target organs were 47.8 - 74.5%, 38.4 - 51.0% and 26.2 - 33.3% for thymus, spleen and adrenals respectively. In conclusion, the results obtained for male rats confirm higher sensitivity of young rats to GC effects. It is suggested that, at least partially, this phenomenon can be explained by the involvement of GC in physiologic thymus involution occurring in peripubertal period.

Keywords: glucocorticoid, target organs, age.

Introdução

Na época atual, os glicocorticóides (GC) são amplamente usados como agentes anti-inflamatórios e imunossupressores (Tyrrell, 1995), apesar de influência inibidora destes fármacos sobre o crescimento corporal (Loeb, 1976; Baxter, 1978; Hyams; Carey, 1988; Fine, 1993; Robinson et al., 1995).

Em nossos trabalhos anteriores, estudou-se a influência de glicocorticóides (GC) injetados no período neonatal, sobre o crescimento corporal, ponderal e linear, nos ratos de ambos os sexos (Goudochnikov et al., 1994; Dalmora et al., 1994a; Goudochnikov, 1997ab). Mostrou-se que três injeções de fosfato de dexametasona (DMF; 1-2 mg/kg do peso corporal) ou succinato de metilprednisolona (5 mg/kg) durante os primeiros 7-10 dias da vida pós-natal eram capazes de causar retardo irreversível do crescimento corporal. É importante salientar que três injeções do DMF durante os dias 11-20 da idade não resultaram em alterações significativas do crescimento, entretanto as três injeções do DMF durante o período pré-puberal causaram somente o retardo temporário do crescimento, com a recuperação completa na etapa posterior do desenvolvimento e até a tendência de sobressalto acima do nível do grupo controle no estado adulto (Goudochnikov et al., 1994; Goudochnikov, 1997ab). Isso mostrou que o impacto de GC sobre o crescimento corporal depende de idade dos animais.

Além do efeito citostático, os GC tem a ação timolítica, que faz parte da influência imunossupressora destes fármacos hormonais (Dalmora et al, 1994b; Vaccari et al, 1996). Em nossas pesquisas recentes estudou-se a influência do acetato de dexametasona (DMA) sobre o timo e baço nas ratas fêmeas adultas (Goudochnikov; Pettenon, 2001), bem como sobre o timo e a próstata nos ratos adultos, intactos e castrados (Pettenon; Goudochnikov, 2000). Além disso, mostrou-se a maior sensibilidade de ratas fêmeas jovens à influência do DMA sobre

os parâmetros gravimétricos do timo, baço, glândulas supra-renais e glândula pituitária, em comparação com ratas adultas (Goudochnikov et al, 2000; Pettenon; Goudochnikov, 2001).

Porém, em dois últimos estudos (Goudochnikov et al, 2000; Pettenon; Goudochnikov, 2001) a avaliação dos efeitos de GC foi realizada nos experimentos separados. Além disso, não é claro até agora, se existem as diferenças sexuais nas respostas de animais aos efeitos de GC. Portanto, no trabalho atual foram pesquisados paralelamente, no mesmo experimento, os efeitos do DMA sobre parâmetros gravimétricos do timo, baço e glândulas supra-renais.

Material e Métodos

Usou-se ratos machos da linhagem Wistar de duas diferentes idades: jovens (idade de 56 dias, peso corporal 210-220 g) e adultos (idade de 94 dias, peso corporal 290-320 g). Os animais foram mantidos nas condições de fotoperíodo natural, com acesso livre à água e ração. O número de animais por grupo experimental (controle ou tratamento) foi 4-5. O GC DMA foi injetado duas vezes via subcutânea nas doses de 0,2 ou 2,0 mg/kg do peso corporal, com intervalo de um dia entre as injeções. Aproximadamente 24 horas após a última injeção os ratos foram sacrificados com éter, e o timo, baço e glândulas supra-renais foram extraídos e pesados na balança analítica (com a exatidão de 0,1 mg) duas vezes, antes e depois da secagem no ambiente de 50°C durante aproximadamente 24 horas.

O tratamento estatístico de dados obtidos foi realizado pelo teste “t” de Student, considerando que a diferença entre grupos seria significativa, se valor P for menor ou igual a 0,05. Os valores de P entre 0,05 e 0,1 mostravam a tendência óbvia ao efeito, mesmo sem significância estatística dele.

Resultados

As tabelas 1 e 2 mostram que o DMA na dose menor de 0,2 mg/kg causou diminuição do peso absoluto do timo e baço por 68,8% e 41,3% respectivamente nos ratos jovens e por 53,7% e 24,3% nos ratos adultos, sem alteração significativa do peso absoluto de glândulas supra-renais. Na mesma dose o DMA diminuiu o peso seco do timo e baço por 54,2% e 36,9% respectivamente nos ratos jovens, sem causar mudanças significativas do peso seco destes órgãos nos ratos adultos. O peso seco de glândulas supra-renais não foi afetado por DMA na dose de 0,2 mg/kg em ambos os grupos de ratos de diferentes idades. Na mesma dose o DMA resultou em diminuição do peso relativo (mg/g do peso corporal) do timo e baço por 64,4% e 32,1% respectivamente nos ratos jovens e por 52,7% e 23,2% nos ratos adultos. O peso relativo de glândulas supra-renais não foi modificado por DMA na dose de 0,2 mg/kg em ambos os grupos de animais de diferentes idades.

De acordo com as tabelas 1 e 2, o DMA na dose maior de 2,0 mg/kg causou a diminuição do peso absoluto de timo, baço e glândulas supra-renais por 90,2%, 70% e 37,1% respectivamente nos ratos jovens e por 74,8%, 51% e 33,3% nos ratos adultos. Na mesma dose o DMA diminuiu o peso seco de timo, baço e glândulas supra-renais por 77,4%, 59,5% e 30,8% respectivamente nos ratos jovens e por 47,8%, 38,4% e 26,2% nos ratos adultos. Na mesma dose de 2,0 mg/kg o DMA resultou em diminuição do peso relativo de timo, baço e glândulas supra-renais por 87,3%, 60,5% e 16,5% respectivamente ($0,1 > P > 0,05$ para glândulas supra-renais) nos ratos jovens e por 74,5%, 50,1% e 33,1% nos ratos adultos.

A comparação das alterações de parâmetros gravimétricos entre duas diferentes idades mostra claramente que, *de modo geral*, os ratos jovens são mais sensíveis à influência de GC.

Discussão e Conclusão

Como mostram resultados apresentados neste trabalho, a dependência da idade realmente existe para efeitos de GC, o que confirma nossos dados anteriores (Goudochnikov et al., 1994; Dalmora et al., 1994a; Goudochnikov et al., 2000; Pettenon; Goudochnikov, 2001).

Se a dependência da idade para influência de GC sobre o timo ainda pode ser explicada pela contribuição destes hormônios à involução fisiológica do timo no período peripuberal, a explicação para o baço e glândulas supra-renais deveria usar outras evidências.

Uma das possibilidades na interpretação deste fenômeno pode ser relacionada com envolvimento de GC na renovação do perfil imune (Goudochnikov, 1999), afetando, desta maneira, não só timo, mas também outros órgãos alvo e provavelmente, vários tecidos do corpo.

Porém, já existem dados obtidos por nós, em relação às sínteses de macromoléculas (DNA, RNA e proteína total), sobre a maior sensibilidade de glândula pituitária de ratos recém-nascidos ou lactentes ao efeito citostático de GC, em comparação com animais pré-puberes e adultos, na cultura primária de células (Gudoshnikov; Fedotov, 1993; Goudochnikov, 1997b). Isso significa que além do componente “sistêmico”, pode existir o componente “local” que é responsável, pelo menos parcialmente, pela maior sensibilidade de órgãos alvo ao GC nos ratos de menores idades.

Concluindo, os ratos machos jovens são mais sensíveis aos efeitos de GC sobre órgãos alvo, em comparação com animais adultos. Portanto, considerando nossos trabalhos recentes, essa diferença, dependente da idade, é válida para ambos os sexos.

Tabela 1 – Efeitos do DMA (0,2 e 2,0 mg/kg) sobre os parâmetros gravimétricos de timo e baço nos ratos jovens (N = 4 por grupo).

Órgão	Grupo	Pesos		
		Absoluto, mg	Seco, mg	Relativo, mg/g x 100
Timo	Controle	408,9 ± 36,5	111,9 ± 9,89	179 ± 22
	DMA 0,2 mg/kg	127,6 ± 11,5 P < 0,001	51,2 ± 6,73 P < 0,005	63,8 ± 2,93 P < 0,005
	DMA 2,0 mg/kg	39,9 ± 5,63 P < 0,001	25,3 ± 2,67 P < 0,001	22,7 ± 3,12 P < 0,001
Baço	Controle	543,4 ± 31,2	162,1 ± 9,49	234,0 ± 8,29
	DMA 0,2 mg/kg	318,8 ± 35,8 P < 0,005	102,3 ± 10,8 P < 0,01	159,0 ± 10,3 P < 0,005
	DMA 2,0 mg/kg	163,1 ± 36,6 P < 0,001	65,6 ± 8,93 P < 0,001	92,4 ± 20,2 P < 0,001
Glândulas supra-renais	Controle	18,6 ± 2,05	15,6 ± 1,78	7,99 ± 0,519
	DMA 0,2 mg/kg	14,0 ± 2,19 NS	13,2 ± 1,87 NS	6,24 ± 1,69 NS
	DMA 2,0 mg/kg	11,7 ± 0,407 P < 0,025	10,8 ± 0,429 P < 0,05	6,67 ± 0,215 0,1 > P > 0,05

Obs.: NS – diferença não significativa (P > 0,05).

Tabela 2 – Efeitos do DMA (0,2 e 2,0 mg/kg) sobre os parâmetros gravimétricos do timo e baço nos ratos adultos (N = 4-5 por grupo).

Órgão	Grupo	Pesos		
		Absoluto, mg	Seco, mg	Relativo, mg/g x 100
Timo	Controle	258,4 ± 11,4	102,1 ± 2,71	91,4 ± 3,87
	DMA 0,2 mg/kg	119,7 ± 10,8 P < 0,001	85,3 ± 9,42 P > 0,05	43,1 ± 4,01 P < 0,001
	DMA 2,0 mg/kg	65,1 ± 5,53 P < 0,001	53,3 ± 5,4 P < 0,001	23,3 ± 1,65 P < 0,001
Baço	Controle	427,2 ± 20,3	153,9 ± 7,23	151,0 ± 6,59
	DMA 0,2 mg/kg	323,4 ± 26,6 P < 0,025	131,4 ± 7,51 0,1 > P > 0,05	116,0 ± 9,93 P < 0,025
	DMA 2,0 mg/kg	209,4 ± 20,4 P < 0,001	94,8 ± 6,57 P < 0,001	75,3 ± 8,08 P < 0,001
Glândulas supra-renais	Controle	26,4 ± 0,934	21,0 ± 0,7	9,33 ± 0,196
	DMA 0,2 mg/kg	21,5 ± 3,1 NS	18,2 ± 1,66 NS	7,71 ± 1,12 NS
	DMA 2,0 mg/kg	17,6 ± 2,24 P < 0,01	15,5 ± 1,84 P < 0,05	6,24 ± 0,726 P < 0,005

Obs.: NS – diferença não significativa (P > 0,05).

Bibliografia

BAXTER, J. D. Mechanisms of glucocorticoid inhibition of growth. *Kidney International*, v. 14, p. 330-333, 1978.

DALMORA, S. L.; GOUDOCHNIKOV, V. I.; VACCARI, S. F. Inibição do crescimento corporal de ratos jovens após tratamento por sandostatina ou dexametasona. In: Reunião Anual da FESBE, 9., 1994, Caxambu – MG, *Resumos...*, 1994a, p. 327, Abstr. 15.18.

DALMORA, S. L.; GOUDOCHNIKOV, V. I.; VACCARI, S. F.; REAL, M. D. Prepubertal lymphocytopenia and thymus suppression accompany growth inhibition induced by neonatal glucocorticoid treatment. *Revista Argentina de Endocrinologia e Metabolismo*, v.31, Supl., p. 36, Abstr. 50. 1994b.

FINE, R. N. Corticosteroids and growth. *Kidney International*, v.44, Suppl.43, p. S59-S61, 1993.

GOUDOCHNIKOV, V. I. Modelling of glucocorticoid action in early childhood: Measurements of body and organ growth in developing rats. In: Stress of Life / International Congress of Stress, 1997, Budapest, *Abstracts...*, 1997a, p. 127, Abstr. R5.

GOUDOCHNIKOV, V. I. Patogênese de retardo do crescimento induzido por glicocorticóides, avaliada nos estudos experimentais, usando animais de laboratório e culturas de células como modelos. *NewsLab* (São Paulo), n.22, p. 90-100, 1997b.

GOUDOCHNIKOV, V. I. Novel interpretation for immunosuppressive action of glucocorticoids. In: Annual Meeting of the Brazilian Society for Immunology, 24., 1999, Águas de Lindóia-SP, *Summary...*, 1999, p. 161.

GOUDOCHNIKOV, V. I.; PETTENON, R. Comparação de efeitos de acetato de dexametasona sobre os parâmetros gravimétricos de timo e baço nas ratas adultas. *Revista Contexto & Saúde* (Ijuí-RS), v.1, n. 1, p. 97-104, 2001.

GOUDOCHNIKOV, V. I.; PETTENON, R.; CASSOL, V. Comparação dos efeitos de glicocorticóide sobre alguns órgãos alvo dos sistemas imune e endócrino nas ratas jovens. In: Farnapolis 2000, Florianópolis, *Caderno de Resumos de Trabalhos Científicos*, 2000, p. 38.

GOUDOCHNIKOV, V. I.; VACCARI, S. F.; DALMORA, S. L. Pituitary gland may be an important target in the mechanism of growth inhibition after neonatal treatment of rats by glucocorticoid hormone. *Neuroendocrinology*, v.60, No.Suppl.1, p. 59, Abstr. P2.71, 1994.

GUDOSHNIKOV, V. I.; FEDOTOV, V. P. The heightened sensitivity of hypophyseal cells of neonatal rats to corticosteroids. *Neuroscience and Behavioral Physiology* (New York), v.23, n.2, p. 107-111, 1993.

HYAMS, J. S.; CAREY, D. E. Corticosteroids and growth. *Journal of Pediatrics*, v.113, p. 249-254, 1988.

LOEB, J.N. Corticosteroids and growth. *New England Journal of Medicine*, v.295, p. 547-552, 1976.

PETTENON, R.; GOUDOCHNIKOV, V. I. Os efeitos combinados de castração e tratamento com glicocorticóide sobre o timo e a próstata. CONGRESSO MÉDICO DE PASSO FUNDO, 5., 2000, Passo Fundo, 2000a, p. 18.

PETTENON, R.; GOUDOCHNIKOV, V. I. Alterações gravimétricas dos órgãos alvo sob a influência de glicocorticóide nas ratas adultas. *Revista Contexto & Saúde* (Ijuí-RS), v.1, n. 1, p. 105-112, 2001.

ROBINSON, I. C. A. F.; GABRIELSON, B.; KLAUS, G. et al. Glucocorticoids and growth problems. *Acta Paediatrica Scandinavica*, Suppl.411, p. 81-86, 1995.

TYRRELL, J. B. Glucocorticoid therapy. In: FELIG, P. et al. (eds.) *Endocrinology and Metabolism*. 3.ed. New York: McGraw-Hill, 1995, p. 855-882.

VACCARI, S. F.; SILVEIRA, R. L.; GOUDOCHNIKOV, V. I. Interação entre glicocorticóides e andrógenos na regulação de timo e baço em ratos prepubertais. In: JORNADA INTEGRADA DE PESQUISA, EXTENSÃO E ENSINO DA UFSM, 3., 1996, Santa Maria, *Anais...* Santa Maria: 1996, p. 273.