

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DO EPITÉLIO UTERINO DE RATAS NUDE ATÍMICAS NAS FASES DE PROESTRO E DE METAESTRO DO CICLO ESTRAL*

Morphological characteristics of the uterine epithelium of athimic nude rats, in the proestrus and metestrus phases of estrous cycle

SELMA PETRELLA¹ LEONOR DENARO-MACHADO² JESUS C. MACHADO³ OSWALDO A. MORA⁴ MANUEL DE JESUS SIMÕES⁵

O presente experimento compara a nível de microscopia de luz a morfologia do epitélio uterino de ratas congenitamente atímicas (rnu/rnu) com a de suas "littermates" eutímicas (rnu/+), da linhagem Rowett, nas fases de proestro e de metaestro do ciclo estral.

Pudemos observar que a morfologia do epitélio uterino das ratas homozigotas (rnu/rnu) foi semelhante à das heterozigotas (rnu/+), em ambas as fases estudadas e compatível com a morfologia uterina descrita na literatura referente a ratas comuns.

No metaestro verificamos epitélio do tipo cilíndrico simples e áreas deste epitélio em desarranjo com algumas das células apresentando vacuolização citoplasmática e núcleo picnótico.

No proestro, o epitélio cilíndrico simples apresentou-se constituído por células contendo núcleo alongado deslocado para a porção basal.

Unitermos: Epitélio uterino - ratas nude atímicas - aspectos morfológicos.

Keywords: Uterine epithelium-athimic nude rats - morphological characteristics.

* Parte do trabalho apresentado como tese de mestrado no curso de pós-graduação em Morfologia à Universidade Federal de São Paulo - Unifesp (Escola Paulista de Medicina) - São Paulo - SP.

- 1 - Pesquisadora Científica do Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Butantan e Pós-Graduanda, nível doutorado, da Disciplina de Anatomia Descritiva da Universidade Federal de São Paulo - Unifesp.
- 2 - Pesquisadora Científica e Diretora do Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Butantan.
- 3 - Patologista do Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Butantan.
- 4 - Professor Assistente da Disciplina de Histologia da Universidade Federal de São Paulo - Unifesp.
- 5 - Professor Adjunto da Disciplina de Histologia da Universidade Federal de São Paulo - Unifesp.

Introdução

A mutação atímica e ausência de pêlos foi observada pela primeira vez em 1953 em uma colônia de ratos mantidos no Instituto de Pesquisa Rowett, em Aberdeen, Escócia. O símbolo rnu de Rowett nude foi designado ao gene mutante recessivo (8). Poucos estudos a respeito destes ratos são encontrados na literatura. Entretanto, as características imunológicas e a morfologia dos órgãos linfóides e endócrinos foram bem detalhadas (18, 20). *Vos et al.* (19) observaram semelhanças morfológicas nos ovários entre ratas rnu/rnu e as rnu/+. Entretanto, nenhum dos estudos faz referência à morfologia do útero.

O epitélio endometrial sofre modificações morfológicas, decorrentes de sua renovação, com padrões peculiares a cada fase do ciclo estral (2, 7). Tais modificações são dependentes das flutuações nos níveis de estrógeno e progesterona circulantes (2, 4, 5).

Neste trabalho analisaremos, através da microscopia de luz, a morfologia do epitélio uterino de ratas atímicas (rnu/

Endereço para correspondência: Selma Petrella - Rua 21 de abril, 1.542 - apto 64 - CEP 03047-000 - São Paulo - SP.

rnu) e das eutímicas (rnu/+) da linhagem Rowett, nas fases de proestro e de metaestro do ciclo estral, com o propósito de se detectar possíveis alterações nas ratas atímicas, uma vez que estas possuem baixa reprodutividade e níveis de hormônios esteróides provavelmente alterados, quando comparados com o das eutímicas (16), uma vez que nenhum trabalho sobre este assunto foi encontrado na literatura por nós consultada.

Material e métodos

As ratas rnu/rnu e as rnu/+ foram obtidas de uma colônia estabelecida no Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Butantan, mantida através do acasalamento de machos homozigotos rnu/rnu com fêmeas heterozigotas rnu/+, e cujas matrizes foram trazidas do CNRS - (Conseil National de Recherches Cientifique sur l' Cancer - França). Estes animais foram criados sob condições semiconvencionais de higiene e alimentação e temperatura constante de 20°C.

No presente trabalho utilizamos dez ratas rnu/rnu e dez rnu/+, adultas, com idade entre três e quatro meses e peso aproximado de 250g, que foram distribuídas ao acaso em dois grupos de cinco animais cada, sendo um grupo sacrificado na fase de proestro e o outro na de metaestro do ciclo estral. Estas fases foram determinadas através do exame colpocitológico realizado diariamente. Os animais foram utilizados para o experimento somente após a confirmação de pelo menos dois ciclos estrais consecutivos. Em seguida foram anestesiados com éter etílico, e o terço médio dos cornos

uterinos retirados e fixados em líquido de Bouin, para posterior inclusão em parafina. Cortes de 5 µm foram confeccionados em micrótomo tipo Minot e posteriormente corados pela hematoxilina-eosina.

Resultados

No presente trabalho pudemos verificar uma semelhança morfológica do epitélio uterino entre as rnu/rnu e as rnu/+.

No proestro o útero mostrou-se revestido por epitélio cilíndrico simples, formado por células justapostas, contendo núcleo alongado deslocado para o pólo basal, com dois ou mais nucléolos e cromatina nuclear formando pequenos grumos espalhados por todo o nucleoplasma (figuras 1 e 2).

No metaestro o epitélio luminal apresentou-se formado por uma única camada de células cilíndricas, com núcleo de formato alongado, dois ou mais nucléolos e inúmeros grumos de cromatina. Em algumas áreas, havia desarranjo epitelial e algumas células com vacúolos intracitoplasmáticos. Por entre as células, verificamos a presença de leucócitos. Figuras de mitose também foram encontradas nesta fase (figuras 3 e 4).

Discussão

Estes resultados mostram uma semelhança morfológica entre o epitélio de ratas rnu/rnu e o das rnu/+ e encontram apoio nas investigações histológicas de Bertalanffy & Lau (2) e de Datta *et al.* (7), no que se refere ao proestro e ao metaestro.

Obtivemos como resultado no proestro epitélio uterino

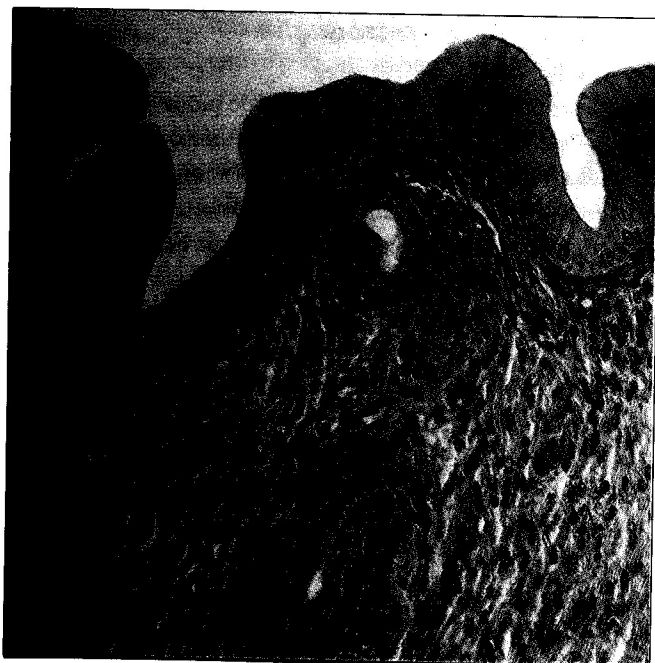


Figura 1 - Fotomicrografia de porção do útero de rata rnu/rnu e na figura 2 de rata rnu/+, mostrando aspecto histológico desse órgão no proestro. Notar epitélio cilíndrico simples. H.E. 330 x e 410 x, respectivamente.

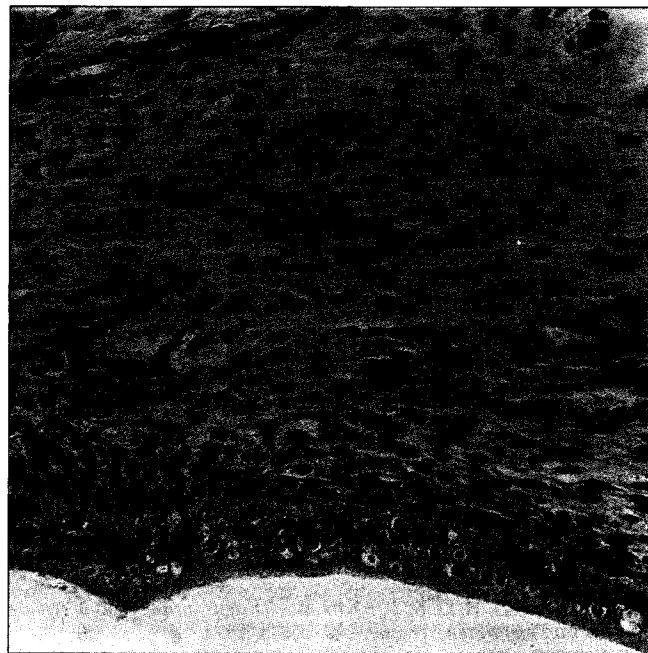
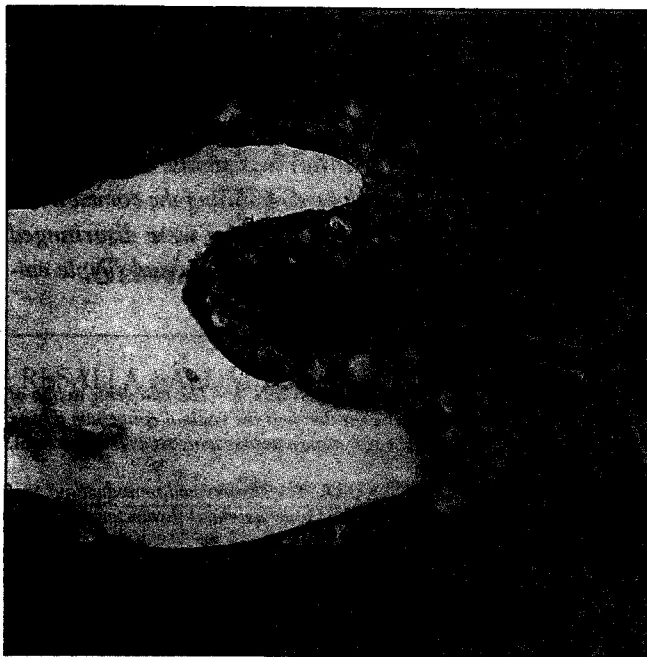


Figura 3 - Fotomicrografia de porção do útero de rata *rnu/rnu* e na figura 4 de rata *rnu/+*, mostrando aspecto histológico do útero no metaestro. Epitélio cilíndrico simples, onde se observam células contendo vacúolos citoplasmáticos e infiltrado de células polimorfonucleares. H.E. 410 x e 330 x, respectivamente.

simples, formado por células colunares altas, cujos núcleos dispuseram-se no pólo basal, concordando com os achados de Bertalanffy & Lau (2). Segundo estes e Datta *et al.* (7), durante a fase de estro o epitélio luminal mostra células hipertrofiadas, e o núcleo passa a ocupar o pólo apical destas. No final desta fase denota-se vacuolização citoplasmática e infiltração do epitélio por leucócitos.

Observamos no metaestro desarranjo das células epiteliais, vacuolização citoplasmática e intensa infiltração por leucócitos. Datta *et al.* (7) referem, nesta fase, epitélio colunar e Bertalanffy & Lau (2) relatam haver mitoses e descamação da porção do epitélio em degeneração.

Estudos realizados demonstraram no epitélio uterino velocidade máxima de proliferação durante o diestro, o que é mais lenta no estro, concluindo que este epitélio se regenera durante a fase de diestro (12). Datta *et al.* (7) verificaram no diestro I e II que as células do epitélio luminal uterino apresentavam-se preservadas, tendo formato cúbico.

Alguns autores observaram no proestro vascularização e lúmen uterino distendido, devido a maior quantidade de fluido uterino. Verificaram no diestro final menor quantidade de conteúdo fluido, vascularização menos proeminente e útero delgado. Na fase de metaestro notaram redução na quantidade de fluido e na espessura do útero. Barnea *et al.* (1) assinalaram que a diminuição da distensão uterina e o desaparecimento do fluido uterino no estro são induzidos pela progesterona.

Inúmeras publicações relatam a existência de receptores

celulares para o estrógeno nas células uterinas. A propósito, alguns autores observaram que as flutuações cíclicas nas concentrações destes receptores no epitélio uterino durante o ciclo estral, encontram-se sob a influência e se elevam com o aumento dos hormônios estrogênicos (10, 11). Outros verificaram fato semelhante em relação ao complexo estrógeno-receptor nuclear, e concluíram que tais flutuações cíclicas advêm do deslocamento do complexo do citoplasma para o núcleo (6).

Experimentos realizados em animais atímicos ou submetidos à timentomia sugerem a interdependência de funções entre o timo e o sistema endócrino. Ratas pré-púberes e camundongas neonatais apresentam após a timentomia disgenesia ovariana e atraso na puberdade (3, 13, 14, 15, 17). Entretanto, o enxerto tímico é capaz de restaurar a fertilidade de camundongas nude (18). Foram também constatados níveis reduzidos de estrógeno e progesterona em camundongas atímicas (9).

Embora ratas *rnu/rnu* apresentem ovários morfológicamente normais (19), ciclo estral normal (16), e epitélio uterino próprio de cada fase, como consta no presente trabalho, a sua baixa reprodutividade pode ser decorrente da existência de um desequilíbrio a nível hormonal. Os prováveis mecanismos endócrinos pouco conhecidos e inerentes a estes organismos atímicos precisam, sem dúvida, ser melhor compreendidos efetuando-se futuros experimentos, tais como a detecção de possíveis alterações a nível dos receptores hormonais.

Summary

In the present study we tried to compare using light microscopy, the morphology of uterine epithelium of congenitally athymic (rnu/rnu) rats, of the Rowett strain, with their thymusbearing littermates (+/rnu), in proestrus and metestrus. The morphology of the uterine epithelium, in both phases studied, of the homozygous rats (rnu/rnu) was similar to that of the heterozygous (+/rnu) and was compatible with the uterine morphology described in the literature regarding the common rat.

In metestrus, the cylindric and simple epithelium was observed as well as areas of this epithelium were disarranged regarding some cells presenting cytoplasmic vacuolization and pyknotic nucleus. In proestrus, the cylindric and simple epithelium consisted of cells containing an elongated nucleus displaced in relation do the basal portion.

Referências bibliográficas

- 1 - BARNEA, A.; GERSHONOWITZ, T. & SHELESNYAK, M. G. - Assesment of ovarian secretion of oestrogen during the oestrous cycle by the use of biological criteria. *J Endocrinol*, 41: 281-8, 1968.
- 2 - BERTALANFFY, F. D. & LAU, C. - Mitotic rates, renewal times, and cytodynamics of the female genital tract epithelia in the rat. *Acta Anat*, 54: 39-81, 1963.
- 3 - BESEDOVSKY, H. O. & SORKIN, E. - Thymus involvement in female sexual maturation. *Nature*, 249: 356-8, 1974.
- 4 - BOURG, R. - Comparison of cytology of the vaginal epithelium in rats and women. *Acta Endocrinol*, 11: 21-32, 1952.
- 5 - CAMANO, L. & GIUFFRIDA, R. - Modificações citológicas e histológicas do epitélio vaginal da rata. *Matern. Infância* (São Paulo), 29: 231-54, 1970.
- 6 - CLARK, J. H.; ANDERSON, J. & PECK Jr., E. J. - Receptor-estrogen complex in the nuclear fraction of rat uterine cells during the estrous cycle. *Science*, 176: 528-30, 1972.
- 7 - DATTA, I. C.; KARKUN, J. N. & KAR, A. B. - Studies on physiology and biochemistry of the cervix changes in the cervix of rats during estrus cycle. *Acta Biol Med Germ*, 20: 147-54, 1968.
- 8 - FESTING, M. F. W.; MAY, D.; CONNORS, T. A.; LOVELL, D. & SPARROW, S. - An athymic nude mutation in the rat. *Nature*, 274: 365-6, 1978.
- 9 - KOPF-MAIER, P. & MBONEKO, V. F. - Anomalies in the hormonal status of athymic nude mice. *J Cancer Res. Clin. Oncol*, 116: 229-31, 1990.
- 10 - LEE, C. & JACOBSON, H. I. - Uterine estrogen receptor in rats during pubescence and the estrous cycle. *Endocrinology*, 88: 596-601, 1971.
- 11 - LEE, S. H. - Uterine epithelial and eosinophil estrogen receptors in rats during the estrous cycle. *Histochemistry*, 74: 443-52, 1982.
- 12 - LEROY, F.; GALAND, P. & CHRÉTIEU, J. - The mitogenic action of ovarian hormones on the uterine and the vaginal epithelium during the oestrous cycle in the rat: a radioautographic study. *J Endocrinol*, 45: 441-7, 1969.
- 13 - NISHIZUKA, Y. & SAKAKURA, T. - Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science*, 166: 753-5, 1969.
- 14 - NISHIZUKA, Y. & SAKAKURA, T. - Ovarian dysgenesis induced by neonatal thymectomy in the mouse. *Endocrinology*, 89: 886-93, 1971a.
- 15 - NISHIZUKA, Y. & SAKAKURA, T. - Effect of combined removal of thymus and pituitary on post-natal ovarian follicular development in the mouse. *Endocrinology*, 89: 902-3, 1971b.
- 16 - PETRELLA, S. M. C. N. - Aspectos morfológicos do aparelho reprodutor e ultra-estrutura do estroma endometrial de ratas atímicas (rnu/rnu) e eutímicas (rnu/+) da linhagem Rowett, nas fases de proestro e metaestro do ciclo estral. (Tese - Mestrado - Escola Paulista de Medicina), São Paulo, 1992.
- 17 - RUITENBERG, E. J. & BERKVEN, J. M. - The morphology of the endocrine system in congenitally athymic (nude) mice. *J Pathol*, 121: 225-31, 1977.
- 18 - SHIRE, J. G. M. & PANTELOURIS, E. M. - Comparison of endocrine function in normal and genetically athymic mice. *Comp Biochem Physiol*, 47A: 93-100, 1974.
- 19 - VOS, J. G.; BERKVEN, J. M. & KUIJT, B. C. - The athymic nude rat. I. Morphology of lymphoid and endocrine organs. *Clin Immunol Immunopathol*, 15: 213-28, 1980a.
- 20 - VOS, J. G.; KREEFTENBERG, J. G.; KUIJT, B. C.; KRUIZINGA, W. & STEERENBERG, P. - The athymic nude rat. II. Immunological characteristics. *Clin Immunol Immunopathol*, 15: 229-37, 1980b.