

ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO TECIDUAL DO HORMÔNIO DHEA EM AMOSTRAS DE GLÂNDULAS ADRENAIS E SUA CORRELAÇÃO COM MOLÉCULAS ASSOCIADAS AO PROCESSO DE VASCULARIZAÇÃO

Monalisa Castilho Mendes
monalisacmendes@gmail.com
Bonald Cavalcante de Figueiredo
Cleber Machado-Souza

RESUMO:

Introdução: As glândulas adrenais secretam hormônios essenciais para o funcionamento do organismo humano, sendo estruturas consideradas vitais para a homeostase. Histologicamente são envoltas por uma cápsula membranosa e divididas em medula e córtex, sendo o último subdividido em três zonas. A zona glomerulosa secreta hormônios mineralocorticoides como o aldosterona, aumentando a reabsorção do sódio e excreção tanto de potássio como de íons de hidrogênio pelos rins. A zona fasciculada produz hormônios glicocorticoides como o cortisol em nível basal, podendo aumentar a produção em situações de estresse. E a zona reticular é responsável pela secreção de hormônios esteroides androgênicos precursores, como a dehidroepiandrosterona (DHEA), a dehidroepiandrosterona-sulfato (DHEAS) e em menor proporção a androstenediona. Pode-se dizer que o DHEA e o DHEAS definem as três fases do funcionamento do córtex adrenal. Da fase fetal até logo após o nascimento a glândula adrenal secreta grandes concentrações de DHEA e DHEAS que são essenciais para o desenvolvimento do feto. No período denominado de adrenarca (~7-8 anos de idade) esses níveis voltam a subir até o final da puberdade para o desenvolvimento das características sexuais e permanecem em nível elevado até a quinta/sexta década de vida. Após os sessenta anos os níveis de DHEA caem até cessarem a produção hormonal desta glândula, período chamado de adrenopausa. Os mecanismos da adrenopausa ainda não são completamente entendidos e esse processo pode ser bastante variável dos 40 até os 70 anos de idade. Esse declínio na concentração de hormônios com relação ao aumento da idade tem levado a possibilidade intrigante de que os níveis séricos de DHEA/DHEAS podem estar relacionados ao desenvolvimento de doenças associadas à idade, como por exemplo o câncer. O CD34 (*cluster of differentiation 34*) e o VEGF (*vascular endothelial growth factor*) são glicoproteínas que regulam os processos de vasculogênese e angiogênese. O CD34 está presente nas células hematopoiéticas progenitoras e em células endoteliais, por tanto, sugere-se que sua função esteja associada a regulação de processos que induzem a formação de vasos funcionando como fator de adesão celular. O VEGF é um mitogênico para as células endoteliais que estimula a proliferação e migração destas células regulando a permeabilidade vascular. E com base na constatação de que o tecido sofre mudanças histológicas significativas ao longo do tempo e que estas mudanças produzem modificações nas concentrações do DHEA, temos como hipótese a possibilidade de haver alguma relação envolvendo as mudanças de concentração desse hormônio com a idade do indivíduo. Ainda podemos levantar como hipótese que uma possível alteração da trama vascular da glândula adrenal possa estar correlacionada com a diminuição da secreção deste hormônio.

Objetivo: Investigar a expressão tecidual do DHEA e de moléculas associadas com a vascularização (CD34 e VEGF) na região do córtex adrenal, correlacionando possíveis alterações na trama vascular com a faixa etária. **Métodos:** Foram analisados 60 casos que apresentaram estado de conservação tecidual em blocos de parafina aceitáveis

onde as glândulas emblocadas foram submetidas a cortes de 4 micras de espessura, em micrótomo e os tecidos foram fixados em lâminas carregadas. Os anticorpos primários já utilizados foram: DHEA e CD34 e o VEGF ainda será processado. A técnica de imunoperoxidase foi utilizada para as reações de imunohistoquímica. As lâminas imunocoradas foram submetidas ao scanner de lâminas Axio Scan.Z1 (Zeiss®), em aumento de 40 vezes. O software Zen 3.0 blue edition ZEN Lite software for Windows (ZEISS®, Jena, Germany) foi utilizado para a geração de fotos a partir da imagem completa escaneada. Em cada amostra foram geradas 3 imagens panorâmicas e a partir de cada uma delas, foram geradas 10 fotos por camada, totalizando 30 fotos por imagem panorâmica. Realizou-se uma análise utilizando o programa de análise morfométrica Image Pro Plus® 4.5 (Media Cybernetics® - Rockville, Maryland, USA) para a expressão tecidual do DHEA. A morfometria é a medida da área positiva obtida pelo marcador. A área obtida foi dividida pela área total do campo observado (micrômetro quadrado - μm^2), gerando assim um percentual para cada imagem. Essa análise da porcentagem por campo de grande aumento, realizada em 16 campos, necessita de uma “máscara” para ser utilizada como padrão de comparação. Foi escolhida uma foto padrão para o anticorpo que contivesse níveis adequados de imunoexpressão tecidual. Foram contados dez campos/fotos com células positivas e negativas (controles) e após a contagem foi realizada a média de cada adrenal. **Resultados esperados:** Espera-se que o aumento progressivo da coloração usando anticorpo específico, anti-DHEA, aconteça entre a infância e adolescência e que a queda progressiva esperada em indivíduos de idade mais avançada possa revelar o processo degenerativo da camada reticular (adrenopausa). Espera-se ainda que a avaliação de variações de níveis dos marcadores endoteliais (CD34 e VEGF) auxilie na descrição do padrão vascular de cada faixa etária, permitindo a compreensão da trama e do processo de degeneração da camada reticular, pois acredita-se que as grandes mudanças na glândula adrenal, incluindo a adrenopausa, possam ocorrer ou por perda de função celular, com a parada da produção do hormônio ou pela diminuição da distribuição do hormônio, atribuída à trama vascular. Com isto, acredita-se que o estudo possa auxiliar no desenvolvimento de indicadores de diagnósticos e prognósticos futuros. **Conclusão:** projeto em andamento.

PALAVRAS-CHAVE: Glândula adrenal; DHEA; vascularização.

REFERÊNCIAS:

DULL, R. O.; YUAN, J.; CHANG, Y. S.; TARBELL, J.; JAIN, R. K.; MUNN, L. L.; Kinectis of placenta growth factor/vascular endothelial growth factor synergy in endothelial hydraulic conductivity and proliferation. **Microvascular Research**, New York, v. 61, n. 2, p. 203-210, 2001.

LOTFI, C. F. P.; KREMER, J. L.; PASSAIA, B. D. S.; CAVALCANTE, I. P. The human adrenal cortex: Growth control and disorders. **Clinics**, v. 73, n. suppl 1, p. 1–14, 2018.

MÜLLER, A. M.; HERMANN, M. I.; SKRZYNSKI, C.; et al. Expression of the endothelial markers PECAM-1, vWF, and CD34 in Vivo and in Vitro. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 72, n. 3, p. 221–229, 2002.