

## A EXPERIÊNCIA REPRODUTIVA EM FÊMEAS: COMPORTAMENTO MATERNAL, ATIVIDADE MOTORA, MEMÓRIA E APRENDIZAGEM

Rosana B. SANTANA<sup>3</sup>, Juliana SCHEFFAUER<sup>3</sup>, Aline SPADA<sup>3</sup>, Layla K. PEDRONI<sup>3</sup>,  
Danielli C. dos SANTOS<sup>3</sup>, Michelle A. de BARROS<sup>3</sup>, Fernando BONJORNO<sup>3</sup>,  
Erica E. T. S. HUCKE<sup>2</sup>, Luciano F. FELICIO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Prof. Titular do Departamento de Patologia da FMVZ-USP

<sup>2</sup> Prof. da disciplina de Fisiologia Animal e Farmacologia da Faculdade de Medicina Veterinária  
"Octávio Bastos"

<sup>3</sup> Estudante do 2º ano da Faculdade de Medicina Veterinária "Octávio Bastos"

**RESUMO:** A Experiência Reprodutiva (ER) em fêmeas, i.e., gestação, parto e lactação, influenciam várias funções endócrinas, neuroquímicas e comportamentais. Assim, a redução dos níveis circulantes de prolactina levaram a descoberta de alterações nos sistemas dopaminérgicos e serotoninérgicos centrais. Modificações estas que resultam, por exemplo, no aumento da estereotipia induzida por um agonista dopaminérgico, redução da sensibilidade a antagonistas dopaminérgicos, redução na atividade motora do animal e respostas neuroquímicas centrais. O comportamento maternal e a aquisição de memória de referência e operacional também podem ser modificados em função da ER. Assim, o objetivo do presente estudo é estudar as influências da ER em ratas.

**PALAVRAS-CHAVE:** comportamento maternal, estereotipia, labirinto em cruz ellevado, labirinto aquático, dopamina, serotonina.

**ABSTRACT:** Reproductive Experience (RE) in females, i.e., pregnancy, delivery and lactation, is a driving force for endocrine, neurochemical and behavioral modifications. Thus, the finding of reduced circulating levels of prolactin resulted in alterations in brain dopaminergic and serotonergic systems. For instance, stereotypy by a dopamine receptor agonit is increased, sensitivity to dopaminergic antagonists is decreased, motor function is decreased and central neurochemical alterations are also observed. Maternal behavior and aquisition of reference memory and operant memory is different as a function of RE. The objective of the present study is to investigate influences of RE in female rats.

**KEYWORDS:** maternal behavior, stereotypy, plus-maze, water-maze, dopamine, serotonin

### INTRODUÇÃO

A Experiência Reprodutiva (ER) pode ser definida o conjunto de gestação, parto

e lactação pelos quais a fêmea pode passar durante a vida. Tem-se demonstrado que a ER pode influenciar funções

endócrinas, neuroquímicas e comportamentais. Uma menor sensibilidade de ratas multíparas à regulação opióide do comportamento maternal é observada após uma ER (KINSLEY e BRIDGES, 1988; MANN et al., 1989; MANN e BRIDGES, 1992). Em mulheres não grávidas, resulta na redução nos níveis circulantes de PRL (MUSEY et al., 1987a; MUSEY et al., 1987b) e em ratas também (KINSLEY e BRIDGES, 1988; MANN et al., 1989; MANN e BRIDGES, 1992), efeito este que dura possivelmente para o resto de suas vidas. Durante a prenhez, os picos diurno e noturno de PRL em fêmeas multigrávidas não são tão intensos quanto aqueles de primigrávidas (BRIDGES et al., 1993). A ER induz a um aumento dos níveis de DA hipotalâmica e estriatal durante o início da prenhez em ratas mais intenso em primigrávidas do que em multigrávidas (FELICIO et al., 1996). Já durante a lactação, a sucção exercida pelos filhotes, leva a picos de PRL circulante mais evidentes em ratas primíparas do que em multíparas (MANN e BRIDGES, 1992). Níveis circulantes basais de PRL tem uma consequência epidemiológica que é a menor incidência de câncer mamário em mulheres (MUSEY et al., 1987a; MUSEY et al., 1987b) e em roedores (SINHA et al., 1988).

A ER também determina alterações nas repostas à ação de drogas como a redução à sensibilidade de mulheres não lactantes à ação de antagonistas dopaminérgicos, como a metoclopramida e o haloperidol diminuindo os níveis circulantes de PRL (DE LOS MONTE-ROS, 1991; PARRA et al., 1997; BRIDGES et al., 1997;), assim como seu efeito sobre a neurotransmissão dopaminérgica é menos intenso (HUCKE et al., 1998).

Além disso, alterações comportamentais podem ser observadas. Assim, a esterotipia induzida por apomorfina parece estar aumentada em fêmeas experientes comparadas às virgens (HUCKE et al., 2000, BRIDGES et al., 2000). Modificações na atividade geral em campo aberto e sobre as respostas comportamentais induzidas pelo uso prolongado de anfetamina também foram modificadas pela ER (HUCKE et al., 2000).

A ER prolonga a ciclicidade das fêmeas, aumenta a magnitude da resposta de LH em fêmeas lactantes à pequenas doses de antagonista opioidérgico (BRIDGES et al., 1998). Este fato somado a influência da ER devem ser fatores determinantes duração da fertilidade em fêmeas (BRIDGES et al., 1998; SAAL et al., 1994). A ER tem, portanto, grande importância como causador de modificação funcional no SNC, traduzidas em mudanças comportamentais e sobre a fertilidade de relevância na esfera reprodutiva e para a sobrevivência das espécies. Além disso, há também consequências epidemio-lógicas e de sistemas de neurotransmissão relacionados a vários tipos de distúrbios psicológicos e psiquiátricos, portanto relacionadas a saúde da mulher e das fêmeas de modo geral. O objetivo do presente estudo é estudar os efeitos da ER em fêmeas.

#### MATERIAL E MÉTODOS

São utilizadas ratas Wistar alojadas em biotério de temperatura controlada (20 a 23°C), com ciclos de luz de 12 h de claro e escuro, com luz ligada às 6:00 h. Água e comida fornecidas *ad libitum*. As ratas nulíparas e primíparas da mesma idade foram obtidas a partir de um grupo inicial que, ao ser dividido, formou um grupo de

nulíparas, que fica aguardando, enquanto que o outro grupo (primíparas) é acasalado ( $90 \pm 10$  dias de idade), passando pelos períodos de gestação (21 dias) e lactação (21 dias). Após o desmame do grupo de fêmeas primíparas, ambos os grupos passam um período de descanso e testadas conforme o delineamento experimental.

O objetivo do **primeiro experimento** esta sendo estudar o efeito da administração de um antagonista de receptores de dopamina durante a gestação sobre o comportamento maternal. A supersensibilidade dopaminérgica será induzida através de um tratamento diário com 0,5 mg/kg de haloperidol em 3 diferentes fases da gestação, quais sejam, no terço inicial, no terço médio e no terço final de fêmeas na primeira ou na segunda gestação. Logo após o nascimento, as ninhadas serão padronizadas e trocadas ("cross fostering"). O comportamento maternal será quantificado aos 3, 5, 10 e 18 dias após o parto. Serão medidos os parâmetros de recuperação dos filhotes, posicionamento sobre o filhote e comportamento maternal total (Bridges, 1978; Kinsley e Bridges, 1988; Mann et al., 1989; Mann e Bridges, 1992). Serão comparadas fêmeas primíparas e múltíparas.

No **segundo experimento**, estudaremos os diferentes períodos que compõe a ER, com o objetivo de quantificar a possível contribuição de cada um deles sobre as modificações dos sistemas dopaminérgicos centrais. Assim, testaremos fêmeas que tiveram apenas a gestação, outras que tiveram gestação e parto, e o grupo controle que passou pela ER completa. A estereotipia induzida por apomorfina (0,6 mg/kg) será quantificada nos 3 diferentes grupos de fêmeas. O grupo só gestação será obtido através da realização de

cesarianas no terço final da gestação, ao redor do 18º dia. No outro grupo, os filhotes serão retirados logo após o parto, sem que haja o período de lactação. No último grupo, as fêmeas passaram pelos períodos de gestação, parto e lactação com o desmame aos 21 dias pós-parto. A estereotipia induzida por apomorfina será realizada no 22º, 32º. e 42º. dia após o nascimento dos filhotes ou a realização da cesariana. A quantificação do comportamento estereotipado induzido por apomorfina será realizada através de observação direta dos animais em gaiolas individuais, entre 14:00 e 17:00 h. Para tanto, serão realizadas observações diretas dos animais em gaiolas individuais a cada 10 min (por 10s) por um período de 90 min, atribuindo-se escores de comportamento de 0 a 7 a cada animal (Troncone et al., 1988).

No **terceiro experimento**, estudaremos o efeito da administração de uma dose pré-sináptica de apomorfina, com o objetivo de observar em fêmeas primíparas e múltíparas possíveis modificações dos sistemas dopaminérgicos a este nível em função da ER. Outros autores já determinaram que pequenas doses de apomorfina (0.1 e 0.25 mg/kg) são capazes de modificar o comportamento maternal. Serão testadas ratas da mesma idade sendo obtidas após uma ou duas gestações seguida de lactações com desmame aos 21 dias mais um período de descanso de 15 dias. O comportamento maternal será quantificado segundo Bridges, 1978; Kinsley e Bridges, 1988; Mann et al., 1989; Mann e Bridges, 1992.

No **quarto experimento**, determinaremos as possíveis modificações no sistema serotoninérgico de ratas nulíparas e primíparas. Para tanto, as fêmeas serão

testadas no labirinto em cruz elevado, o qual pode ser relacionado com ansiedade e, portanto com o sistema serotoninérgico. As ratas serão observadas após uma injeção de salina ou benzodiazepínico 10 minutos antes. Cada animal é colocado no centro do labirinto e observado durante 10 minutos, quantificando-se o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e nos braços fechados.

No **quinto experimento**, ratas primíparas e múltiparas da mesma idade serão testadas durante a gestação e durante a lactação no labirinto aquático de Morris com o objetivo de avaliar a aquisição de memória de referência e de memória operacional. Outros autores já demonstraram que durante a lactação há um melhor desempenho dos animais no labirinto radial, indicando possível aumento da capacidade de aprender e memorizar tarefas em fêmeas múltiparas (Kinsley et al. 1999). Aparentemente, qualquer modificação nestes parâmetros durante a lactação parece não se manter após o desmame, pois fêmeas primíparas em relação às nulíparas testadas no labirinto aquático de Morris, parecem aprender e memorizar da mesma forma, porém com uma estratégia comportamental diferente, observada por uma modificação no tipo de trajeto e na velocidade média dentro do labirinto aquático (Hucke et al., 2001; dados não publicados). O comportamento no labirinto aquático será quantificado através dos parâmetros de latência para encontrar a plataforma, velocidade média, distância percorrida, tempo no quadrante da plataforma, tempo no contador da plataforma e ângulo inicial. A aquisição da memória de referência será realizada durante aproximadamente 18 dias, 4 tentativas por animal por dia com

um intervalo de 10 min entre elas com a plataforma sempre no mesmo lugar. Logo depois, inicia-se a fase de memória operacional, onde a plataforma muda de local a cada dia.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRIDGES, R.S. Retention of rapid onset of maternal behavior during pregnancy in primiparous rats. **Behav. Biol.**, 24(1): 113-117, 1978.
- BRIDGES, R.S.; FELICIO, L.F.; PELLERIN, L.J.; STUER, A.M.; MANN, P.E. Prior parity reduces post-coital diurnal and nocturnal prolactin surges in rats. **Life Sci.**, 53: 439-445, 1993.
- BRIDGES, R.S.; HENRIQUEZ, B.M.; STURGIS, J.D.; MANN, P.E. Reproductive experience reduces haloperidol-induced prolactin secretion in female rats. **Neuroendocrinology**, 118: 1-6, 1997.
- DE LOS MONTEROS, A.E. Differential PRL response to oral metoclopramide in nulliparous versus multiparous women throughout the menstrual cycle. **Fertil. Steril.**, 55: 885-889, 1991.
- FELICIO, L.F.; FLORIO, J.C.; SIDER, L.H.; CRUZ-CASALLAS, P.E.; BRIDGES, R.S. Reproductive experience increases striatal and hypothalamic dopamine levels in pregnant rats. **Brain Res. Bull.**, 40 (4): 253-256, 1996.
- HUCKE, E.E.T.S.; CRUZ-CASALLAS, P.E.; FLORIO, J.C.; FELICIO, L.F. Reproductive experience reduces striatal dopaminergic responses in freely moving female rats. **Neuroreport**, 9: 3589-3593, 1998.

- KINSLEY, C.H.; BRIDGES, R.S. Parity-associated reduction in behavioral sensitivity to opiates. **Biol. Reprod.**, 39: 270-278, 1988.
- MANN, P.E.; BRIDGES, R.S. Neural and endocrine sensitivities to opioids decline as a function of multiparity in the rat. **Brain Res.**, 580: 241-248, 1992.
- MANN, P.E.; KINSLEY, C.H.; RONSHEIM, P.M.; BRIDGES, R.S. Long-term effects of parity on opioid behavioral and endocrine responses. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 34: 83-88, 1989.
- MUSEY, V.C.; COLLINS, D.C.; BROGAN, D.R.; SANTOS, V.R.; MUSEY, P.I., MARTINO-SALTZMAN, D.; PREEDY, J.R.K. Long term effects of the first pregnancy on the hormonal environment: estrogens and androgens. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, 64: 111-118, 1987a.
- MUSEY, V.C., COLLINS, D.C.; MUSEY, P.I.; MARTINO-SALTZMAN, D.; PREEDY, J.R.K. Long-term effect of a first pregnancy on the secretion of prolactin. **N. Engl. J. Med.**, 316: 229-234, 1987b.
- PARRA, A.; BARRÓN, J.; SINIBALDI, J.; CORIA, I.; DE LOS MONTEROS, A.E. Differences in the metoclopramide-induced prolactin release related to age at first full-term pregnancy or nulliparity. **Human Reprod.**, 12(2): 214-219, 1997.
- SAAL, F.S.; FINCH, C.E.; NELSON, J.F. Natural History and Mechanisms of Reproductive Aging in Humans, Laboratory Rodents, and other Selected Vertebrates. **In: The Physiology of Reproduction**, Second Edition, Knobil, E. e Neill, J.D. (eds.), Raven Press, 61: 1213-1314, 1994.
- SINHA, D.K.; PAZIK, J.E.; DAO, T.L. Prevention of mammary carcinogenesis in rats by pregnancy: effect of full-term and interrupted pregnancy. **Br. J. Cancer**, 57: 390-394, 1988.
- TRONCONE, L.R.P.; FERREIRA, T.M.S.; BRAZ, S.; SILVEIRA-FILHO, N.G.; TUFIK, S. Reversal of increase in apomorphine-induced stereotypy and aggression in REM sleep deprived rats by dopamine agonists pretreatment. **Psychopharmacol.** 94: 79-83, 1988.