

EFEITO DO ESTRESSE SOBRE A SECREÇÃO DE PROLACTINA EM  
RATAS NULÍPARAS E PRIMÍPARAS NO ESTRO<sup>1</sup>CAMILA ZEFERINO CARLOS<sup>2</sup>, ERICA ZIMBERKNOPF<sup>3</sup>

1 Projeto de Pesquisa –Bolsa de Iniciação Científica FAPESP

2 Graduanda em Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (UNIFEOB).

3 Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octavio Bastos (UNIFEOB).

**RESUMO:** A experiência reprodutiva (conjunto de gestação, parto e lactação), está associada a alterações na secreção de hormônios, reduzindo hormônios como os esteroides e a prolactina. A prolactina possui importante papel no processo reprodutivo, principalmente na lactação, controlando a produção e a composição do leite. Este hormônio responde aos estímulos estressores, sendo sua resposta dependente das concentrações sanguíneas de prolactina antes do estresse. O objetivo deste estudo é avaliar a influência do estresse na secreção de prolactina em ratas nulíparas e primíparas durante o estro, dando continuidade a nossos estudos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Experiência Reprodutiva, Estresse, Comportamento, Ansiedade, Prolactina.

**INTRODUÇÃO**

O estresse foi descrito como uma tentativa de adaptação de um sistema biológico, sendo definido como uma “resposta não específica do organismo a qualquer demanda” (SELYE, 1973). Durante o estresse, são desencadeadas alterações hormonais, sendo caracterizadas pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise–adrenal (HHA), levando a um aumento dos níveis plasmáticos das catecolaminas (NATELSON et al., 1988; KOOB, 1999 apud BIANCHI et al., 2001). Ao mesmo tempo, a ativação do eixo HHA resulta em aumento dos níveis plasmáticos de corticotrofina (ACTH) e cortisol, no homem e de corticosterona, em ratos (McEWEN, 2000 apud BIANCHI et al., 2001). Podem ocorrer variações na intensidade da resposta estressora, devido à qualidade e intensidade do agente estressor, sexo e fase do ciclo reprodutivo (BIANCHI et al., 2001). Recentemente, também foi revelado que a experiência reprodutiva em fêmeas pode modificar sua sensibilidade ao estresse (ALVISI et al., 2010).

A adenohipófise produz diversos hormônios, entre eles a prolactina, que desempenha importante função na manutenção da lactação, regulando a produção e a composição do leite (CUNNINGHAM, 1999). Já se sabe que a secreção de prolactina é controlada predominantemente pela dopamina (sistema dopaminérgico), que inibe sua secreção pelas células lactróficas da adenohipófise (BEN-JONATHAN,1996). A dopamina por sua vez pode sofrer a influência de glicocorticóides que modulam sua ação (HORVÁTH et al., 2001). Estudos demonstram que o estresse pode aumentar os níveis de prolactina plasmáticos em humanos e animais, incluindo os ratos (NOEL et al., 1972; REIS et al. 1988 apud LURAS et al., 2009).

Pesquisas mostram que as alterações da concentração de prolactina circulante em fêmeas com experiência reprodutiva (primíparas) são menores (MUSEY et al., 1987), além de apresentarem uma resposta neuroendócrina de secreção de prolactina com menor intensidade quando comparadas as nulíparas (BRIDGES et al., 1993). A resposta da prolactina perante o estresse depende da concentração plasmática dessa durante o pré-estresse. Assim, quando as concentrações de prolactina plasmática pré-estresse estiverem baixas, no pós-estresse essas tendem a se elevar (DAVE et al.,2000). No entanto, se as concentrações de prolactina estiverem altas no pré-estresse, ocorre uma diminuição em sua concentração no pós-estresse (POLETINI, 1998 apud DONADIO et al., 2005). Ainda mais, a secreção de prolactina pode variar de acordo com o ciclo estral (SMITH, et al., 1975). Considerando, então, que a experiência reprodutiva pode modificar a secreção de prolactina em resposta ao estresse agudo por contenção como demonstrado em nossos estudos anteriores (BOCHINI, 2004; ALVISI et al., 2010), o presente projeto pretende dar continuidade a esses estudos, de forma a avaliar a influência do ciclo estral

sobre a secreção de prolactina induzida pelo estresse, em função da experiência reprodutiva, uma vez que essa hipótese foi testada apenas no proestro até o presente momento.

## **MATERIAIS E METODOS**

Serão utilizadas ratas da linhagem Wistar obtidas no biotério do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEQB. Tais animais serão alojados em biotério de temperatura controlada (20 a 23°C) e ciclos de luz de 12 horas de claro/escuro com água e comida ad libitum. Serão utilizadas ratas nulíparas e primíparas da mesma idade, obtidas a partir de um grupo inicial de animais, onde essas fêmeas serão submetidas a dois tipos de estresse. O primeiro tipo de estresse será realizado por meio de uma injeção subcutânea de formalina diluída a 4% (0,2 ml formalina 4%/100 g peso, s.c.). No segundo tipo de estresse, o animal será contido colocando-o dentro de um tubo de PVC de 6,5 cm de diâmetro e 13 cm de comprimento de maneira que o animal fique imóvel, sendo suas extremidades fechadas e com orifícios para permitir a respiração dos animais. Amostras de sangue serão colhidas durante o período de 1 hora após o início da sessão de estresse. Todos os procedimentos experimentais observaram as normas relativas ao uso de animais de experimentação da Comissão de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária da UNIFEQB.

Para coleta de sangue os animais passaram por uma cirurgia de canulação, sendo sedados com uma associação anestésica de xilazina (5 mg/ml) e quetamina (25mg/ml). Logo após a cirurgia, os animais serão mantidos em gaiolas individuais durante 4 dias. No quinto dia, os animais serão submetidos ao procedimento experimental de acordo com o descrito a seguir. O sangue da jugular será colhido após a cirurgia de canulação, sendo centrifugado (CIENTEC CT- 5000R) sob refrigeração (3 a 4°C, 914 a 1112 g/min) para obtenção do soro, que será armazenado em tubos eppendorf a -20°C, até as dosagens hormonais. A dosagem de prolactina será realizada por Radioensaio fornecido pelo National Institute of Arthritis, Diabets and Digestive Diseases & Kidney (NIADDK) através da National Pituitary Agency (Baltimore, Maryland, USA).

## **DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

### **Experimento 1: Influência da Experiência Reprodutiva Sobre a Secreção de Prolactina Induzida Pela Injeção Aguda de Formalina no Estro**

Após a obtenção de fêmeas nulíparas (n= 10) e primíparas (n= 10), estes 2 grupos experimentais serão submetidos à cirurgia para implantação das cânulas jugulares como descrito anteriormente. Após um período de recuperação pós-cirúrgica de 2 dias será realizado o acompanhamento do ciclo estral diariamente até que seja observado a fase do estro. Nesse dia, serão colhidas amostras de sangue (400 µl) 10 min antes da aplicação do estresse e aos 1, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 min após a injeção única de solução de formalina (0,2 ml formalina 4%/100 g peso, s.c.) entre 10:00 e 12:00 h da manhã (Figura 1). As amostras assim colhidas serão centrifugadas e congeladas para posterior quantificação da prolactina sérica.

### **Experimento 2: Influência da experiência reprodutiva sobre a secreção de prolactina durante a aplicação do estresse por contenção no estro**

Após o período de recuperação pós-cirúrgico (2 dias), as fêmeas nulíparas (n= 10) e primíparas (n= 10), serão submetidas ao estresse por contenção durante 1 hora, entre 10:00 e 12:00 h da manhã, após a avaliação da fase do ciclo estral, como descrito anteriormente. No dia do estro serão colhidas 8 amostras de sangue da jugular (400 µl) como descrito no experimento 1 (Figura 1). Será colhida também uma amostra basal 10 min antes do início da aplicação do estresse. As amostras também serão centrifugadas e congeladas para posterior quantificação da prolactina sérica.

## **Análise estatística**

As médias da concentração sérica de prolactina das amostras seriadas dos grupos de nulíparas e primíparas, obtidas nos experimentos 1 e 2 serão comparados utilizando-se uma ANOVA de

Medidas Repetidas (SAS Statistical Analysis System) para observar-se possíveis modificações da resposta da prolactina induzida pelo estresse em função da experiência reprodutiva.

## REFERÊNCIAS

- ALVISI, R.D.; HUCKE, E.E.T.S.; FELÍCIO, L.F.; ANSELMO-FRANCI, J.A. Efeito do Estresse Agudo e Prolongado Sobre a Secreção de Prolactina em Ratas Nulíparas e Primíparas. **Semana Científica Benjamin Eurico Malucelli. Anais**. v.4, p.77-78, 2010.
- BEN-JONATHAN, N. Editorial: dopamine and prolactin – an imperfect duo in circadian rhythmicity. *Endocrinology*, n. 137, p. 3619-3620, 1996.
- BERNIK, M.A. **Benzodiazepínicos: Quatro Décadas de Experiência**. 1 edição. Edusp.1999, p.12.
- BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P.; MARCONDES, F. K. Relação entre nível de estresse e supersensibilidade à norepinefrina em ratas no proestro. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.37, n.3, p.391-398, 2001.
- glicocorticóides
- BOCHINI, J. C.; Efeito da adrenalectomia sobre a secreção de prolactina em ratas nulíparas e primíparas. **Monografia de Conclusão de Curso**. Laboratório de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina Veterinária, UNIFEOB, SP. **Fapesp Proc.** 03/01887-7, 2004.
- 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 Science**, n. 53, p. 439-445, 1993.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2 ed.Rio de Janeiro: Guanabara, 1999.
- DAVE, J.R.; ANDERSON, S.M.; SAVIOLASKIS, G.A.; MOUGEY, E.H.; BAUMAN, R.A.; KANT, G.J. Chronic Sustained Stress Increases Levels of Anterior Pituitary Prolactin mRNA. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior** 67:423-431, 2000.
- DONADIO, M.V.F.; SANVITTO, G.L.; LUCION, A.B. Efeito do Estresse Agudo e a Participação do Sistema Angiotensinogenio Sobre a Função Reprodutivas em Ratas: Comportamento Sexual, Ovulação e Lactação. **Dissertação**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.
- HORVÁTH, K. M.; BÁNKY, Z.; TÓTH, B. T.; HALÁSZ, B.; NAGY, G. M. Effect of adrenalectomy and dexamethasone treatment on prolactin secretion of lactating rats. **Brain Research Bulletin**, v.56, n. 6, p. 589-592, 2001.
- LURAS, A.; RIBEIRO, R.; MELO, L.C.M. Sistema Inibidor da NO Sintetase Sobre a Liberação de Prolactina Induzida por Estresse de Contenção em Ratos. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas Agrárias e da Saúde**. v.13,n.1,,p.29-37,2009.
- 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. **New England Journal of Medicine**, v. 316, p. 229-234, 1987b.
- 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. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 64, p. 111-118, 1987.
- SELYE, H. The evolution of the stress concept. **American Scientist**, v. 61, p. 692-699, 1973.
- SMITH, M. S.; FREEMAN, M. E.; NEILL, J. D. The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. **Endocrinology**. v. 96, n. 1, p. 219-226, jan. 1975.