

Scientific Electronic Archives

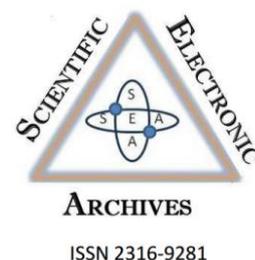
Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 10 (2)

April 2017

Article link

<http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=417&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Efeito do estresse sobre a secreção de prolactina em ratas nulíparas e primíparas

Effect of stress on prolactin release in nulliparous and primiparous rats

R. D. Alvisi¹, R. C. A. Berber², J. L. Dullius², E. E. T. S. Hucke¹

¹ Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (Unifeob)¹

² Universidade Federal de Mato Grosso - Campus Sinop

Author for correspondence: erica.hucke@ivptec.com

Resumo: A experiência reprodutiva modifica a concentração sérica de prolactina. Também se conhece a capacidade do estresse em modular a liberação deste neurohormônio. Juntos, esses fatores são sugestivos de uma possível interação entre os mesmos. O objetivo do presente estudo foi analisar a influência do estresse agudo e prolongado sobre a secreção de prolactina em ratas nulíparas e primíparas. Ratas Wistar foram divididas em grupos de nulíparas (n = 12) e primíparas (n = 12), as quais foram submetidas ao estresse agudo induzido pela formalina (4%) via subcutânea ou ao estresse prolongado por contenção em um tubo de PVC, por uma hora durante a manhã do proestro. Amostras de sangue foram obtidas em 2, 5, 10, 15, 30 e 60 min após o início de ambos os tipos de estresse. Os níveis séricos de prolactina foram mensurados por radioimunoensaio. Os resultados mostraram um aumento na liberação de prolactina aos 10 e 15 minutos em primíparas comparadas às nulíparas durante o início da sessão de estresse por contenção (ANOVA de Medidas Repetidas, $F_{5,15} = 9,65$, $p < 0,001$). Não houve diferença na secreção de prolactina nos grupos que foram submetidos a injeção de formalina. Podemos sugerir que a resposta ao estresse agudo em relação a secreção de prolactina pode ser alterada pela experiência reprodutiva. Mais estudos serão necessários para elucidar se os hormônios gonadais poderiam modular esta resposta assim como de outros fatores.

Palavras-chave: Estresse, Prolactina, Primíparas e Nulíparas.

Abstract: Reproductive experience modifies seric concentration of prolactin. In addition, stress is known to modulate this neurohormone release. Taken together, these facts are suggestive of a possible interaction between them. The objective of the present study was to analyze the influence of acute and prolonged stress on prolactin secretion in nulliparous and experienced rats. Wistar nulliparous (n= 12) and primiparous (n= 12) female rats were submitted to a chronic jugular vein catheterization surgery. Both groups were submitted to acute stress induced by formalin (4%) subcutaneous injection or restrained stress in a PVC tube. One hour stress sessions were performed during proestrous morning. Blood samples were obtained in 2, 5, 10, 15, 30 and 60 minutes after acute or during restrained stress. Seric prolactin concentration was measured by radioimmunoassay. The results showed an increased prolactin release at 10 and 15 minutes in primiparous compared to nulliparous during restrained stress (Repeated Measures ANOVA, $F_{5,15} = 9,65$; $p < 0,001$). No differences between groups were observed in prolactin release after formalin injection. In conclusion, we can suggest that prolactin secretory stress response can be modulated by reproductive experience although further studies are necessary to elucidate gonadal hormones modulation as well as other factors.

Keywords: Stress, Prolactin, Primiparous and Nulliparous.

Introdução

Já é bem conhecido que o estresse é um importante agente causador de modificações adaptativas no sistema nervoso central, assim como se observa sua relação com hormônios

glicocorticóides e as catecolaminas, relacionadas ao estresse prolongado e agudo, respectivamente.

Neste sentido, a presença de glicocorticóides circulantes modula a secreção de prolactina pela adenohipófise, possivelmente de maneira inibitória (DAVE et al., 2000). A modulação

dos glicocorticóides sobre a secreção de prolactina não parece depender da neurotransmissão dopaminérgica (HOVÁRTH et al., 2001), pois se encontram receptores para glicocorticóides nos lactotrofos adenohipofisários (BÁNKY et al., 1994).

Embora a exata contribuição dos glicocorticóides adrenais sobre a secreção de prolactina ainda não seja bem compreendida, o fato é que estes são necessários para a resposta adeno-hipofisária adequada.

A adrenalina é o hormônio envolvido na adaptação ao estresse agudo, sendo liberada pela adrenal em momentos desconfortáveis para o animal.

Sua liberação implica no aumento da frequência dos batimentos cardíacos (taquicardia) e aumento do volume de sangue por batimento cardíaco, eleva o nível de glicose no sangue (hiperglicemia), minimiza o fluxo sanguíneo nos vasos e no sistema gastrointestinal, enquanto que maximiza o mesmo para os músculos voluntários dos membros e estimula o metabolismo de lipídeos contidos nas células adiposas. Da mesma forma, o estresse atua sobre o sistema nervoso central (SNC), elevando a liberação do hormônio adrenocorticotrópico ou corticotropina (ACTH) que estimula o córtex adrenal a secretar glicocorticóides em resposta a vários tipos de agentes estressores (RANDALL et al., 1997). Vários hormônios têm atividade glicocorticoide, incluindo cortisol e corticosterona, sendo que a liberação de glicocorticóides atua retrogradamente numa alça de retroalimentação negativa sobre os neurônios secretores do hormônio liberador de corticotropina (CRH) do hipotálamo e as células secretoras de ACTH da adenohipófise (RANDALL et al., 1997). Já se sabe que a secreção deste glicocorticoide em consequência ao estresse prolongado interfere no aumento da produção de prolactina no rato, em outras espécies (NEILL et al., 1970; GALA e HAISENLEDER et al., 1986) e no homem (NOEL et al., 1972).

A prolactina, por sua vez, é um hormônio polipeptídico, produzido pelas células lactotróficas na adenohipófise, responsável pelo desenvolvimento das glândulas mamárias e pela secreção do leite, sendo produzida em maior quantidade na gestação e no pós-parto (CUNNINGHAM et al., 2004; GUYTON et al., 1992; HAFEZ et al., 1988). Além disso, a prolactina desempenha outros papéis importantes como, por exemplo, estimula e participa da manutenção do cuidado materno (BRIDGES et al., 1993; BRIDGES et al., 1985), assim como atua sobre o comportamento sexual (CRUZ-CASALLAS et al., 1999; BANCROFT, 2005). O controle da secreção de prolactina é determinado pela liberação de dopamina que é secretada pelos neurônios que se projetam do núcleo arqueado para a eminência média no hipotálamo, formando o trato

dopaminérgico túbero-infundibular (BEN-JONATHAN, 1996; BEN-JONATHAN et al., 1979). A atividade rítmica semi-circadiana dos neurônios dopaminérgicos do sistema túbero-infundibular determina os picos diurno e noturno de secreção de prolactina (TIMMERMAN et al., 1995).

Além disso, diversas aminas biológicas, assim como neuropeptídeos centrais, são capazes de modular a secreção de prolactina pelos lactotrofos (SILVA e CASTRO et al., 2005). Sendo assim, a secreção de noradrenalina central provoca a inibição da secreção deste hormônio, enquanto que a adrenalina tem efeito oposto (SILVA e CASTRO et al., 2005). Esta atuação depende de receptores adrenérgicos $\alpha 1$ e $\beta 2$, respectivamente (SILVA e CASTRO, 2005). Recentemente, tem sido ainda descrito o Peptídeo Liberador de Prolactina (PRLrp) (FUJIWARA et al., 2003; SPUCH et al., 2007).

Finalmente, já é conhecido o fato que após uma experiência reprodutiva os níveis circulantes basais de prolactina diminuem como é descrito na mulher por MUSEY et al., (1987 a,b) e em ratas por KINSLEY e BRIDGES et al., (1988), MANN et al., (1992) e BRIDGES et al., (1993). A experiência reprodutiva consiste nos períodos de gestação, parto e lactação, sendo que em uma fêmea experiente ou primípara ocorrem picos de prolactina diurnos e noturnos menos intensos (BRIDGES et al., 1993; LEITE et al., 2007), além de apresentarem outras modificações nas respostas neuroquímicas (HUCKE et al., 1998, SIDER et al., 2003) e comportamentais (HUCKE et al., 2001).

Assim, resultados obtidos em nosso laboratório mostraram que em ratas primíparas adrenalectomizadas em relação às nulíparas, a modulação da secreção da prolactina exercida pelos glicocorticóides adrenais sugere um efeito modulatório em função da experiência reprodutiva.

Desta forma, estes experimentos indicaram que as fêmeas primíparas seriam menos sensíveis em relação às nulíparas aos níveis circulantes de glicocorticóides no que diz respeito ao controle sobre a secreção de prolactina. Nesse caso, esse fato poderia ser sugestivo de uma menor sensibilidade ao estresse (BOCHINI et al., 2004).

Assim, observamos anteriormente que embora não se revele a influência do estresse agudo e prolongado sobre a secreção de prolactina em ratas nulíparas e primíparas (LEITE et al., 2007), já foi sugerido que fêmeas experientes são menos suscetíveis ao estresse (BYRNES e BRIDGES et al., 2006). No entanto, pelo menos há relação à resposta aguda de secreção de prolactina frente a uma situação de estresse agudo, a mesma poderia ter ocorrido num período inferior a uma hora, não tendo sido possível detectar possíveis variações naquele estudo anterior (LEITE, 2007).

Este fato sugere, portanto, que são necessários mais estudos relacionados à modulação da secreção de prolactina pelos glicocorticóides em função da experiência reprodutiva particularmente em relação ao estresse agudo, uma vez que tais secreções poderiam ter ocorrido logo após o início da sessão de estresse. Para tanto, o presente estudo avaliou a secreção de prolactina durante a primeira hora de indução de estresse agudo e prolongado em ratas.

Métodos

Foram utilizadas ratas da linhagem Wistar obtidas no biotério do Curso de Medicina Veterinária da Unifeob. Tais animais foram alojados em biotério de temperatura controlada (20 a 23°C) por meio de aparelhos de ar condicionado, com ciclos de luz de 12 horas de claro/escuro, com luz ligada às 6:00 h. Água e comida *ad libitum*.

No experimento foram utilizadas ratas nulíparas e primíparas da mesma idade, obtidas a partir de um grupo inicial de animais, que foi dividido em dois, sendo um deles acasalado, passando por uma experiência reprodutiva (gestação, parto, lactação e desmame) e finalmente um período de descanso de 15 dias antes do início do procedimento experimental. O outro grupo (nulíparas) permaneceu aguardando todo este período de preparação das primíparas.

Todos os procedimentos experimentais observaram as normas relativas ao uso de animais de experimentação da Comissão de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária da UNifeob.

As fêmeas nulíparas e primíparas foram submetidas a dois tipos de estresse de acordo com o delineamento experimental.

O primeiro tipo de estresse foi realizado por meio de uma injeção de formalina diluída a 4% (0,2 ml formalina 4%/100 g peso, s.c.). A injeção de formalina causa a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) (TAYLOR et al., 1998 apud MERA et al., 2006; PALKOVITS et al., 1999), desta forma dois mecanismos fisiológicas podem ser esperados: primeiramente ocorre uma sinalização humoral promovida pela inflamação local, com a presença de citocinas, que ativam o eixo HHA; em segundo lugar, a estimulação nociceptiva pode ativar neurônios ascendentes que geram dor e também ativam o eixo HHA (MERA et al., 2006).

O segundo tipo de estresse consistia na contenção do animal (imobilização) (KLENEROVA et al., 2001), colocando-o dentro de um tubo de PVC de 6,0 cm de diâmetro e 22,0 cm de comprimento de maneira que ficasse imóvel, sendo suas extremidades fechadas e com orifícios para permitir a respiração do mesmo. O estresse por contenção (imobilização) promove alterações sensoriais e neuroquímicas, assim como alterações comportamentais no animal (FRANÇOLIN-SILVA e ALMEIDA et al., 2004). As amostras de sangue

foram colhidas durante o período de 1 hora após o início da sessão de estresse.

Os animais foram anestesiados utilizando-se uma associação de xilazina 2% (5 mg/Kg) e quetamina 5% (30mg/Kg) via intraperitoneal (i.p.). Comprovado o grau adequado da anestesia pelo pinçamento da cauda e com o animal voltado cranialmente para o cirurgião, foi realizada a tricotomia da região cervical ventral e dorsal do mesmo.

A cirurgia iniciou-se com uma única incisão de um centímetro na região cervical ventral acompanhando a anatomia da jugular. Os tecidos superficiais foram divulsionados e o subcutâneo retirado tornando possível a visualização e acesso à veia jugular externa direita. Realizou-se uma leve compressão do tórax para ocorrer a dilatação da jugular e facilitar o procedimento. Com a agulha de canulação, punccionou-se a jugular aproximadamente três milímetros abaixo do músculo peitoral maior (superficial), passando pela luz da veia e perfurando o próprio músculo. A agulha de canulação foi então retirada da cânula a qual foi tracionada cranialmente para voltar à luz da veia e novamente tracionada sentido caudal com ângulo próximo à 45° entre pescoço e membro torácico direito.

Utilizando heparina (30 UI/ml) e seringa de insulina testou-se o funcionamento da cânula.

Concluído o teste e percebido o correto alinhamento da cânula, com o auxílio de um fio de nylon 3-0 fixou-se o silicone da cânula ao músculo. Com a ajuda de um trocáter exteriorizou-se a cânula na região cervical dorsal do animal utilizando-se o espaço subcutâneo (SZAWKA et al., 2004; FRASÃO et al., 2004).

Aplicou-se solução fisiológica (NaCl 0,9%) para lavar a cânula e posteriormente aplicou-se gentamicina (120 µg/ml) para evitar possíveis entupimentos no sistema de coleta de sangue gerados por crescimento bacteriano no interior da cânula. Durante esta técnica evitou-se a entrada de ar no sistema de canulação.

Logo após a cirurgia, os animais foram mantidos em gaiolas individuais durante dois dias. No terceiro dia, os animais foram submetidos ao procedimento experimental de acordo com o descrito a seguir.

O sangue da jugular foi colhido após a cirurgia de canulação, sendo centrifugado (CIENEC CT- 5000R, 115mm, 8x15ml) sob refrigeração (4°C, 2000 RPM, 20 minutos) para obtenção do soro, o qual foi armazenado em tubos eppendorf (300µl - cada amostra) a -20°C até as dosagens hormonais. Todas as colheitas de sangue foram realizadas entre 9:00 e 12:00 horas.

O padrão, hormônio para iodação e o anti-soro que foram utilizados no radioimunoensaio da prolactina foram fornecidos pelo National Institute of Arthritis, Diabets and Digestive Diseases &

Kidney (NIADDK) através da National Pituitary Agency (Baltimore, Maryland, USA). A preparação da prolactina de referência foi a NIADDK-r-PRL-RP-3 (5µg/ml). Os ensaios de todas as amostras foram realizados no Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Odontologia da USP, campus de Ribeirão Preto, ao final dos procedimentos experimentais. O ensaio para a quantificação das concentrações séricas de prolactina por radioimunoensaio foi realizado somente quando todas as amostras já tinham sido coletadas, evitando-se assim a variação interensaios, além de uma significativa economia de material.

A determinação do ciclo estral foi realizada com o objetivo de detectar a fase de proestro nos animais, pois, de acordo com estudos sobre a secreção da progesterona realizados por SMITH et al. (1975), durante o ciclo estral, os hormônios prolactina, LH e FSH foram dosados e mantiveram-se em baixa e estáveis, exceto na tarde do proestro, quando picos foram observados. Além disso, durante o proestro da tarde ocorre a diminuição do comportamento de ansiedade observado em fêmeas primíparas (BYRNES e BRIDGES et al., 2006), sendo assim foi padronizado o proestro, como a melhor fase para quantificação da prolactina sérica.

O diagnóstico da fase do ciclo estral foi realizado por observações microscópicas do lavado vaginal no dia da cirurgia de implantação da cânula na jugular e no dia da coleta de sangue sendo realizado sempre no mesmo horário, pois o ciclo estral sofre influência de picos hormonais e dos ritmos circadianos, responsáveis pelas diferenças histológicas entre as fases e que ocorrem em intervalos regulares de tempo.

Ratas que não se encontravam no proestro foram retiradas do experimento.

Foi utilizado 20µl de solução salina (NaCl 0,9%), aplicada com auxílio de pipeta na vulva das

fêmeas previamente contidas. O líquido aplicado e aspirado logo em seguida foi colocado sobre uma lâmina para ser avaliado sob microscópio óptico.

Foram identificadas as células típicas de cada fase do ciclo estral.

Após a obtenção de fêmeas nulíparas (n= 6) e primíparas (n= 6), estes dois grupos experimentais foram submetidos à cirurgia para implantação das cânulas jugulares como descrito anteriormente. Após um período de recuperação pós-cirúrgica de dois dias, foram colhidas amostras de sangue (300 µl) em intervalos de 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a injeção única de solução de formalina (0,2 ml formalina 4%/100g peso, subcutâneo) entre 9:00 e 12:00 h da manhã. As amostras assim colhidas foram centrifugadas e congeladas para posterior quantificação de prolactina sérica. Foi registrada a fase do ciclo estral. A Figura 1 descreveu o delineamento experimental.

Após o período de recuperação pós-cirúrgica de dois dias, as fêmeas nulíparas (n= 6) e primíparas (n= 6) foram submetidas ao estresse por contenção durante uma hora, entre 9:00 e 12:00 h da manhã, após a avaliação da fase do ciclo estral, como descrito anteriormente. Durante esse período foram colhidas 5 amostras de sangue da jugular (300 µl) em intervalos de 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos como descrito no experimento 1 (Figura 5). As amostras também foram centrifugadas e congeladas para posterior quantificação da prolactina sérica.

As médias da concentração sérica de prolactina das amostras seriadas dos grupos de nulíparas e primíparas, obtidas nos experimentos 1 e 2 foram 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.

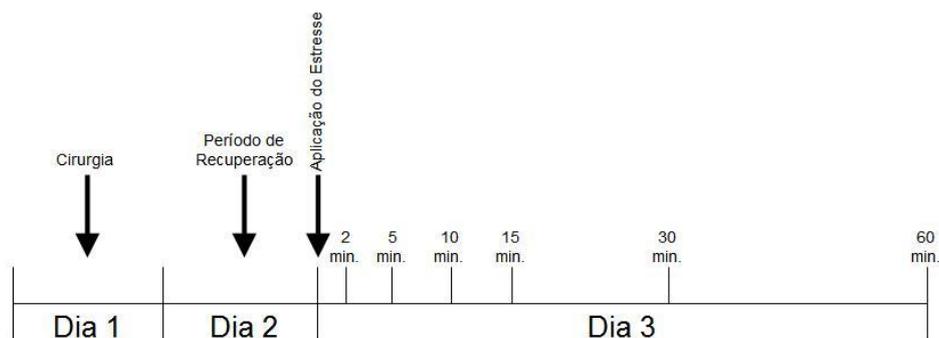


Figura 1 - Delineamento experimental (Experimentos 1 e 2).

Resultados e discussão

A análise estatística dos resultados obtidos revelou diferenças significantes entre os grupos estudados. Dessa forma, foi observada diferença significativa relacionada à experiência reprodutiva quando o estresse aplicado por contenção, revelando que para o grupo.

Nas primíparas estressadas por contenção, observou-se um pico mais intenso e mais robusto de liberação de prolactina que se inicia em minutos após o início da sessão de contenção comparando-se com grupo Nulíparas Estresse por Contenção (ANOVA de Medidas Repetidas, $F_{5,15} = 9,65$; $p < 0,001$).

Nesse sentido, obteve-se ainda uma área embaixo da curva que colabora para identificar esse efeito para o grupo Primíparas Estresse por Contenção quando comparadas as Nulíparas Estresse por Contenção (Área embaixo da curva: NF= 1442; NQ= 687; PF= 1714; PQ = 593).

Ainda, pode-se observar que, o tipo de estresse aplicado revela-se significante apenas no grupo das Primíparas (ANOVA de Medidas repetidas, $F_{5,15} = 3,89$, $p = 0,0307$) diferença essa revelada aos dez minutos após a aplicação do estresse. Observa-se, também, que aos dois minutos após a aplicação dos dois tipos de estresse, os grupos parecem já estar partindo de pontos diferentes, embora não sejam observadas diferenças significantes nesse momento. A Figura 2 ilustra esses resultados.

Os resultados apresentados apontaram diferenças significantes em função da experiência reprodutiva, bem como em relação ao tipo de estresse empregado.

O estresse provocado pela injeção de formalina não teve efeito sobre a secreção de prolactina no período de uma hora após sua aplicação, tanto em nulíparas quanto em primíparas. No entanto, o estresse por contenção provoca um pico que se inicia aos dez minutos após o início da sessão de estresse.

Esse pico é mais intenso no grupo das primíparas, estando de acordo com observações anteriores (BYRNES e BRIDGES et al., 2006; BOCHINI et al., 2004) que mostram que fêmeas experientes ou primíparas são menos sensíveis ao estresse (BRIDGES et al., 1993; LEITE et al., 2007)

A prolactina por sua vez tem efeito ansiolítico conhecido, marcadamente durante a lactação (TORNER et al., 2002; DONADIO et al., 2004). Esse mesmo efeito poderia ser observado em fêmeas não lactantes uma vez que a secreção de prolactina durante a lactação leva a modificações permanentes nas repostas neuroendócrinas e comportamentais (GRATTAN, 2001; BRIDGES et al., 1985; BRIDGES et al., 1993). Adicionalmente, após um momento de estresse as aminas noradrenalina e histamina são liberadas e atuam sobre as células dos lactotrofos nos receptores α_2 e H_2 , respectivamente, de forma

a aumentarem a secreção de prolactina (SILVA e CASTRO et al., 2005).

Desta forma, essa elevação dos níveis circulantes de prolactina foi observada com maior intensidade em primíparas durante o estresse por contenção poderiam ter um maior efeito ansiolítico nesse grupo que, conseqüentemente, levaria a maior tolerância ao estresse em primíparas. Já é conhecido que a experiência reprodutiva diminui as respostas comportamentais ao estresse (BRIDGES et al., 1993; KINSLEY e BRIDGES et al., 1985; LEITE et al., 2007; MANN et al., 1992; MUSEY et al., 1987 a,b).

O progressivo aumento da prolactina plasmática induz a um aumento na atividade dos neurônios do sistema tuberoinfundibular (TIDA), resultando num aumento da liberação de dopamina nos vasos portais hipofisários, atuando sobre receptores D_2 dos lactotrofos com conseqüente ação frenadora sobre a síntese e liberação de prolactina, embora se acredite que o GABA, a angiotensina II e a somatostatina também possam colaborar para a inibição da prolactina (SILVA e CASTRO et al., 2005) controlando assim a secreção de prolactina durante o estresse.

Foi observado também que a intensidade e a duração do estresse interferem na reposta neuroendócrina estudada, sendo que o estresse de curta duração como aquele provocado pela injeção de formalina, não provocou a liberação de prolactina em ambos os grupos de fêmeas.

Ainda se faz necessário comentar que, embora estatisticamente não significante, os grupos estudados partem de pontos diferentes, sugerindo que um efeito superagudo, anterior aos dois minutos poderia ser observado, revelando, possivelmente um outro pico de secreção do neuro-hormônio, principalmente se comparamos nulíparas ou primíparas submetidas ao mesmo tipo de estresse. Essa hipótese será testada na continuidade desse projeto de pesquisa, assim como também, seria necessário verificar o efeito de estrógenos sobre essa secreção, uma vez que existe uma inter-relação entre a fase do ciclo estral, a resposta neuroendócrina e a experiência reprodutiva (BRIDGES e BYRNES et al., 2005).

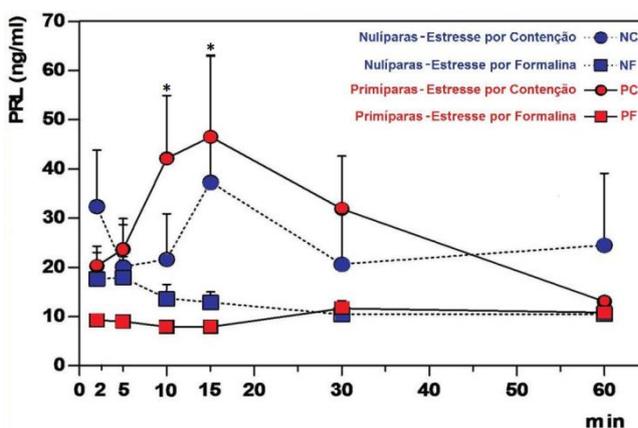


Figura 2 - Concentração (ng/ml) de prolactina sérica obtidas em fêmeas nulíparas ou primíparas após a

aplicação de estresse por contenção (NF e PF) ou estresse por injeção de formalina (NQ e PQ). Médias \pm SEM.

Conclusões

Os dados sugerem que a resposta ao estresse agudo em relação a secreção de prolactina pode ser alterada pela experiência reprodutiva na manhã do proestro. Seriam necessários mais experimentos para avaliar esta mesma resposta em outras fases do ciclo estral, assim como a contribuição de diferentes tipos de estresse relatados pela literatura nesse cenário.

Referências

BANCROFT, J. The endocrinology of sexual arousal. *Endocrinology*, v. 186, n. 3, p. 411-427, sep. 2005.

BÁNKY, Z.; NAGY, G. M.; HALÁSZ, B.; Analysis of pituitary prolactin and adrenocortical response to ether, formalin or restraint in lactating rats: rise in corticosterone, but no increase in plasma prolactin levels after exposure to stress. *Neuroendocrinology*. v. 59, p. 63-71, 1994.

BEN-JONATHAN, N. Dopamine and prolactin – an imperfect duo in circadian rhythmicity. *Endocrinology*, n. 137, p. 3619-3620, 1996.

BEN-JONATHAN, N.; ARBOGAST, L. A.; HYDE, J. F. Neuroendocrine regulation of prolactin release. *Progress in Neurobiology*, n. 33, p. 399-477, 1979.

BOCHINI, J. C. Efeito da adrenalectomia sobre a secreção de prolactina em ratas nulíparas e primíparas. *Laboratório de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina Veterinária, UNIFEOB, SP. Fapesp Proc.* 03/01887-7, 2004.

BRIDGES, R. S.; DIBIASE, R.; LOUNDES, D. D.; DOHERTY, P. Prolactin stimulation of maternal behavior in female rats. *Science*, n. 227, p. 782-784, 1985.

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.

BYRNES, E.M.; BRIDGES, R.S. Reproductive experience alters anxiety-like behavior in the female rat. *Hormones and Behavior*. n. 50, p. 70-76, 2006.

CRUZ-CASALLAS, P. E.; NASELLO, A. G.; HUCKE, E. E. T. S.; FELICIO, L. F. Dual modulation of male sexual behavior in rats by central prolactin: relationship with in vivo striatal dopaminergic activity. *Psychoneuroendocrinology*, v. 24, p. 681-693, 1999.

CUNNINGHAM, J. G.; *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 3 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2004.

DAVE, J. R.; ANDERSON, S. M.; SAVIOLAKIS, 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*. n. 67, p. 423-421, 2000.

DONADIO, M.V.F.; SAGAE, S.C.; FRANCI, C.R.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; LUCION, A.B.; SANVITTO, G.L. Angiotensin II receptors in the arcuate nucleus mediate stress-induced reduction of prolactin secretion in steroid-primed ovariectomized and lactating rats. *Brain Research*. v. 1006, p. 59-65, 2004.

FRANÇOLIN-SILVA, A. L.; ALMEIDA, S. S. The interaction of housing condition and acute immobilization stress on the elevated plus-maze behaviors of protein-malnourished rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. v. 37, n. 7, p. 1035-1042, jul. 2004.

FRASÃO, R.; Envolvimento dos núcleos da rafe nas respostas adaptativas a alterações de volume sanguíneo em ratos, estudo através da expressão de Fos. Tese (Mestrado), Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, 2004.

FUJIWARA, K; MARRUYAMA, M; USUI, K; SAKAI, T; MATSUMOTO, H; HINUMA, S; KITADA, C; INOUE, K; Appearance of prolactin-releasing peptide-producing neurons in the area postrema of adrenalectomized rats. *Neuroscience Letters*, v. 338, n. 2, p. 127-130, 2003.

GRATTAN, D.R. The actions of prolactin in the brain during pregnancy and lactation. *Progress in Brain Research*. v. 133, p. 153-171, 2001.

GUYTON, A. C.; *Tratado de Fisiologia Médica*. 8 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1992.

HAFEZ, E. S. E. *Reprodução Animal*. 4 ed. Zaragoza: Acríbia, 1988.

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.

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*. v. 9, n. 16, p. 3589-3593, 1998.

HUCKE, E. E. T. S.; CRUZ-CASALLAS, P. E.; SIDER, L. H.; FELICIO, L. F. Reproductive

- experience modulates dopamine-related behavioral responses. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. v. 68, n. 3, p. 575-582, 2001.
- KINSLEY, C. H.; BRIDGES, R. S. Parity-associated reduction in behavioral sensitivity to opiates. *Biology of Reproduction*. n. 39, p. 270-278, 1988.
- KLENEROVA, V.; SIDA, P.; HYNIE, S.; JURCOVICOVA, J. Rat Strain Differences in Responses of Plasma Prolactin and PRL mRNA Expression After Acute Amphetamine Treatment or Restraint Stress. *Cellular and Molecular Neurobiology*. v. 21, n. 1, 2001.
- LEITE, C. B.; Efeito do estresse agudo e prolongado sobre a secreção de prolactina em ratas nulíparas e primíparas. *Laboratório de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina Veterinária, UNIFEOB, SP. Fapesp: Proc. 04/15197-5R*, 2007.
- MANN, P. E.; BRIDGES, R. S. Neural and endocrine sensitivities to opioids decline as a function of multiparity in the rat. *Brain Research*. n. 580, p. 241-248, 1992.
- MATT, K. S.; SOARES, M. J.; TALAMANTES, F.; BARTKE, A. Effects of handling and ether anesthesia on serum prolactin levels in the golden hamster. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. n. 173, p. 463-466, 1977.
- MERA, T.; FUJIHARA, H.; KAWASAKI, M.; HASHIMOTO, H.; SAITO, T.; SHIBATA, M.; SAITO, J.; OKA, T.; TSUIJI, S.; ONAKA, T.; UETA, Y. Prolactin-releasing peptide is a potent mediator of stress responses in the brain through the hypothalamic paraventricular nucleus. *Neuroscience*. v. 141, p. 1069-1086, 2006.
- 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*. n. 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*. n. 64, p. 111-118, 1987a.
- NEILL, J. D. Effect of stress on serum prolactin and luteinizing hormone levels during the estrous cycle of rat. *Endocrinology*. n. 87, p. 1192-1197, 1970.
- NOEL, G. L.; SUH, H. K.; STONE, J. G.; FRANTZ, A. G. Human prolactin and growth hormone release during surgery and other conditions of stress. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. n. 35, p. 840-851, 1972.
- PALKOVITS, M.; BAFFI, J. S.; PACAK, K. The role of ascending neuronal pathways in stress-induced release of noradrenaline in the hypothalamic paraventricular nucleus of rats. *Journal of Neuroendocrinology*. v. 11, p. 529-539, 1999.
- RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. *Fisiologia Animal – Modificações e Adaptações*. 4º ed., Rio de Janeiro: Guanabara, 1997.
- SILVA, E. C.; CASTRO, L. Regulação da secreção de prolactina. Antunes-Rodrigues, J.; Moreira, A. C.; Elias, L. L. K.; Castro, M. (eds.). Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, Brasil, p. 341-354, 2005.
- 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.
- SPUCH, C.; DIZ-CHAVES, Y.; PÉREZ-TILVE, D.; ALVAREZ-CRESPO, M.; MALLO, F. Prolactin-releasing Peptide (PrRP) increases prolactin responses to TRH in vitro and in vivo. *Endocrine*. v. 31, n. 2, p. 119-124, apr., 2007.
- SZAWKA, R. E.; ANSELMO-FRANCI, J. A. A secondary surge of prolactin on the estrus afternoon. *Life Science*. v. 9, n. 75, p. 911-922, jul., 2004.
- TAYLOR, B. K.; AKANA, S. F.; PETERSON, M. A.; DALLMAN, M. F.; BASBAUM, A. I. Pituitary-adrenocortical responses to persistent noxious stimuli in the awake rat: Endogenous corticosterone does not reduce nociception in the formalin test. *Endocrinology*. v. 139, p. 2407-2413, 1998.
- TIMMERMAN, W.; POELMAN, R. T.; WESTERINK, B. H. C.; SCHUILING, G. A. Semicircadian rhythm of dopamine release in the mediobasal hypothalamus in awake rats during pseudopregnancy: evidence that a thyrotropin-releasing hormone analogue stimulates dopamine release and thereby inhibits prolactin secretion. *Neuroendocrinology*. n. 62, p. 434-443, 1995.
- TORNER, L.; TOSCHI, N.; NAVA, G.; CLAPP, C.; NEUMANN, D. Increased hypothalamic expression of prolactin in lactation: involvement in behavioral and neuroendocrine stress responses. *European Journal of Neuroscience*. v. 15, p. 1381-1389, 2002.