

SORAYA FERREIRA HABR

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE INTERLEUCINA-2
NA LIBERAÇÃO *IN VIVO* DE DOPAMINA
NO *NUCLEUS ACCUMBENS* E
NO COMPORTAMENTO MATERNAL EM RATAS**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Doutor em Ciências
(Farmacologia).

São Paulo

2008

SORAYA FERREIRA HABR

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE INTERLEUCINA-2
NA LIBERAÇÃO *IN VIVO* DE DOPAMINA
NO *NUCLEUS ACCUMBENS* E
NO COMPORTAMENTO MATERNAL EM RATAS**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Luciano Freitas Felício

São Paulo

2008

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

reprodução não autorizada pelo autor

Habr, Soraya Ferreira.

Efeitos da administração de interleucina-2 na liberação *in vivo* de dopamina no nucleus accumbens e no comportamento maternal em ratas / Soraya Ferreira Habr. -- São Paulo, 2008.

Orientador: Luciano Freitas Felicio.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia. Linha de pesquisa: Neurociências e comportamento.

Versão do título para o inglês: Effects of interleukin-2 administration on nucleus accumbens dopamine levels and maternal behavior in rats.

Descritores: 1. Comportamento materno animal 2. Interleucina 2 3. Comportamento de ataque animal 4. Microdialise 5. Neurotransmissores 6. Rato I. Felicio, Luciano Freitas II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós Graduação em Farmacologia III. Título.

ICB/SBIB158/2008

DEDICO...

À minha amada mãe.
Infelizmente não foi possível acompanhar este meu trabalho;
mas me apoiou, incentivou e ensinou muito.

Ao meu querido pai,
que com certeza estaria muito feliz
em compartilhar este momento comigo.

**Agradeço primeiramente a Deus,
por tornar possível a realização deste trabalho.**

Homenagem

Ao meu marido Jordi, agradeço pela compreensão e incentivo em todos os momentos. Por ser meu verdadeiro companheiro e amigo ...

Homenagem

*Aos meus tios Dra. Angelita Habr-Gama e Dr. Joaquim Gama,
Por sempre estarem ao meu lado, apoiando e
incentivando meu trabalho.*

Não me esquecendo de demonstrar meu sincero e imenso respeito para com os animais utilizados para este trabalho, cujas vidas foram cedidas para a realização do mesmo.

Meus sinceros agradecimentos à todas pessoas que colaboraram para a realização deste trabalho...

Aos funcionários do Biotério da FMVZ-USP, pelo cuidado e atenção em me ajudar sempre que necessário.

À Selma e Julieta, da Secretaria de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas, pela atenção e auxílio sempre que necessário.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CAPES) por financiarem este projeto.

Agradecimentos especiais...

Prof. Dr. Luciano Freitas Felício, por ter sido mais do que um orientador... um amigo que me compreendeu, me apoiou e transmitiu tantas palavras de incentivo...

Profa. Dra. Maria Martha Bernardi, por mais uma vez participar de momentos tão importantes de minha vida... por sempre ser esta grande amiga nos momentos em que mais precisei. Agradeço por cada palavra de conforto e esperança durante todos estes anos de amizade.

Profa. Dra. Rosana Camarini, do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, por suas contribuições, amizade e grande presença neste trabalho. Por me acolher quando mais precisei...

Prof. Dr. Maços Vinícius Baldo por sua grande ajuda na análise estatística, assim como por ser meu grande amigo há tanto tempo.

Ao meu grande amigo Henrique H. Silva que esteve presente em quase todas as etapas deste projeto, me ajudando em todas as etapas com dedicação e responsabilidade. Sua participação foi essencial...

As minhas grandes amigas Renata Dias e Gisleine Jacob por me apoiarem, incentivarem e estarem sempre presentes em minha vida.

À grande amiga Elizabeth Teodorov, pela grande ajuda neste projeto, pelo incentivo e força em todos os momentos. Pela companhia e esforço que dedicou a este trabalho todas as vezes em que precisei...

*O presente trabalho foi realizado nos laboratórios da
Disciplina de Farmacologia Aplicada e Toxicologia
Departamento de Patologia, da Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.*

“ We cannot direct the wind, but we can adjust the sails...”
(autor desconhecido)

RESUMO

HABR, S. F. **Efeitos da administração de interleucina-2 na liberação *in vivo* de dopamina no *nucleus accumbens* e no comportamento maternal em ratas.** 97 f. Teses (Doutorado em Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

A interleucina-2 (IL-2) atua na modulação da atividade dopaminérgica, que influencia o comportamento maternal. Neste estudo observou-se que o estado lactacional reduziu a atividade geral em campo aberto, porém não alterou os níveis de dopamina e seus metabólitos. A administração de IL-2, tanto sistêmica com diretamente no N.Ac não alterou a atividade geral em campo aberto, indicando a ausência de efeito motor da mesma. Além disso, a administração de IL-2 sistêmica e no N.Ac reduziu as porcentagens de ratas que agrupam os filhotes e de filhotes agrupados por rata. A injeção de IL-2 no N.Ac aumentou as latências de busca do primeiro e segundo filhotes e o comportamento agressivo. A administração sistêmica de IL-2 em ratas virgens reduziu somente do valor absoluto de DOPAC (metabólito de dopamina) após 100 e 120'. Este achado corrobora a idéia de que o IL-2 altera a atividade dopaminérgica. Os resultados sugerem que a administração sistêmica da dose de IL-2 estudada não influencia de forma significativa os níveis de dopamina e de seus metabólitos no N.Ac.

Palavras chaves: Comportamento maternal – Dopamina – Interleucina-2 - *Nucleus accumbens*

ABSTRACT

HABR, S. F. **Effects of interleukin-2 administration on *nucleus accumbens* dopamine levels and maternal behavior in rats.** 97 f. Doctor thesis (Pharmacology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

Interleukin-2 (IL-2) modulates the dopaminergic neurotransmission, that into the *nucleus accumbens* (N.Ac) plays a role in maternal behavior. The IL-2 dose used in this study does not have motor effects. Both peripheral and central N.Ac injections decreased the percent of mothers grouping pups together and the number of grouped pups. IL-2 injections into the N.Ac resulted in longer latencies to retrieve first and second pups and increased aggressive behavior. In order to test if these behavioral effects would be related to the IL-2 reduced the DOPAC (dopamine metabolite) concentrations in the N.Ac of virgin rats treated with IL-2. This suggests suggest that the IL-2 dose used in this study does not alter so much the dopaminergic transmission by influencing extracellular levels of this neurotransmitter.

Key words: Maternal behavior – Dopamine – Interleukin-2 - *nucleus accumbens*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 A reprodução da fêmea	15
1.2 O comportamento sexual na fêmea e os hormônios gonadais	15
1.3 O comportamento maternal	16
1.4 <i>Nucleus accumbens</i> e comportamento maternal	20
1.5 Dopamina	20
1.6 Dopamina e prolactina	22
1.7 Dopamina e comportamento maternal	24
1.8 Experiência reprodutiva	25
1.9 Dopamina e interleucina	27
2 OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo Geral	29
2.2 Objetivos Específicos	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Animais	30
3.1.1 Acasalamento	30
3.1.2 Nascimento e padronização da ninhada	30
3.2 Drogas	31
3.3 Cirurgia Estereotáxica	31
3.4 Atividade Geral em Campo Aberto	33
3.5 Avaliação do Comportamento Maternal	34
3.6. Agressividade materna	35
3.7. Microdiálise	35
3.7.1 Preparação do sistema para a microdiálise	35
3.7.2 Microdiálise propriamente dita	36
3.8 Confirmação do local de implantação das cânulas guia	36
3.9 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector eletroquímico (HPLC-ED)	37
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39

5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS	40
5.1 Delineamento experimental geral	40
5.2 PARTE 1: DIFERENÇAS DE ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO E NA LIBERAÇÃO <i>IN VIVO</i> DE DOPAMINA EM <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> ENTRE RATAS VIRGENS E RATAS EM LACTAÇÃO	41
Experimento 1	42
Experimento 2	44
5.3 PARTE 2: EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE INTERLEUCINA-2 NA ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO E NA LIBERAÇÃO <i>IN VIVO</i> DE DOPAMINA EM <i>NÚCLEUS ACCUMBENS</i> DE RATAS VIRGENS	47
Experimento 3	48
Experimento 4.....	50
Experimento 4.1	50
Experimento 4.2	53
5.4 PARTE 3: EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE INTERLEUCINA-2 NA ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO, NO COMPORTAMENTO MATERNAL E NA LIBERAÇÃO <i>IN VIVO</i> DE DOPAMINA EM <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> DE RATAS LACTANTES	56
Experimento 5	57
Experimento 6	59
Experimento 7..	63
Experimento 7.1	63
Experimento 7.2	66
5.5 PARTE 4: EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE INTERLEUCINA-2 NA ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO, NO COMPORTAMENTO MATERNAL E NA AGRESSIVIDADE MATERNAL DE RATAS LACTANTES	68
Experimento 8	69
Experimento 9	71
Experimento 10	75
6 DISCUSSÃO	77
7 CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

1.1 A reprodução da fêmea

A reprodução em fêmeas de mamíferos envolve um grande número de fenômenos biológicos dos quais fazem parte comportamentos específicos, como o sexual e o maternal. Eventos como gestação, parto e lactação, chamados em conjunto de Experiência Reprodutiva (ER), são de relevância para garantir a sobrevivência da espécie e marcam a vida dos mamíferos de modo geral. O sucesso de cada espécie depende da harmonia entre o sistema endócrino e o meio ambiente gerando respostas comportamentais adequadas. Torna-se igualmente importante neste sentido, a compreensão dos mecanismos endócrinos que controlam e participam dos eventos reprodutivos e as influências do meio externo sobre o interno. Assim como mudanças hormonais internas geram respostas fisiológicas e comportamentais compensatórias, mudanças ambientais também levam a alterações hormonais. Assim, muitas espécies que apresentam estratégias sociais e ambientais para regularem eventos reprodutivos (SCHULKIN, 1999).

1.2 O comportamento sexual na fêmea e os hormônios gonadais

Embora a vida fértil de fêmeas mamíferas seja essencialmente cíclica, períodos acíclicos de anestro gestacional e lactacional e/ou sazonal, em muitos casos ocupam a maior parte do tempo de vida reprodutiva. Em geral o comportamento sexual é a expressão desta ciclicidade e resulta do perfil hormonal que está sob o controle central. Interferências no processo reprodutivo costumam visar o controle do ciclo e da ovulação. Assim, técnicas artificiais contemporâneas como a inseminação, a sincronização deaios e a transferência de embriões têm sido bastante exploradas.

A expressão do estro e da receptividade sexual depende da interação de vários hormônios. O sistema nervoso central recebe a informação do meio externo por meio

de estímulos olfativos, visuais, auditivos e tácteis. A informação de interesse reprodutivo é integrada e transmitida às gônadas por meio de um eixo formado por elas e por estruturas localizadas no hipotálamo que controlam a secreção de prolactina e de gonadotrofinas pela hipófise anterior. As gônadas, assim estimuladas, produzem estrógenos e progestágenos que por sua vez agem sobre as mesmas estruturas cerebrais, processo conhecido como alça de retro-alimentação (CARANDENTE, 1989; TUREK; VAN CAUTER, 1993).

1.3 O Comportamento Maternal

O comportamento maternal (CM) consiste em uma série de cuidados que as fêmeas adultas de uma determinada espécie realizam em torno dos indivíduos reprodutivamente imaturos, para auxiliar na propagação de sua espécie (ROSENBLATT et al., 1985).

As mães são vivazes planejadoras e inteligentes estrategistas capazes de se auto-proverem de alimento e exibir comportamentos de nutrir a sua prole. Os hamsters dourados, além das atividades maternas de construir ninhos, lambe suas crias e amamentar, recuperam parte desse investimento maternal comendo alguns desses filhotes, uma tática maternal consagrada pelo tempo a fim de ajustar o tamanho da ninhada de acordo com as condições ambientais predominantes (DAY; GALEF, 1977; GANDELMAN; SIMON, 1978). Em mamíferos, a gravidez, o parto e a lactação são diferentes fases do ciclo reprodutivo caracterizadas por mudanças adaptativas a fim de prover um ambiente ótimo à prole imatura. Uma rata lactante integra um conjunto de comportamentos adaptativos no cuidado e nutrição da prole para que esta sobreviva. Este CM varia entre as espécies dependendo do grau de desenvolvimento apresentado pela prole ao nascimento. De acordo com a espécie, os neonatos são precoces e capazes de se locomover ou, num outro extremo, indefesos e incapazes de se locomover e de se autoregular térmicamente como os filhotes de ratos (GUBERNICK; KLOPFER, 1981).

Em ratas, as ações maternas são observadas e registradas quando a rata apresenta comportamentos diretamente relacionados aos filhotes como a busca, o

agrupamento e ficar sobre eles aquecendo-os e amamentando-os no ninho, além dos indiretos como agressividade e construção do ninho. Os cuidados maternos, que se expressam desde o nascimento da prole, se mantêm por todo o período de lactação e se transformam ao longo do desenvolvimento desta. À medida que os filhotes crescem e se tornam mais independentes, capazes de se auto-proverem de comida e de se regularem termicamente, a mãe se torna também menos responsiva em relação às primeiras demandas da prole (NUMAN, 1994).

Muitas vezes, antes do nascimento dos filhotes, as ratas costumam construir ninhos para promover a termorregulação. No ninho, as ratas lactantes geralmente ficam sobre os filhotes em uma postura denominada de *crouching* ou cifose fisiológica, na qual sua coluna fica arqueada, facilitando assim a amamentação. Além disso, estas passam um tempo significativo lambendo a cria para limpá-la, já que a limpeza da área ano-genital estimula a defecação e micção dos filhotes (GUBERNICK; ALBERTS, 1983), assim como favorece a diferenciação sexual do cérebro da prole masculina (DOHLER, 1991).

O controle e manutenção do CM envolvem fatores neuroendócrinos e neuroanatômicos. Os hormônios gestacionais preparam o animal para agir de forma maternal para com o filhote, visto que os neurotransmissores regulam o CM durante a fase de manutenção e lactação. A primeira fase da regulação do CM determina o início rápido deste no pós-parto, sendo controlada por hormônios relacionados com a gestação e lactação (estrógeno, progesterona, prolactina e ocitocina). A segunda fase, a de manutenção durante a lactação, é controlada principalmente por fatores não hormonais, na qual o estímulo proveniente do filhote se mostra o mais importante (NUMAN, 1994).

Participam do controle do CM áreas cerebrais como hipocampo, amígdala, área pré-óptica medial (APOM), área tegmentar ventral (ATV) e *Nucleus accumbens* (N.Ac) (SLOTNICK, 1967; TERLECKI; SAINBURY, 1978).

Os estudos realizados na tentativa de se avaliar as bases neurais da expressão do CM, utilizaram, entre outros métodos, lesão e estimulação elétrica em áreas particulares do cérebro de ratas lactantes (FLEMING; ROSENBLATT, 1974; FLEMING; WALSH, 1994). Hormônios como progesterona, estrógeno, prolactina e ocitocina promovem atividades diretas em áreas cerebrais que medeiam a expressão normal do CM. Por exemplo, implantes de estrógeno ou injeções de prolactina ou

lactogênios placentários na APOM do hipotálamo ou na parte ventral do núcleo intersticial da estria terminal favorecem respostas maternas (BRIDGES et al., 1990, 1985; NUMAN et al., 1977) e lesões nestas mesmas regiões impedem a expressão do CM (KALINICHEV et al., 2000; NUMAN, 1974; NUMAN; NUMAN, 1996; NUMAN et al., 1977, 1988).

Alguns parâmetros típicos do CM em roedores são: busca, recuperação, agrupamento, "grooming" de filhotes e postura de amamentação (Figura 1):

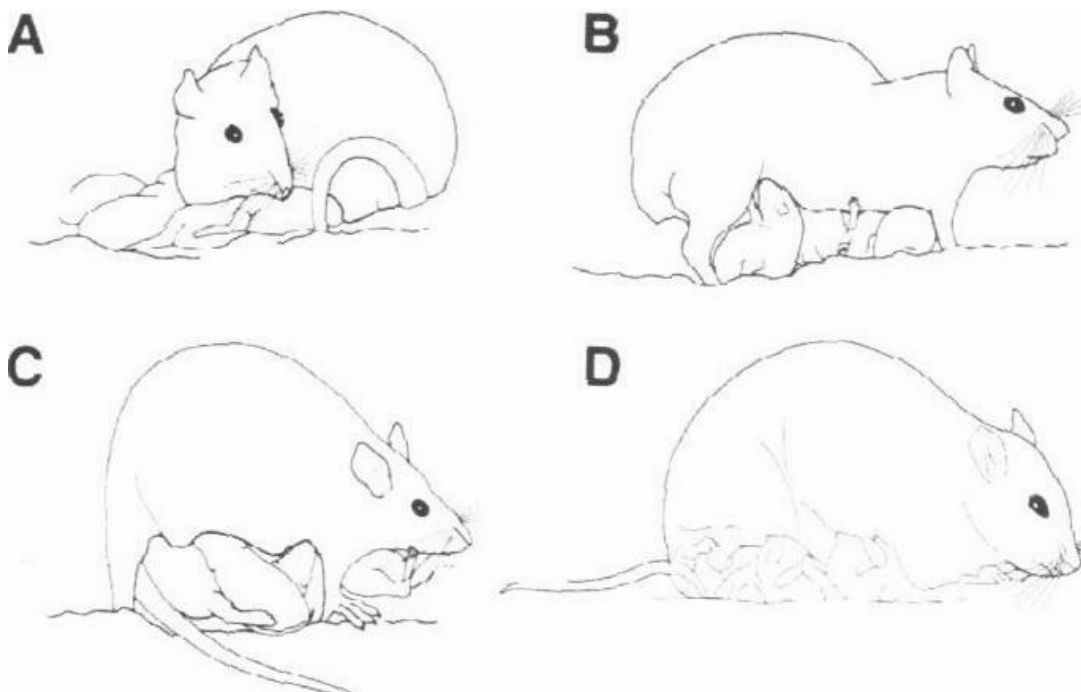


Figura 1 - Parâmetros do comportamento maternal em ratas. Agrupamento de filhotes (A), preparo da postura para amamentação (B), "crouching" ou cifose fisiológica (C) e comportamento maternal total (D). Retirado de Numan (1994).

Sheehan et al. (2000) verificaram que a contínua exposição aos filhotes, processo denominado concavenação, pode induzir mudanças hormonais em ratas virgens nulíparas. Samuels e Bridges (1983), demonstraram que ratas virgens nulíparas expostas a filhotes por 12 dias apresentaram uma resposta de liberação de prolactina semelhante à de ratas lactantes e esta resposta é maior em ratas que receberam injeções de estrógeno e progesterona do que naquelas que não receberam tais tratamentos.

A amamentação é um estímulo caracterizado pelo toque, contato, pressão e repuxamento dos mamilos (FINDLAY, 1966), que elicia reflexos neuroendócrinos próprios da lactação como a secreção de prolactina (TUKER, 1994) e ocitocina (WAKERLEY, 1996). O papel vital da prolactina durante a gestação e mais fortemente durante a lactação é marcado por adaptações fisiológicas na rata para conseguir manter um estado prolongado de hiperprolactinemia. Neurônios dopaminérgicos tubero-infundibulares mostram uma capacidade reduzida em inibir a secreção de prolactina durante o final da gestação e na lactação (GRATTAN, 2001). A prolactina também possui um efeito inibitório sobre a atividade do eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal durante a lactação com consequente redução neuroendócrina de respostas ao estresse (TORNER et al., 2002, TORNER; NEUMANN, 2002). Receptores de prolactina são expressos no hipotálamo, mais precisamente nos núcleos arqueado e préptico medial e durante a lactação há um aumento desses receptores nessas áreas.

Além dos hormônios, outras substâncias estão alteradas durante a lactação, podendo estimular ou inibir a expressão do CM por suas ações na modulação em sistemas de neurotransmissão envolvidos neste comportamento. Por exemplo, a ocitocina que atua na ATV pode modular as vias dopaminérgicas mesolímbicas envolvidas com o comportamento maternal (HANSEN et al., 1991; SILVA et al., 2001). A noradrenalina parece estar envolvida no reconhecimento olfativo dos filhotes pela mãe e na memorização do CM após a primeira experiência materna. A destruição dos neurônios noradrenérgicos dos bulbos olfatórios de rato inibe o CM (DICKINSON; KEVERNE, 1988). Propranolol, um antagonista beta-adrenérgico, interfere na facilitação em longo prazo do comportamento maternal advinda da experiência materna, enquanto

que o agonista adrenérgico, isoproterenol, facilita os efeitos da experiência no CM (MOFFAT et al., 1993).

1.4 *Nucleus accumbens* e Comportamento Maternal

O N.Ac exerce um importante papel modulatório no controle do CM, porém sua função precisa ainda não está totalmente esclarecida (SMITH; HOLLAND, 1975; LEE et al., 2000; LI; FLEMING, 2003). Neste núcleo, os sistemas límbico e motor interagem contribuindo para a expressão de varios comportamentos motivados (MOGENSON et al., 1980; WILLNER et al., 1991; STOLZENBERG et al, 2007).

Há evidências de que manipulações neuroquímicas no N.Ac afetam principalmente componentes ativos do CM como os comportamentos de trazer filhotes para o ninho, de limpeza dos filhotes e construção do ninho, possivelmente por influenciar a motivação maternal (HANSEN, 1994; HANSEN et al., 1991ab; KEER and STERN, 1999) e não por gerar prejuízo motor (SILVA et al., 2003).

1.5 Dopamina

A dopamina (DA) é uma amina biogênica sintetizada a partir da tirosina. Esta é convertida em L-DOPA pela tirosina hidroxilase e a L-DOPA é convertida em DA pela dopa-descarboxilase. Sua degradação ocorre a partir da ação de duas enzimas: catecol-O-metiltransferase (COMT) e monoamino oxidase (MAO).

Conforme Drukarch; Stoof (1990), as duas principais regiões a partir das quais os neurônios dopaminérgicos se originam são o mesencéfalo e o hipotálamo basal. Do mesencéfalo se originam três sistemas dopaminérgicos: 1) Sistema negro-estriatal, cujos neurônios possuem seus corpos celulares na substância negra, projetando seus axônios para os núcleos caudato e putamen, 2) Sistema mesolímbico, cujos corpos celulares se encontram na area tegmental ventral, se projetando para estruturas límbicas como o N.Ac, núcleo septal lateral, amígdala e tubérculo olfatório, 3) Sistema mesocortical, com

corpos celulares se projetando da área tegmental ventral para diferentes regiões do córtex; 4) via túbero-infundibular, que se projeta do hipotálamo ventral para a eminência mediana e hipófise.

As vias dopaminérgicas, apesar de relativamente pouco abundantes comparadas a outros sistemas de neurotransmissão central, são de grande importância pelas implicações comportamentais, neuroendócrinas e eventualmente patológicas que possuem. Estudos de mapeamento dessas vias começaram com trabalhos como o de Ungerstedt (1965), demonstrando a existência de três vias dopaminérgicas principais no cérebro: a nigrostriatal, a mesocorticolímbica e a túbero-infundibular (FALLON, 1988; LINDVALL; BJÖRKLUND, 1974; UNGERSTEDT, 1971; DRUKARK; STOOF, 1990). Os neurônios da parte compacta da substância negra projetam através do feixe do mesencéfalo, para o corpo estriado, formando o trato nigrostriatal. Cerca de 75% dos neurônios dopaminérgicos se encontram nesta via.

Sokoloff; Schwartz (1995), identificaram 5 tipos de receptores para DA, sendo eles: D1, D2, D3, D4 e D5. Estes receptores foram classificados em sub-família "D1-like" (D1 e D5) que ativam a adenil-ciclase aumentando os níveis intracelulares de AMPc e sub-família "D2-like" (D2, D3 e D4) que se ligam à proteína G inibitória e inibem a atividade da adenil-ciclase.

Como revisado por Palermo-Neto (1997) os receptores de DA historicamente se dividem em dois subtipos, D1 e D2, que diferem na: (1) sua ligação à proteína G; (2) sua distribuição no Sistema Nervoso Central e (3) sua farmacologia.

A DA controla funções fisiológicas como atividade locomotora (PIJNENBURG; VAN ROSSUM, 1973), comportamento sexual (HULL et al., 1995), comportamento de ingestão de alimentos (HEFFNER et al., 1980; HERNANDEZ; HOEBEL, 1988) e o comportamento maternal.

1.6 Dopamina e prolactina

As catecolaminas que exercem a função de neurotransmissores no Sistema Nervoso Central de mamíferos são principalmente a noradrenalina e a DA, ambas derivadas do aminoácido essencial tirosina. Os neurônios que utilizam cada uma delas se organizam em sistemas definidos e anatomicamente distintos (BJÖRKLUND; LINDVALL, 1986; UNGERSTEDT, 1971). Anteriormente descrita apenas como precursora da noradrenalina, hoje sabe-se que a DA representa mais de 50% das catecolaminas centrais, sendo encontrada em grande concentração nos núcleos da base (especialmente no núcleo caudado), no N.Ac, tubérculo olfatório, núcleo central da amígdala, eminência média e algumas áreas restritas do córtex frontal.

O corpo estriado dorsal ou caudato-putamen faz parte dos núcleos da base, sendo também chamado por alguns autores de neostriado em roedores. Esta estrutura forma um segmento essencial do sistema motor extrapiramidal, complementando funções motoras voluntárias do sistema motor piramidal. Além de influenciar corpo e membros, os núcleos da base também se relacionam a movimentos oculares, através de uma projeção para o colículo superior, e com funções cognitivas principalmente relacionadas ao núcleo caudado, através de conexões com o neocórtex (GANONG, 1995). Além disso, o estriado ventral ou N.Ac relaciona-se ao sistema límbico, fazendo parte do trato dopaminérgico mesocorticolímbico. Outros neurotransmissores como o ácido gama-aminobutírico, o glutamato, a substância P, a acetilcolina e a colecistocinina (COTE; CRUTCHER, 1991) desempenham funções importantes na modulação de informações nos núcleos da base.

A prolactina é controlada tonicamente pela DA secretada pelos neurônios que se projetam do núcleo arqueado para a eminência média no hipotálamo, formando o trato dopaminérgico túbero-infundibular. A DA assim produzida é liberada no sistema sanguínea porta-hipofisário e atinge a hipófise anterior (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). Esta atividade é mais evidente em

ratas do que em ratos e envolve também a participação colinérgica, opioidérgica e serotoninérgica (SHIEH; PAN, 1996, 1997), podendo ser observada em qualquer fase do ciclo estral da rata (LERANT et al., 1997; MORRELL et al., 1989). O trato retino-hipotalâmico, relacionado ao sistema temporizador central dos mamíferos, também pode inibir a secreção de prolactina estimulando a liberação de DA dos neurônios túbero-infundibulares (TIMMERMAN et al., 1995).

Assim sendo, a principal função neuroendócrina conhecida da DA é o controle tônico que ela exerce sobre a síntese e a secreção de prolactina (BEN-JONATHAN et al., 1979; BRIDGES et al., 1985; FELICIO et al., 1987b). Este fato pode ser mostrado por meio do uso de drogas que atuam sobre os sistemas dopaminérgicos. Drogas como bromopride ou a domperidona, antagonistas dopaminérgicos (FELICIO et al., 1987a; FELICIO et al., 1988; FELICIO; BRIDGES, 1992; FELICIO; NASELLO, 1989; NASELLO et al., 1997), provocam o aumento da secreção de prolactina. Já o uso de um agonista dopaminérgico, a bromocriptina, provoca a diminuição desta secreção de prolactina (LANE et al., 1997).

O papel da prolactina sobre o CM tem sido amplamente estudado (BRIDGES et al., 1985; BRIDGES et al., 1990; BRIDGES et al., 1993; McCARJHY et al., 1994; TERKEL et al., 1979), principalmente com relação ao desencadeamento deste comportamento (BRIDGES et al., 1985; BRIDGES; RONSHEIM, 1990) agindo sobre o hipotálamo ventro-medial e APOM (BRIDGES; MANN, 1994).

Nas áreas em que se localizam os sistemas dopaminérgicos, existem outros neurotransmissores e seus receptores atuantes, como os dos sistemas colinérgico, glutamatérgico e serotoninérgico (DEURWAERDÈRE et al., 1997; PATEL et al., 1995; SHIEH; PAN, 1996; SHIEH; PAN, 1997; WEATHERSPOON et al., 1996). É, portanto, do resultado da interação desses neurotransmissores que surge o significado funcional ou patológico dos sistemas dopaminérgicos.

1.7 Dopamina e Comportamento Maternal

Em relação ao CM, a DA parece estar envolvida tanto com a fase inicial (HANSEN et al., 1991ab), como com a fase de manutenção (STERN; TAYLOR, 1991). O comportamento de trazer os filhotes para o ninho é o parâmetro mais freqüentemente quantificado do CM em ratas lactantes. Neste sentido, Numan e Nagle (1983) demonstraram que lesões eletrolíticas na substância negra, uma área rica em corpos neurais de DA, interrompem o comportamento de trazer o filhote para o ninho, sendo que este parâmetro consiste em uma seqüência motora repetitiva que depende da DA (STERN, 1996). Injeções sistêmicas de haloperidol, um antagonista de receptores de DA (GIORDANO et al., 1990; STERN; TAYLOR, 1991; SILVA et al., 2001, 2003; LONSTEIN, 2002) ou raclopride (HANSEN et al., 1991b) aumentam de modo dose-dependente o tempo para trazer os filhotes para o ninho. Este efeito é revertido pela administração de apomorfina, um agonista de DA (GIORDANO et al., 1990). A injeção de uma neurotoxina, 6-hidroxidopamina (6-OHDA), no estriado ventral, procedimento que depleta a DA mesolímbica, produz déficit no comportamento de trazer o filhote para o ninho (HANSEN et al., 1991ab).

Por outro lado, lesões no estriado dorsal não reduzem o CM (HANSEN et al., 1991a), porém lesões na ATV, que é rica em fibras dopaminérgicas ascendentes que inervam córtex e sistema límbico, reduzem o CM de ratas (NUMAN; SMITH, 1984). Numan (1994) sugere que tais lesões podem afetar o CM via interferências com a transmissão dopaminérgica, alterando as interações somato-sensoriais que envolvem respostas motoras importantes para o cuidado materno e a entrada de estímulos olfativos provenientes dos filhotes. Entretanto, é possível que o efeito inibitório da DA sobre o CM, observado por alguns autores, seja devido a um prejuízo mais global das funções fisiológicas, motivacionais e motoras. A DA influencia motivações via sistema mesolímbico, agindo principalmente no N.Ac (ROBBINS; EVERITT, 1996; WILLNER et al., 1991).

Outros componentes motores do CM como construção de ninho (GIORDANO et al., 1990) e comportamento de limpeza dos filhotes (STERN; TAYLOR, 1991) são inibidos pela administração sistêmica de haloperidol. O contato com filhotes, especialmente o

comportamento de limpeza destes, aumenta a liberação de DA no estriado ventral (HANSEN et al., 1993), porém a postura de aleitamento sobre os filhotes não é inibida (GIORDANO et al., 1990; HANSEN et al., 1991a) ou facilitada (STERN; TAYLOR, 1991) por antagonismo de receptores de DA.

A administração de pimozida, um antagonista de receptores D2 prejudica o CM, mas não altera a atividade geral no campo aberto (SILVA, 2000; SILVA et al., 2001, 2003).

A DA, portanto, é importante para uma expressão ótima do CM (GIORDANO et al., 1990; KINSLEY et al., 1994; NUMAN; NAGLE, 1983; VERNOTICA et al., 1996). Esta catecolamina também inibe a secreção de prolactina (BEN-JONATHAN, 1996; BEN-JONATHAN et al., 1979). A prolactina por sua vez, desempenha um papel importante estimulando o cuidado materno, assim como participa da manutenção deste comportamento (BRIDGES, 1990; BRIDGES et al., 1985).

1.8 Experiência reprodutiva

A ER, como apontada anteriormente, é o conjunto de eventos representado por gestação, parto e lactação pelos quais uma fêmea pode passar durante a vida. Nos últimos anos, foram observadas diferenças entre ratas virgens ou nulíparas e aquelas que já tiveram uma ER prévia (primíparas ou multíparas que possivelmente perduram pelo resto de suas vidas (MUSEY et al., 1987a,b). Foi demonstrado que os níveis séricos basais de prolactina estão diminuídos após uma ER (MUSEY et al., 1987b). Esta observação foi de extrema importância como ponto de partida para a formulação de hipóteses de que poderia haver uma modificação do sistema dopaminérgico em função de uma ER, uma vez que este sistema controla a síntese e a liberação da prolactina. Assim, o sistema dopaminérgico túbero-infundibular poderia ser modulado pela ER. Além disso, se esta via dopaminérgica pode estar modificada, outras vias dopaminérgicas, tais como a mesolímbica e a nigrostriatal, também poderiam sofrer alterações que poderiam ter consequências sobre o comportamento de modo geral.

Estudos anteriores mostraram que a ER provoca alterações na liberação de neurotransmissores tais como glutamato, GABA, acetilcolina, DA e noradrenalina no bulbo olfatório e que são importantes para a expressão do CM (LÉVY et al., 1993; KEVERNE et al., 1993). Os níveis circulantes de prolactina em mulheres (MUSEY et al., 1987a; Yü et al., 1981) e em ratas que tiveram uma ER (KINSLEY; BRIDGES, 1988; MANN et al., 1989; MANN; BRIDGES, 1992) são mais baixos. Este ajuste fisiológico parece durar para o resto de suas vidas. Um efeito semelhante é observado em ratas durante a prenhez, na qual, os picos diurno e noturno de prolactina em ratas multigrávidas não são tão intensos quanto aqueles observados nas primigrávidas (BRIDGES et al., 1993). Em roedores, os picos de prolactina, evidentes na primeira metade da gestação, ajudam na manutenção do corpo lúteo (FREEMAN; NEILL, 1972; NEILL, 1988; SMITH; NEILL, 1976). Além disso, mostrou-se também que existe uma diferença neuroquímica com aumento nas concentrações de DA hipotalâmica durante a gestação em função da ER (FELICIO et al., 1996). Durante a lactação, a sucção exercida pelos filhotes em ratas, leva ao aparecimento de altas concentrações de prolactina circulante de maneira menos intensa nas multíparas em relação as primíparas (MANN; BRIDGES, 1992). O eixo de controle neuroendócrino da secreção de prolactina parece, portanto, estar alterado em ratas e mulheres por longo período em função da ER em si e do número de ERs (MANN; BRIDGES, 1992; MUSEY et al., 1987b). A redução dos níveis circulantes basais de prolactina devido ao ajuste neuroendócrino induzido pela ER possivelmente seja uma das causas da diminuição da incidência de câncer mamário em mulheres que já tiveram filhos (MUSEY et al., 1987ab; YU et al., 1981). Alguns autores discutem também a possibilidade da influência da amamentação sobre tais resultados (TRIPATHY; BENZ, 1997). Em ratas, também ocorre algo semelhante (SINHA et al., 1988; WELSCH; NAGASAWA, 1977). Além do câncer de mama, um grande número de trabalhos mostra uma possível influência da ER na diminuição da incidência de vários outros tipos de câncer, como uterino (MARTH et al., 1997), de linfonodos em consequência do câncer de mama (ORR; FRAHER, 1995), melanoma (LAMBE et al., 1996) e intestinal (MARCUS et al., 1995). Em relação ainda ao câncer de mama, a idade em que ocorrem a(s) gestação (ões) e o intervalo de tempo entre elas parecem ser importantes no que diz respeito aos aspectos protetores que a

ER poderia conferir às mulheres (KALACHE et al., 1993; KWA et al., 1981; MACMAHON et al., 1970). A ER também determina alterações na intensidade das respostas à ação de metoclopramida, um antagonista de DA como a em mulheres virgens, levando a menores níveis circulantes de prolactina encontrados após a injeção da droga (DE LOS MONTEROS, 1991; PARRA et al., 1997). Da mesma forma, a resposta hormonal à ação do haloperidol também está diminuída em função da ER em ratas (BRIDGES et al., 1997, HUCKE et al., 1998). Além de mudanças bioquímicas (BRIDGES et al., 1985; BRIDGES; HAMMER, 1992; KEVERNE et al., 1993), comportamentais (COHEN; BRIDGES, 1981; KINSLEY; BRIDGES, 1988; MANN; BRIDGES, 1992; MANN et al., 1989; MOLTZ; ROBBINS, 1965; MOLTZ et al., 1966; MOLTZ et al., 1969), endócrinas (BRIDGES et al., 1993; BRIDGES et al., 1997), a ER pode alterar a expressão de alguns genes como o da pró-ópiomelanocortina (MANN et al., 1997).

Portanto, todos estes estudos, revelam diferenças em relação às funções endócrinas, neuroquímicas e comportamentais decorrentes da ER (BRIDGES, 1978; BRIDGES et al., 1992, 1993, 1997; FELICIO et al., 1996; KINSLEY; BRIDGES, 1988; KREHBIEL et al., 1987; MANN et al., 1989; MANN; BRIDGES, 1992;).

1.9 Dopamina e Interleucina

Os sistemas imune, endócrino e nervoso possuem comunicações entre si que implicam em modificações de estados fisiológicos (ANISMAN et al., 1993; BESEDOVSKY; DEL REY, 1991; BLALOCK, 1994; DANTZER; KELLEY, 1989; FELTEN et al., 1985; RABIN et al., 1989; WATKINS et al., 1995).

Manipulações nos sistemas nervoso e endócrino influenciam no funcionamento do sistema imune (ANISMAN et al., 1993; DANTZER; KELLEY, 1989). Por outro lado, está muito bem estabelecida a idéia de que a ativação do sistema imune provoca modificações neuroendócrinas e de neurotransmissores centrais (ANISMAN et al., 1993; BLALOCK, 1994; DUNN, 1995; HOPKINS; ROTHWELL, 1995; MERALI et al., 1997; RIVEST, 1995; RIVIER, 1993).

Vários trabalhos mostram que as interleucinas interferem com o sistema dopaminérgico. Em particular, a interleucina-2 (IL-2) está implicada na modulação da

atividade dopaminérgica mesolímbica e mesocortical (ZALCMAN, 2002), e também na patogenia de desordens psiquiátricas que envolvem o sistema dopaminérgico, como a esquizofrenia e Parkinsonismo (PETITTO et al., 1997; ZALCMAN, 2002). Isso sugere a ligação funcional entre IL-2, receptores de DA e comportamentos modulados por vias dopaminérgicas.

Foi demonstrado por meio da microdiálise que a administração intraperitoneal de IL-2 reduz a liberação de DA em N.Ac de ratos, 1h 30min a 2 horas após a administração de IL-2 (ANISMAN et al., 1996). Apesar dos achados que sugerem que a IL-2 é moduladora da atividade dopaminérgica central, podendo assim interferir em comportamentos mediados pela DA, ainda não se comprovou a ligação funcional exata entre IL-2, DA e as modificações comportamentais relatadas (ZALCMAN, 2002).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da administração de interleucina-2 no comportamento maternal e na liberação *in vivo* de DA em N.Ac.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as diferenças na atividade geral em campo aberto de ratas virgens e ratas em lactação.
- Avaliar as diferenças na liberação *in vivo* de DA em N.Ac de ratas virgens e ratas em lactação.
- Avaliar os efeitos da administração sistêmica de IL-2 na atividade geral em campo aberto de ratas virgens.
- Avaliar os efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA em N.Ac de ratas virgens.
- Avaliar os efeitos da administração sistêmica de IL-2 na atividade geral em campo aberto de ratas lactantes.
- Avaliar os efeitos da administração sistêmica de IL-2 no CM de ratas lactantes.
- Avaliar os efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA em N.Ac de ratas lactantes.
 - Avaliar os efeitos da administração de IL-2 em N.Ac na atividade geral em campo aberto em ratas lactantes.
 - Avaliar os efeitos da administração de IL-2 em N.Ac no CM em ratas lactantes.
 - Avaliar os efeitos da administração de IL-2 em N.Ac na agressividade maternal em ratas lactantes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Em todos os experimentos foram utilizadas ratas da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com idade entre 90 e 120 dias, assim como ratos da mesma linhagem com idade de 120 dias, obtidos no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno medindo 30x40x18cm, em salas com sistema de ventilação 23±2 °C e ciclo de luz de 12h (06h-18h). Água e comida foram oferecidas *ad libitum* durante todos os experimentos, os quais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (protocolo 109, fls. 16 do livro 2).

3.1.1 Acasalamento

Ao final do período claro do dia, ratas que se encontravam no período de transição da fase proestro para o estro foram colocadas na gaiola de um rato sexualmente experiente para o acasalamento. Logo no início do período claro do dia seguinte foi realizada análise da citologia vaginal e, confirmando-se a presença de espermatozóides, este foi considerado como primeiro dia de gestação. Após este período, as ratas foram colocadas em gaiolas individuais durante os experimentos.

3.1.2 Nascimento e padronização da ninhada

A ocorrência de nascimentos foi monitorada diariamente até as 14h. Após este horário, os partos foram considerados como tendo ocorrido no dia seguinte, dia zero de lactação. No dia 1, foi realizada a contagem e sexagem dos filhotes. As ninhadas foram padronizadas para 4 ratos e 4 ratas por mãe.

3.2 Drogas

- Cloridrato de xilazina 2%: KONIG®
- Cloridrato de Ketamina 5%: KONIG®
- Benzilpenicilina benzatina: BAYER®
- Interleucina-2 humana (IL-2): SIGMA-ALDRICH®

Para o tratamento sistêmico, as drogas foram preparadas em soluções que permitiam injetar um volume de $1,0\text{ml.kg}^{-1}$ de peso corporal. Para as ratas do grupo tratado administrou-se solução de IL-2 ($1,0\ \mu\text{g/animal}$) e para o grupo controle foi administrada solução salina 0,9% (1ml /kg). Todas as drogas foram administradas por via intraperitoneal, sendo que os anestésicos foram administrados de acordo com o peso corporal das ratas (1:1), enquanto que a Benzilpenicilina benzatina foi administrada na dose de 75 U/animal em dose única por via subcutânea na região dorsal, imediatamente após a cirurgia estereotáxica.

Para o tratamento local, as drogas foram preparadas em soluções que permitiam injetar um volume de $1\ \mu\text{l/animal}$. Para as ratas do grupo tratado administrou-se solução de IL-2 ($0,1\ \mu\text{g/animal}$) e para o grupo controle foi administrada solução salina 0,9% (não superior a $1\ \mu\text{l/animal}$). As administrações foram no N.Ac para ambos os grupos.

3.3 Cirurgia Estereotáxica

A cirurgia estereotáxica foi utilizada para implantar cânulas guia direcionadas para o N.Ac esquerdo. Foram utilizadas cânulas guia do tipo CMA/11 (BAS®).

Foram utilizadas as seguintes coordenadas, baseadas no sistema A do Atlas de cirurgia estereotáxica do cérebro de rato (PAXINOS; WATSON, 1986)

	DV	AP	ML
N.Ac (esquerdo)	6.4	+ 1.2	1.4

A coordenada dorso-ventral (DV) foi determinada em relação ao zero interaural, enquanto que a medio-lateral (ML) e a antero-posterior (AP), em relação ao bregma.

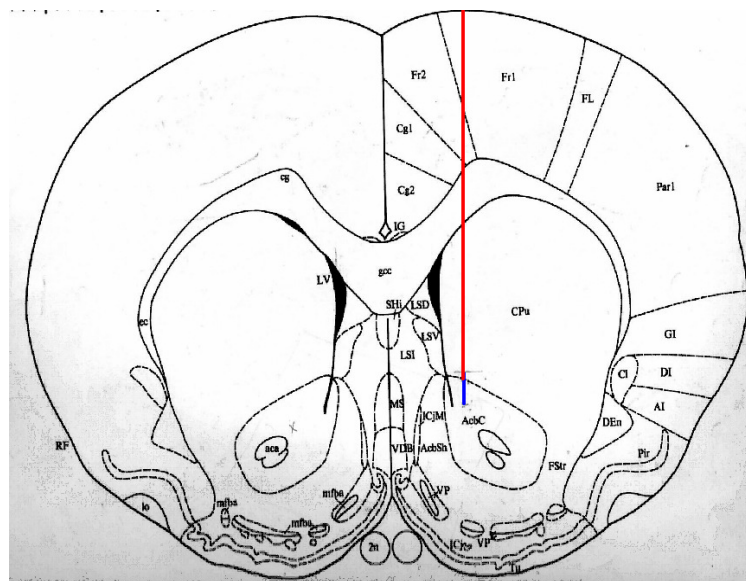


Figura 2: Localização do N.Ac em corte de encéfalo, mostrando a localização da cânula implantada em N.Ac, de acordo com as coordenadas acima.

O procedimento cirúrgico incluiu: anestesia geral; posicionamento do animal no aparelho estereotáxico; tricotomia da área cirúrgica na região superior da cabeça; desinfecção da pele com álcool; incisão da pele, das fáscias subcutâneas e do periósteo e localização do bregma real (intersecção das suturas cranianas coronal e sagital). Após isso, foi feita a localização do ponto de perfuração da caixa craniana.

Foram utilizadas brocas odontológicas (diâmetro 1,0 mm) acionadas por um micro-motor à chicote (BETHIL® Equipamentos Odontológicos – Brasil) a fim de se realizar furos superficiais para a colocação de dois parafusos (2,5 mm de comprimento) de sustentação, sendo um anterior e o outro posterior ao local determinado para a implantação da cânula guia. A cânula guia foi implantada seguindo as coordenadas respectivas e fixada, juntamente com os parafusos, com resina acrílica (Polímero metil metacrilato, tipo clássico – ORTO CLASS®) e líquido acrílico (Monômero metil

metacrilato, tipo clássico - ORTO CLASS®) odontológicos. Por último, a pele foi suturada, aplicando-se no local pomada antibiótica a base de neomicina e bacitracina (Nebacetim – ByK Química®) e retirou-se o animal do aparelho estereotáxico. O tempo de recuperação das ratas foi de aproximadamente 1 semana.

3.4 Atividade Geral em Campo Aberto

Este teste comportamental foi realizado no dia 5 da lactação durante a fase clara do ciclo de luz, entre 14h e 17h. Os tratamentos foram feitos 30 minutos (tratamento local) ou 1h30 (tratamento sistêmico) antes da avaliação comportamental.

O campo aberto utilizado no estudo da atividade geral em ratas adultas consiste de uma arena circular de madeira com 97 cm de diâmetro e 32,5 cm de altura, pintada na cor branca. O fundo desta arena é dividido por meio de 3 círculos concêntricos em três partes, que por sua vez são subdivididos através de segmentos de reta em dezenove áreas aproximadamente iguais (BROADHURST, 1960).

Cada animal foi colocado individualmente no centro da arena, sendo observado por um período de cinco minutos. As ratas dos grupos controle e experimental foram observados intercaladamente, sendo que entre as observações de cada animal, o campo aberto foi limpo com uma solução de álcool a 5%, para retirar odores deixados por outras ratas observadas previamente neste aparelho. Foram avaliadas as frequências de locomoção e levantar, assim como as durações de imobilidade e *grooming*.

Definiu-se como uma unidade de locomoção o ato do animal adentrar com as quatro patas em uma das divisões do chão da arena e uma unidade de levantar correspondeu à postura do animal em permanecer apoiado nas patas posteriores, com o tronco perpendicular ao chão e a cabeça dirigida para cima, podendo ou não tocar com as patas anteriores as paredes do campo aberto. A duração de imobilidade foi considerada como o período de tempo durante o qual o animal não apresentou atividade motora e a duração de *grooming* como o tempo de auto-limpeza do animal, ambos em segundos.

3.5 Avaliação do Comportamento Maternal

Este teste comportamental foi realizado no dia 6 da lactação durante a fase clara do ciclo de luz, entre 13h 30min e 17h. Foram anotadas as posições dos filhotes e da rata na gaiola aproximadamente às 13h. A ninhada foi retirada da gaiola, sendo colocada em uma caixa com maravalha onde permaneceram por trinta minutos antes da avaliação comportamental, em local distante da mãe.

Os tratamentos foram feitos 30 minutos (tratamento local) ou 1h 30min (tratamento sistêmico) antes da avaliação comportamental.

Os seguintes parâmetros maternos foram avaliados:

- Latência (segundos) para buscar cada um dos 8 filhotes, que foram distribuídos por toda a gaiola;
- Escore de agrupamento total dos 8 filhotes, que foi estabelecido da seguinte maneira: escore 1 (todos os filhotes agrupados nos primeiros 5 minutos do CM), escore 2 (todos os filhotes agrupados entre 5 e 10 minutos do CM), escore 3 (todos os filhotes agrupados entre 10 e 15 minutos do CM), escore 4 (todos os filhotes agrupados entre 15 e 20 minutos do CM), escore 5 (todos os filhotes agrupados entre 20 e 25 minutos do CM), escore 6 (todos os filhotes agrupados entre 25 e 30 minutos do CM) e escore 7 (não agrupamento total dos filhotes em 30 minutos do CM);
- Número de filhotes agrupados;
- Porcentagem de agrupamento total dos filhotes;
- Porcentagem de filhotes agrupados;
- Período de *grooming* dos filhotes (segundos);
- Período de *self-grooming* (segundos);
- Período de cifose, postura na qual a coluna da mãe fica arqueada, facilitando a amamentação (segundos);
- Latência para Comportamento Maternal Total (CMT), que significa apresentar a postura de aleitamento sobre os filhotes por 3 minutos consecutivos (segundos);
- Presença do CMT após 15, 30 e 45 minutos do término da observação do comportamento;

- Freqüência do *maternal bout*, que corresponde ao número de vezes em que a mãe interagiu com seus filhotes;
- Período de *maternal bout*, que corresponde ao período total em que a mãe interagiu com seus filhotes (segundos).

3.6 Agressividade materna

O teste comportamental foi realizado no dia 9 da lactação durante a fase clara do ciclo de luz, entre 14h e 17h.

Os tratamentos foram feitos 30 minutos (tratamento local) antes da avaliação comportamental.

As ratas foram removidas das caixas-moradia, o tratamento foi feito em N.Ac e, em seguida, as ratas retornaram às suas caixas. Após 30 minutos, foi colocado um rato macho adulto 1,5 vezes maior que a rata (denominado intruso) na caixa-moradia para o início do teste que teve duração de 10 minutos, este foi colocado do lado oposto à localização do ninho. Este rato foi usado somente uma vez.

Foram observados:

- Latência para primeiro ataque da rata no rato (segundos);
- Número de ataques;
- Tempo de briga (segundos);
- Interação entre a rata e o intruso (segundos).

3.7 Microdiálise

3.7.1 Preparação do sistema para a microdiálise

Para as sessões de microdiálise foi utilizada uma bomba de infusão contínua (HARVARD Apparatus®, modelo 2274) equipada com uma seringa (HAMILTON Modelo 1002 LT; 2,5 ml) conectada à membrana de microdiálise por meio de tubos de polietileno. O líquido de perfusão entra por um tubo (entrada – *inlet*) e sai por outro (saída – *outlet*),

sendo então cotetado em tubos *ependorf* colocados na extremidade do tubo de saída e que contém 5µl de ácido perclórico (ClHO₄) 1M.

O aparelho é composto por uma gaiola de acrílico arredondada, sendo fixada à esta um braço móvel equipado com um sistema de *swivel* que permite ao animal se movimentar livremente dentro da gaiola.

A *sonda* para microdiálise é um tubo concêntrico pelo qual o líquido de perfusão entra em direção à membrana de diálise onde ocorre difusão das moléculas do líquido extracelular e de perfusão. O fluxo segue então em direção ao tubo coletor.

As amostras coletadas foram congeladas em -80 °C, permanecendo assim por no máximo 1 mês até que fossem injetadas no HPLC-ED para quantificação das monoaminas.

3.7.2 Microdiálise propriamente dita

As ratas foram habituadas à gaiola de microdiálise e ao colar que prende o animal ao braço móvel no dia anterior ao teste por um período de 1 hora. Ao início da sessão, após a separação do sistema de perfusão e lavagem da membrana, as ratas foram contidos para a colocação da membrana através da cânula guia. O animal foi mantido solto e não anestesiado. Após um período de estabilização do sistema de 1 hora, os dialisatos foram coletados a cada 20 minutos em tubos *ependorf* com 5 µl de ácido perclórico 1M e armazenados em -20 °C. O volume total de cada dialisato foi de aproximadamente 35 µl. Após o período de coleta de amostras, as mesmas foram congeladas em -80°C para posterior quantificação de DA e seus metabólitos: ácido 3,4, di-hidroxifenilacético (DOPAC; forma livre, padrão) e ácido homovanílico (HVA; forma livre, padrão). O animal foi mantido sem acesso à água e comida durante os procedimentos experimentais.

3.8 Confirmação do local de implantação das cânulas guia

As ratas foram anestesiadas profundamente. Em seguida, por meio de uma bomba peristáltica (Cole Parmer®) as ratas foram perfundidas via intracardiacamente,

por meio do ventrículo esquerdo, com 150 ml de solução salina à 0,9%, seguida de 500 ml de solução fixadora de paraformaldeído a 10% diluído em água milli-Q. Os encéfalos foram então removidos e transferidos para solução saturada de sacarose em paraformaldeído 10%, onde permaneceram por aproximadamente 24 horas.

A seguir, cortes frontais seriados, com 30 μm de espessura, foram obtidos utilizando-se um micrótomo de congelação (LEIKA®). Os cortes foram coletados seqüencialmente em 6 compartimentos, de forma que a distância entre os cortes num mesmo compartimento fosse de 180 μm . Os cortes foram corados pelo método de Nissl e visualizados em microscópio óptico para verificação da implantação da cânula guia na região de interesse.

Somente os dados de animais com confirmação do local da cânula foram considerados para análise.

3.9 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector eletroquímico (HPLC-ED)

As amostras foram separadas e quantificadas por meio de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência, (HPLC, Shimadzu), utilizando-se uma coluna Chromolith RP-18e (MERCK®), sendo detectadas por um detector eletroquímico (1049 A, HEWLETT PACKARD®). O sistema de HPLC é controlado por um computador acoplado ao sistema, por meio de um programa específico (Software Class VP, versão 2.0) que realizou o registro e a análise dos dados. A fase móvel utilizada foi composta por (gramas/litro) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (13,4), EDTA (0,372), ácido 1-heptanossulfônico (0,320), ácido cítrico (10,5), metanol (100 mL), pH 3,0.

Concentrações conhecidas das aminas e seus metabólitos foram tratadas da mesma forma que as amostras e injetadas em diferentes concentrações no HPLC. Para cada substância, foram calculadas as médias das áreas dos picos de cada concentração utilizada, sendo construída uma curva da concentração dos padrões em função da área obtida em cada concentração. A regressão linear dessa curva serviu para calcular as

concentrações das aminas nas amostras. O limite de detecção (sensibilidade) para as amostras foi de 0.01 pmol.

A partir dessas dosagens, foram calculados os valores absolutos (em pmol) de DA e HVA, bem como as relações DOPAC/DA, HVA/DA e (DOPAC+HVA)/DA. Visando a equalização das variações entre as medidas, foram calculados também os valores relativos (porcentagem da variação das amostras em relação ao valor médio das 3 dosagens de microdiálise feitas antes da administração de IL-2 ou salina).

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste “U” de Mann-Whitney foi utilizado para análise dos dados do CM e agressividade maternal das ratas.

Foi utilizada ANOVA de duas vias. Para os dados de neuroquímica em que houve 2 grupos (paramétrico), foi utilizado o teste t, sendo que quando houve mais de dois grupos que apresentem distribuição normal foi utilizada a ANOVA de uma via. O nível de significância de $p < 0,05$ foi considerado como revelador de diferenças significantes. Para os parâmetros apresentados em porcentagem, foi utilizado o teste de Fischer.

5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS

5.1 Delineamento experimental geral

Foram utilizadas ratas e ratos Wistar adultos. Para o acasalamento, 2 ratas foram mantidas *overnight* com 1 rato sexualmente experiente, sendo avaliada a citologia vaginal pela manhã por meio da presença de espermatozoides no lavado vaginal e considerado como o dia 1 de gestação. O dia do parto foi considerado como o dia zero da lactação. No dia 1 realizou-se a avaliação macroscópica dos filhotes, pesagem da ninhada e sexagem, tendo 4 ratas e 4 ratos por mãe. Os demais filhotes foram descartados por congelamento.

5.2 PARTE 1: DIFERENÇAS DE ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO E NA LIBERAÇÃO *IN VIVO* DE DOPAMINA EM *NUCLEUS ACCUMBENS* ENTRE RATAS VIRGENS E RATAS EM LACTAÇÃO.

Experimento 1: Diferenças de atividade geral em campo aberto entre ratas virgens e ratas em lactação.

Delineamento experimental

Foram utilizadas 15 ratas, sendo 8 virgens e 7 lactantes, no 5º dia de lactação. As ratas foram avaliadas quanto à atividade geral em campo aberto durante um período de 5 minutos de acordo com o item 3.4 de Materiais e Métodos.

Resultados

A Tabela 1 mostra os resultados referentes às diferenças de atividade geral entre ratas virgens e ratas em lactação. O Teste t mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos tratados com relação à frequência de locomoção ($p=0,0064$) e a frequência de levantar ($p=0,0002$). As ratas em lactação apresentaram redução nos parâmetros acima. Por outro lado, os parâmetros duração de imobilidade ($p=0,49$) e duração de *grooming* ($p=0,54$) não apresentaram alterações.

Tabela 1: Diferenças de atividade geral em campo aberto entre ratas virgens e ratas em lactação. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão; () = número de animais.

	Virgem (8)	Lactante (7)
Locomoção (frequência)	135 ± 6,66	79 ± 16,69*
Levantar (frequência)	22 ± 1,64	10 ± 1,65**
Imobilidade (segundos)	25 ± 3,99	466 ± 21,65
Self-grooming (segundos)	0,00 ± 0,00	44 ± 25,10

Teste t. * p < 0,01 em relação ao grupo virgem, ** p < 0,001 em relação ao grupo virgem.

Experimento 2: Diferenças na liberação *in vivo* de DA em N.Ac de ratas virgens e ratas em lactação.

Delineamento Experimental

Um total de 12 animais (7 virgens e 5 lactantes no 6^o dia de lactação) tiveram seus níveis *in vivo* de DA dosados a partir da microdiálise em 3 momentos, com intervalos de 20 minutos entre as coletas. Posteriormente, as ratas foram perfundidas para que se confirmasse a localização das cânulas. Somente os dados de animais com confirmação do local da cânula foram considerados para análise.

Resultados

Na Figura 3 a ANOVA de duas vias aplicada aos níveis de DA (valores absolutos) não mostrou a existência de interação entre o tempo e o estado lactacional ($F_{(2/27)}=0,09$; $p=0,91$). A lactação ($F_{(1/27)}=0,04$; $p=0,85$) e o tempo não influenciaram este parâmetro ($F_{(2/27)}=0,01$; $p=0,98$).

Conforme apresentado na Figura 3, a ANOVA de duas vias aplicada aos níveis de DOPAC não mostrou a existência de interação entre o tempo e o estado lactacional ($F_{(2/27)}=1,87$; $p=0,17$). A lactação ($F_{(1/27)}=0,00$; $p=0,99$) e o tempo não influenciaram este parâmetro ($F_{(2/27)}=0,44$; $p=0,64$).

Em relação aos níveis de HVA, a estatística não mostrou a existência de interação entre o tempo e o estado lactacional ($F_{(2/27)}=1,00$; $p=0,38$). A lactação ($F_{(1/27)}=0,30$; $p=0,59$) e o tempo não alteraram este parâmetro ($F_{(2/27)}=0,95$; $p=0,40$).

A análise estatística aplicada aos níveis de DOPAC/DA não mostrou a existência de interação entre o tempo e o estado lactacional ($F_{(2/27)}=0,07$; $p=0,93$). A lactação ($F_{(1/27)}=0,01$; $p=0,92$) e o tempo ($F_{(2/27)}=0,65$; $p=0,53$) não influenciaram este parâmetro.

Em relação aos níveis de HVA/DA a análise estatística não mostrou a existência de interação entre o tempo e o estado lactacional ($F_{(2/27)}=0,21$; $p=0,17$). A lactação ($F_{(1/27)}=0,02$; $p=0,88$) e o tempo ($F_{(2/27)}=0,14$; $p=0,77$) não influenciaram este parâmetro.

Resultados semelhantes foram encontrados em relação aos níveis de (DOPAC+HVA)/DA os quais não revelaram interação entre o tempo e o estado lactacional ($F_{(2/27)}=0,54$; $p=0,59$). A lactação ($F_{(1/27)}=0,12$; $p=0,73$) e o tempo ($F_{(2/27)}=0,80$; $p=0,46$) não influenciaram este parâmetro.

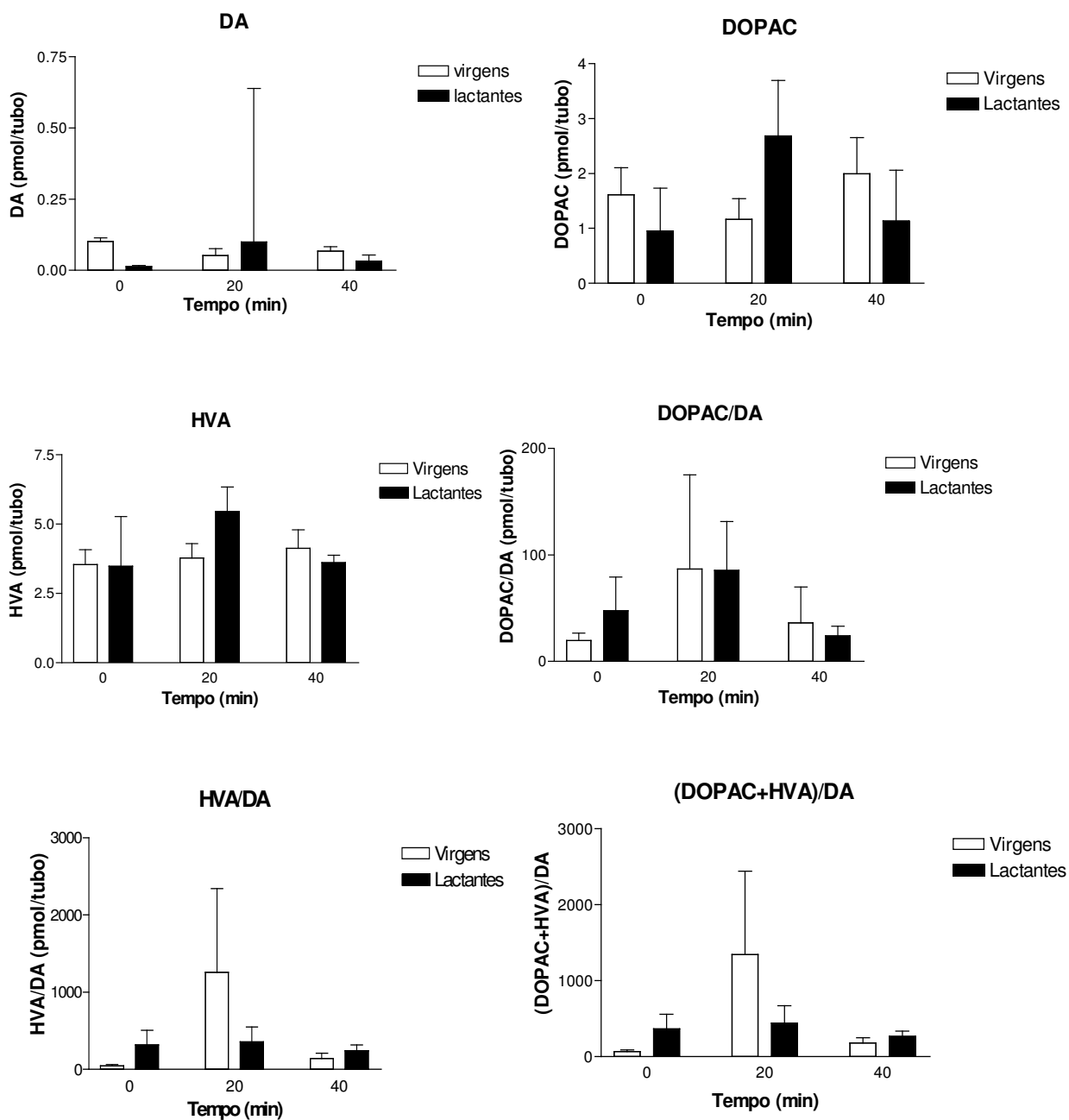


Figura 3: Diferenças na liberação *in vivo* de DA em N.Ac de ratas virgens e ratas em lactação. São apresentadas as médias dos valores absolutos de DA, DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HAV/DA e (DOPAC+HVA)/DA em ratas, assim como seus erros-padrão. n=7 (virgens) e n=5 (lactantes).

5.3 PARTE 2: EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE INTERLEUCINA-2 NA ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO E NA LIBERAÇÃO *IN VIVO* DE DOPAMINA EM *NUCLEUS ACCUMBENS* DE RATAS VIRGENS.

Experimento 3: Efeitos da administração sistêmica de IL-2 na a atividade geral de ratas virgens avaliadas em campo aberto.

Delineamento experimental:

No dia 5 de lactação as ratas foram avaliadas quanto à atividade geral em campo aberto durante um período de 5 minutos, após 1h45 das administrações sistêmicas de IL-2 (7 ratas) ou solução salina a 0,9% (8 ratas) de acordo com o item 3.4 de Materiais e Métodos.

Resultados

A Tabela 2 mostra os resultados referentes aos efeitos da administração sistêmica de 1µg/animal de IL-2 na atividade geral de ratas observadas em campo aberto. O Teste t não mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos tratados com relação à frequência de locomoção ($p=0,06$), frequência de levantar ($p=0,57$), duração de imobilidade ($p=0,49$) e duração de *grooming* ($p=0,54$).

Tabela 2: Efeitos da administração sistêmica de 1µg/animal de IL-2 na atividade geral de ratas, observadas em campo aberto. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão; () = número de animais.

	Salina (8)	IL-2 (7)
Locomoção (frequência)	135 ± 6,66	149 ± 9,57
Levantar (frequência)	22 ± 1,64	25 ± 2,46
Imobilidade (segundos)	25 ± 3,99	24 ± 5,05
Self-grooming (segundos)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

O teste t não indicou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Experimento 4 Efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA no N.Ac de ratas virgens. Neste experimento são apresentados os dados de um mesmo experimento de duas formas: valores absolutos (Experimento 4.1) e relativos (Experimento 4.2).

Experimento 4.1: Efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA no N.Ac de ratas virgens (valores absolutos).

Delineamento Experimental

Um total de 13 animais tiveram seus níveis *in vivo* de DA dosados a partir da microdiálise, sendo 7 tratados com salina e 6 tratados com IL-2. Em seguida, as ratas foram perfundidas para que se confirmasse a localização das cânulas. Somente os dados de animais com confirmação do local da cânula foram considerados para análise.

Resultados

Na Figura 4 a ANOVA de duas vias aplicada aos níveis de DA não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/130)}=0,40$; $p=0,95$). O tratamento não alterou os resultados ($F_{(1/130)}=0,48$; $p=0,49$) e o tempo não influenciou este parâmetro ($F_{(11/130)}=1,08$; $p=0,38$).

Quanto aos níveis de DOPAC não houve interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/132)}=0,41$; $p=0,95$). O tratamento alterou os resultados ($F_{(1/132)}=23,05$; $p<0,0001$) e o tempo não influenciou este parâmetro ($F_{(11/132)}=0,66$; $p=0,77$). O teste t mostrou que as ratas tratadas com IL-2 apresentaram redução nos níveis de DOPAC em relação ao grupo tratado com salina aos 100 min ($p=0,009$) e 120 min ($p=0,002$).

Em relação aos níveis de HVA, a estatística não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/132)}=0,22$; $p=0,99$). O tratamento ($F_{(1/132)}=8,08$; $p=0,0052$) influenciou o resultado, e o tempo não alterou este parâmetro ($F_{(11/132)}=1,69$; $p=0,08$). O teste t não mostrou diferença significativa entre as ratas tratadas com salina e IL-2.

A análise estatística aplicada aos níveis de DOPAC/DA não mostrou a existência de interação entre o tempo e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/130)}=0,81$; $p=0,63$). O tratamento ($F_{(1/130)}=0,18$; $p=0,67$) e o tempo ($F_{(11/130)}=0,98$; $p=0,47$) não influenciaram este parâmetro.

Em relação aos níveis de HVA/DA a análise estatística não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/130)}=1,02$; $p=0,43$). O tratamento ($F_{(1/130)}=0,02$; $p=0,88$) e o tempo ($F_{(11/130)}=0,64$; $p=0,79$) não influenciaram este parâmetro.

Resultados semelhantes foram encontrados em relação aos níveis de (DOPAC+HVA)/DA os quais não revelaram interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/131)}=1,07$; $p=0,39$). O tratamento ($F_{(1/131)}=0,01$; $p=0,94$) e o tempo ($F_{(11/131)}=0,68$; $p=0,76$) não influenciaram este parâmetro.

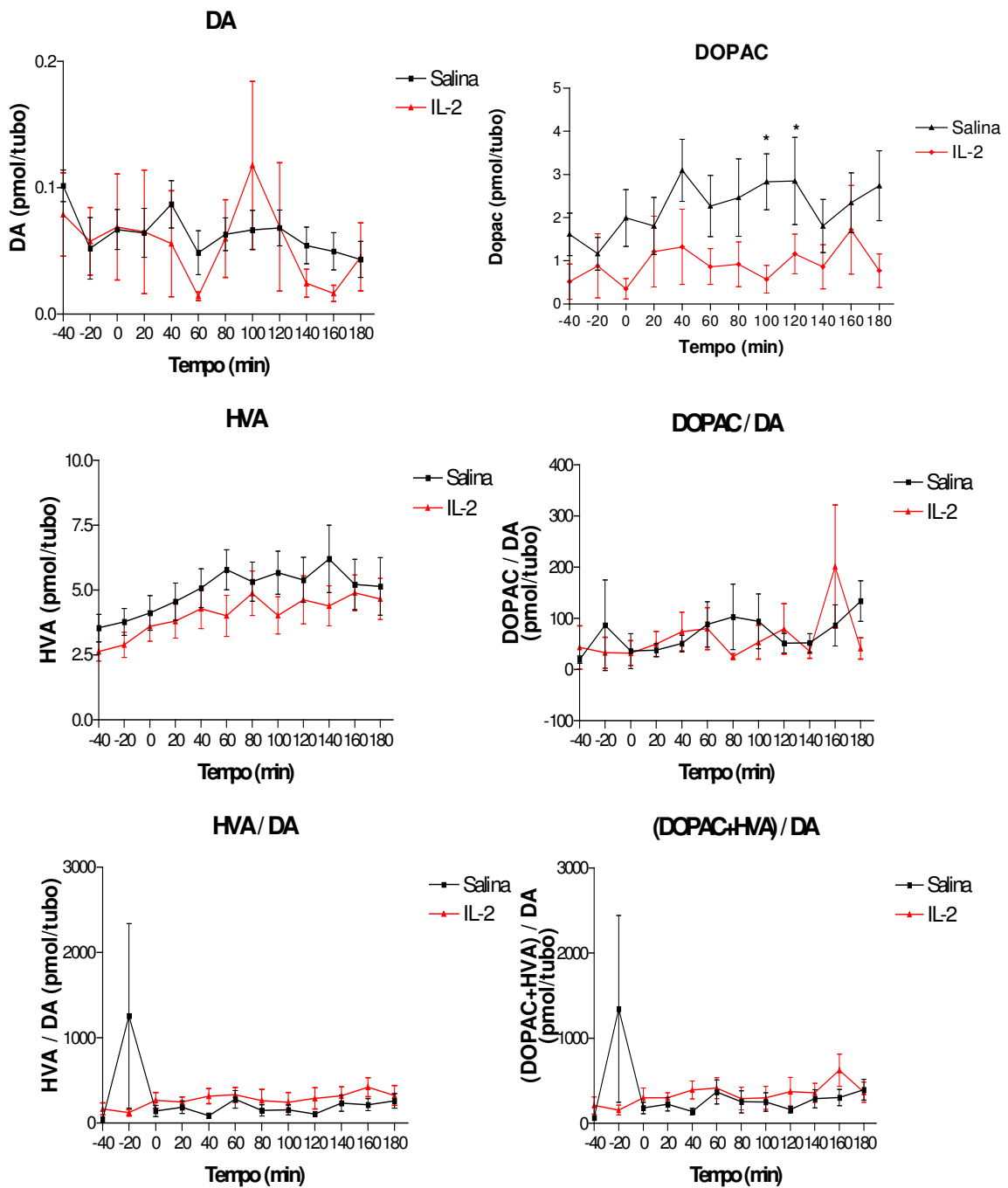


Figura 4: Efeito da administração de IL-2 nos valores absolutos de DA, DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HVA/DA e (DOPAC+HVA)/DA em ratas virgens. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão. n=7 (salina) e n=6 (tratadas); * p < 0,01 em relação ao grupo experimental.

Experimento 4.2: Efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA no N.Ac de ratas virgens (valores relativos).

Resultados

Na Figura 5 ANOVA de duas vias aplicada aos níveis de DA não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/108)}=0,92$; $p=0,51$). O tratamento não alterou os resultados ($F_{(1/108)}=1,63$; $p=0,20$) e o tempo não influenciou este parâmetro ($F_{(9/108)}=0,98$; $p=0,46$).

A ANOVA de duas vias aplicada aos níveis de DOPAC não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/110)}=0,52$; $p=0,86$). O tratamento alterou os resultados ($F_{(1/110)}=7,95$; $p=0,006$) e o tempo não influenciou este parâmetro ($F_{(9/110)}=0,51$; $p=0,87$). O teste t não mostrou diferença significativa entre as ratas tratadas com salina e IL-2.

A estatística aplicada aos níveis de HVA não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/110)}=0,79$; $p=0,63$). O tratamento não influenciou os resultados ($F_{(1/110)}=0,65$; $p=0,42$) e o tempo não alterou este parâmetro ($F_{(9/110)}=1,95$; $p=0,05$).

Em relação aos níveis de DOPAC/DA a análise estatística mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/108)}=2,08$; $p=0,0372$). O tratamento ($F_{(1/108)}=5,59$; $p=0,02$) e o tempo ($F_{(9/108)}=2,07$; $p=0,04$) alteraram este parâmetro. A ANOVA de uma via e o teste t não mostraram diferença significativa no tempo e no tratamento.

Quanto aos níveis de HVA/DA não foi observada a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/108)}=1,24$; $p=0,28$). O tratamento ($F_{(1/108)}=6,05$; $p=0,02$) influenciou o resultado e o tempo ($F_{(9/108)}=1,70$; $p=0,10$) não alterou este parâmetro. O teste t não mostrou diferença significativa entre as ratas tratadas com salina e IL-2.

Finalmente, a análise estatística aplicada aos níveis de (DOPAC+HVA)/DA mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/108)}=2,01$; $p=0,04$). O tratamento ($F_{(1/108)}=6,57$; $p=0,01$) e o tempo ($F_{(9/108)}=2,23$;

p=0,03) influenciaram este parâmetro. O teste t não mostrou diferença significativa entre as ratas tratadas com salina e IL-2.

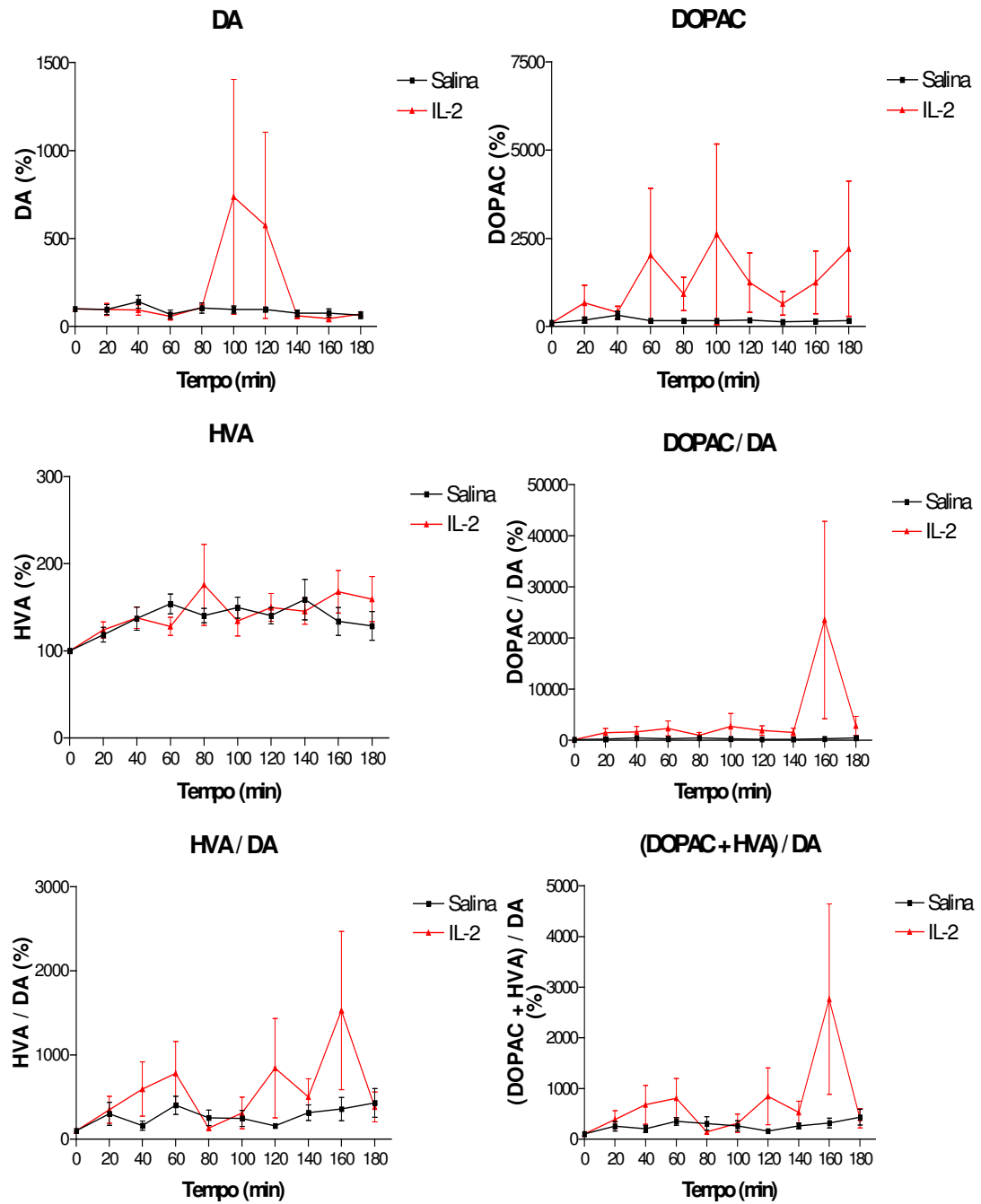


Figura 5: Efeito da administração de IL-2 nos valores relativos de DA, DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HVA/DA e (DOPAC+HVA)/DA em ratas virgens. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão. n=7 (salina) e n=6 (tratadas).

5.4 PARTE 3: EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE INTERLEUCINA-2 NA ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO, NO COMPORTAMENTO MATERNAL E NA LIBERAÇÃO *IN VIVO* DE DOPAMINA EM *NUCLEUS ACCUMBENS* DE RATAS LACTANTES.

Experimento 5: Efeitos da administração sistêmica de IL-2 sobre a atividade geral de ratas lactantes avaliadas em campo aberto.

Delineamento experimental

No dia 5 da lactação as ratas foram avaliadas quanto à atividade geral em campo aberto durante um período de 5 minutos, após 1h45 das administrações de IL-2 (7 ratas) ou solução salina a 0,9% (7 ratas) de acordo com o item 3.4 de Materiais e Métodos.

Resultados

A Tabela 3 mostra os resultados referentes aos efeitos da administração sistêmica de 1µg/animal de IL -2 na atividade geral de ratas observadas em campo aberto. O teste t não mostrou diferença estatisticamente significativa entre nenhum dos grupos com relação à frequência de locomoção ($p=0,46$), frequência de levantar ($p=0,30$), duração de imobilidade ($p=0,71$) e duração de *grooming* ($p=0,30$).

Tabela 3: Efeitos da administração sistêmica de 1µg/animal de IL-2 na atividade geral de ratas lactantes, observadas em campo aberto. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão; () = número de animais.

	Salina (7)	IL-2 (7)
Locomoção (frequência)	79 ± 16,69	97 ± 15,74
Levantar (frequência)	10 ± 1,65	129 ± 1,50
Imobilidade (segundos)	46 ± 21,65	37 ± 11,43
Self-grooming (segundos)	44 ± 25,10	16 ± 7,26

O teste t não indicou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Experimento 6: Efeitos da administração sistêmica de IL-2 sobre o CM de ratas lactantes.

Delineamento Experimental

As mesmas ratas do experimento 5, no dia 6 da lactação foram avaliadas quanto ao CM durante 30 minutos, que continuou sendo observado a cada 15 minutos por 3 vezes consecutivas, conforme o item 3.5 de Materiais e Métodos.

Resultados

A Tabela 4 mostra que o tratamento com IL-2 não influenciou a latência de busca do 1º filhote ($p>0,81$), 2º filhote ($p>0,82$), 3º filhote ($p>0,94$), 4º filhote ($p>0,35$), 5º filhote ($p>0,41$), 6º filhote ($p>0,99$) e 7º filhote ($p>0,99$). As Tabelas 5 e 6 mostram que não houve diferenças estatisticamente significantes entre o escore de agrupamento total ($p=0,06$), número de filhotes agrupados ($p=0,33$), período de *grooming* dos filhotes ($p=0,84$), período de *self-grooming* ($p=0,80$), período de cifo ($p=0,91$), presença do CMT após 15, 30 e 45 minutos do término da observação do comportamento ($p=1,00$), frequência do *maternal bout* ($p=0,60$) e período do *maternal bout* ($p=0,25$). Já a porcentagem de mães que realizaram agrupamento total de filhotes ($p>0,0001$) e a porcentagem de filhotes agrupados ($p=0,0063$) foi significativamente menor no grupo tratado com IL-2.

Tabela 4: Efeitos da administração de 1µg/animal de IL-2 na latência em segundos para busca de filhotes. São apresentadas as médias e erros-padrão; () = número de animais.

Latência de Busca	Salina	IL-2
1º filhote	23,17 ± 9,08 (6)	31,50 ± 35,28 (6)
2º filhote	30,33 ± 7,84 (6)	42,17 ± 14,61 (6)
3º filhote	52,00 ± 6,00 (6)	52,00 ± 11,41 (6)
4º filhote	67,18 ± 6,41 (6)	51,00 ± 14,10 (4)
5º filhote	87,00 ± 17,71 (5)	67,00 ± 18,61 (4)
6ºfilhote	99,2 ± 21,71 (5)	103,33 ± 47,81 (3)
7ºfilhote (=TODOS)	145,75 ± 45,99 (4)	144,67 ± 59,31 (3)

O teste t não indicou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Tabela 5: Efeitos da administração de 1µg/animal de IL-2 nos parâmetros relacionados ao agrupamento de filhotes e *grooming*. São apresentadas as médias e erros-padrão; () = número de ratas.

	Salina	IL-2
Escore – agrupamento total	2 ± 0,68 (6)	5 ± 1,26 (6)
Filhotes agrupados	7 ± 0,86 (7)	6 ± 0,94 (6)
% agrupamento total	44%	17%**
% filhotes agrupados	45%	37%*
<i>Grooming</i> filhotes (s)	274,00 ± 66,19 (5)	253,20 ± 45,13 (5)
<i>Self-grooming</i> (s)	74,50 ± 24,65 (6)	85,17 ± 31,77 (6)

Teste t ou Fisher. * p < 0,01 em relação ao grupo salina; ** p = 0,0001 em relação ao grupo salina

Tabela 6: Efeitos da administração de 1µg/animal de IL-2 na cifose, no CMT e no *maternal bout*. São apresentadas as médias e erros-padrão; () = número de animais.

	Salina	IL-2
	(7)	(6)
Período de cifose (segundos)	1013,2 ± 174,98	850,50 ± 232,59
	(6)	(4)
CMT	72%	50%
CMT 15'	80%	100%
CMT 30'	80%	100%
CMT 45'	80%	100%
<i>Maternal bout</i> (frequência)	13 ± 1,05	15 ± 3,19
	(6)	(5)
<i>Maternal bout</i> (segundos)	1544,5 ± 83,57	1203,2 ± 238,27
	(6)	(5)

O teste t não indicou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Experimento 7 Efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA no N.Ac de ratas lactantes. Neste experimento são apresentados os dados de um mesmo experimento de duas formas: valores absolutos (Experimento 7.1) e relativos (Experimento 7.2)

Experimento 7.1: Efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA no N.Ac de ratas lactantes (valores absolutos).

Delineamento Experimental

Um total de 9 ratas tiveram seus níveis *in vivo* de DA dosados a partir da microdiálise, sendo 4 tratadas com salina e 5 tratadas com IL-2. Em seguida, as ratas foram perfundidas para que se confirmasse a localização das cânulas. Somente os dados de ratas com confirmação do local da cânula foram considerados para análise.

Resultados

A Figura 6 revela que a ANOVA de duas vias aplicada aos níveis de DA não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com IL-2 ($F_{(11/84)}=0,62$; $p=0,81$). O tratamento ($F_{(1/84)}=0,20$; $p=0,66$) e o tempo ($F_{(11/84)}=0,43$; $p=0,94$) não influenciaram este parâmetro.

A análise estatística aplicada aos níveis de DOPAC não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/84)}=0,93$; $p=0,52$). O tratamento ($F_{(1/84)}=0,20$; $p=0,66$) e o tempo ($F_{(11/84)}=0,94$; $p=0,51$) não influenciaram este parâmetro.

Em relação aos níveis de HVA não observou-se a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/84)}=0,32$; $p=0,98$). O tratamento ($F_{(1/84)}=0,82$; $p=0,37$) e o tempo ($F_{(11/84)}=0,20$; $p=0,99$) não influenciaram este parâmetro.

Da mesma forma os níveis de DOPAC/DA não mostraram a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/84)}=1,10$; $p=0,37$). O tratamento ($F_{(1/84)}=1,39$; $p=0,24$) e o tempo ($F_{(11/84)}=0,63$; $p=0,80$) não influenciaram este parâmetro.

Já os níveis de HVA/DA não revelaram a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/84)}=0,65$; $p=0,78$). O tratamento ($F_{(1/84)}=3,36$; $p=0,07$) e o tempo ($F_{(11/84)}=0,21$; $p=0,99$) não influenciaram este parâmetro.

Finalmente, aos níveis de (DOPAC+HVA)/DA não revelaram a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(11/84)}=0,93$; $p=0,51$). O tratamento ($F_{(1/84)}=3,69$; $p=0,06$) e o tempo ($F_{(11/84)}=0,28$; $p=0,99$) não influenciaram este parâmetro.

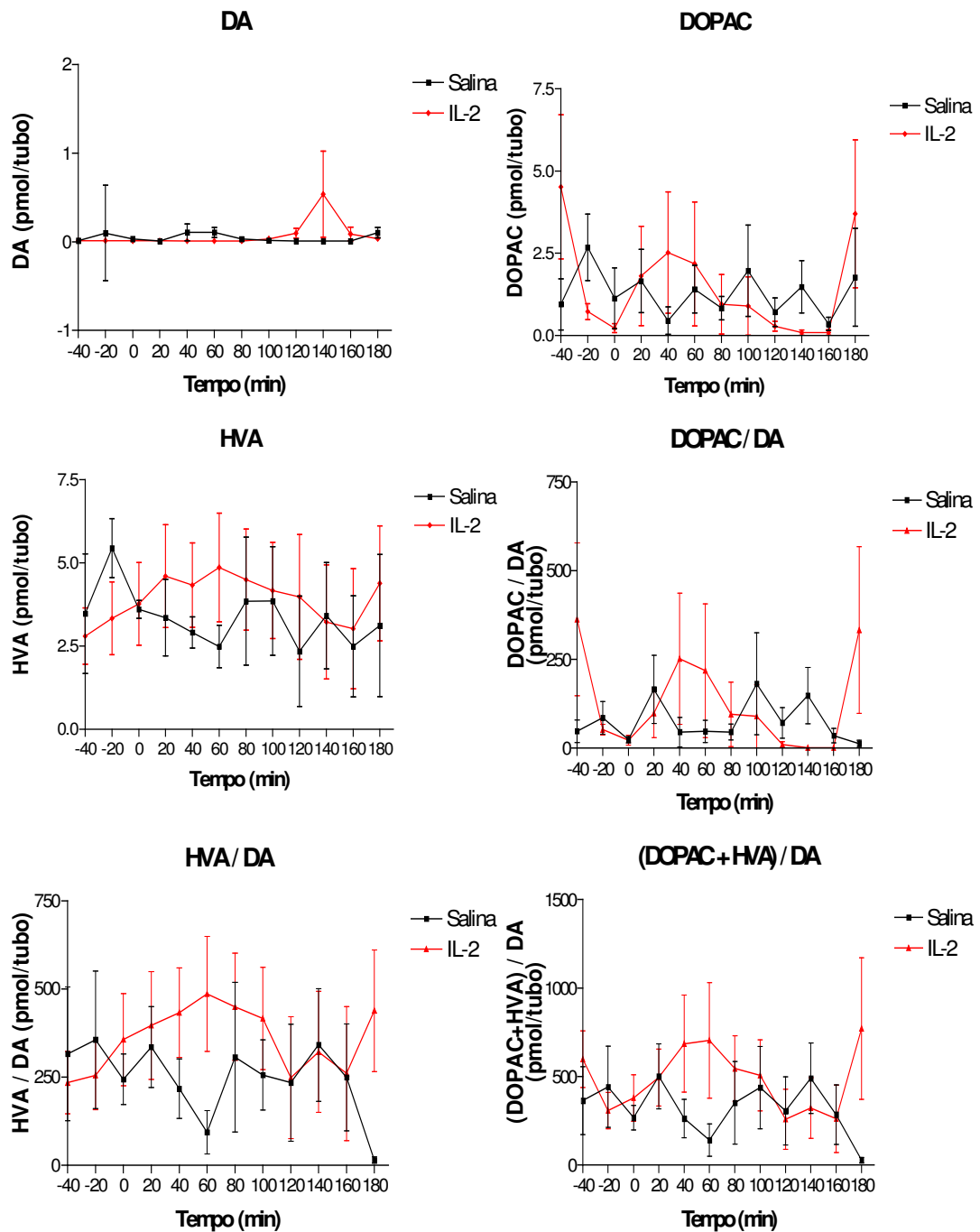


Figura 6: Efeito da administração de IL-2 nos valores absolutos de DA, DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HVA/DA e (DOPAC+HVA)/DA em ratas lactantes. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão. n=5 (salina) e n=4 (tratadas).

Experimento 7.2: Efeitos da administração sistêmica de IL-2 na liberação *in vivo* de DA no N.Ac de ratas lactantes (valores relativos).

Resultados

A Figura 7 revela que a ANOVA de duas vias aplicada aos níveis de DA não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(8/63)}=1,19$; $p=0,32$). O tratamento ($F_{(1/63)}=0,84$; $p=0,36$) e o tempo ($F_{(8/63)}=0,58$; $p=0,79$) não influenciaram este parâmetro.

A análise estatística aplicada aos níveis de DOPAC não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(8/63)}=0,61$; $p=0,77$). O tratamento ($F_{(1/63)}=0,71$; $p=0,40$) e o tempo ($F_{(8/63)}=0,66$; $p=0,72$) não influenciaram este parâmetro.

Em relação aos níveis de HVA não foi mostrada a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/70)}=0,19$; $p=0,99$). O tratamento alterou o resultado ($F_{(1/70)}=6,90$; $p=0,01$), e o tempo não influenciou este parâmetro ($F_{(9/70)}=0,32$; $p=0,97$). O teste t não mostrou diferença significativa entre as ratas tratadas com salina e IL-2.

Quanto aos níveis de DOPAC/DA a análise estatística não mostrou a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/70)}=1,14$; $p=0,35$). O tratamento ($F_{(1/70)}=1,10$; $p=0,30$) e o tempo ($F_{(9/70)}=0,57$; $p=0,82$) não influenciaram este parâmetro.

Da mesma forma, os níveis de HVA/DA não revelaram a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/70)}=1,07$; $p=0,40$). O tratamento ($F_{(1/70)}=1,75$; $p=0,19$) e o tempo ($F_{(9/70)}=1,12$; $p=0,36$) não influenciaram este parâmetro.

Finalmente os níveis de (DOPAC+HVA)/DA não revelaram a existência de interação entre o tempo pós-administração e o tratamento com a IL-2 ($F_{(9/70)}=1,00$; $p=0,45$). O tratamento ($F_{(1/70)}=2,60$; $p=0,11$) e o tempo ($F_{(9/70)}=1,00$; $p=0,45$) não influenciaram este parâmetro.

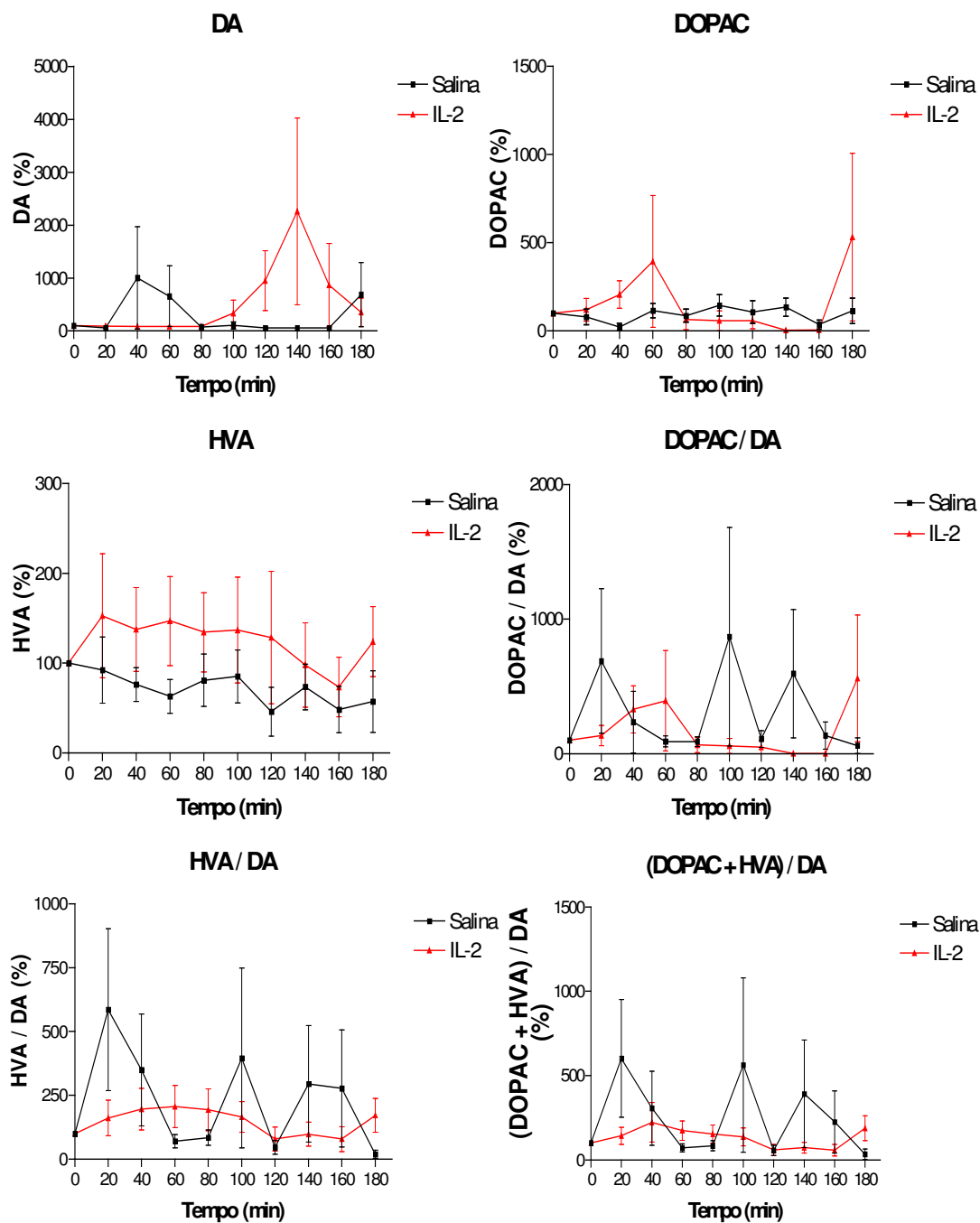


Figura 7: Efeito da administração sistêmica de IL-2 nos valores relativos de DA, DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HVA/DA e (DOPAC+HVA)/DA em ratas lactantes. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão. n=5 (salina) e n=4 (tratadas).

5.5 PARTE 4: EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE INTERLEUCINA-2 NA ATIVIDADE GERAL EM CAMPO ABERTO, NO COMPORTAMENTO MATERNAL E NA AGRESSIVIDADE MATERNAL DE RATAS LACTANTES.

Experimento 8: Efeitos da administração de IL-2 em N.Ac na atividade geral em campo aberto de ratas lactantes.

Delineamento experimental

Vinte e uma ratas foram divididas em dois grupos iguais (salina=10 e IL-2=11). No dia 5 da lactação as ratas do grupo experimental receberam a IL-2 em N.Ac (0,1 μ /animal) e as do grupo controle solução salina a 0,9%. Após 30 minutos da administração nos dois grupos, foi feita a observação da atividade geral no campo aberto, como descrito no item 3.5 de Materiais e Métodos.

Resultados

A Tabela 7 mostra os resultados referentes aos efeitos da administração de 1 μ g/animal de IL-2 na atividade geral de ratas lactantes observadas na atividade geral em campo aberto. O teste t não mostrou diferença estatisticamente significativa entre nenhum dos grupos tratados com relação à frequência de locomoção ($p=0,49$), frequência de levantar ($p=0,14$), duração de imobilidade ($p=0,08$) e duração de *grooming* ($p=0,18$).

Tabela 7: Efeitos da administração de 1µg/animal de IL-2 em N.Ac na atividade geral de ratas lactantes, observadas em campo aberto. São apresentados os valores das médias e dos erros-padrão; () = número de ratas.

	Salina	IL-2
	(10)	(11)
Locomoção (frequência)	85 ± 8,57	95 ± 12,48
Levantar (frequência)	10 ± 1,33	13 ± 1,30
Imobilidade (segundos)	82 ± 14,74	49 ± 7,77
<i>Self-grooming</i> (segundos)	48 ± 16,39	21 ± 6,62

O teste t não indicou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Experimento 9: Efeitos da administração de IL-2 em N.Ac no CM em ratas.

Delineamento experimental

No dia 6 da lactação, vinte ratas foram divididas em dois grupos, sendo que as ratas do grupo experimental (n=9) receberam a IL-2 (0,1 µg/animal) e as do grupo controle (n=11) solução salina a 0,9%. As ratas foram avaliadas quanto ao CM durante 30 minutos, e observadas novamente após 45 e 60 minutos, conforme o item 3.5 de Materiais e Métodos.

Resultados

A tabela 8 mostra que o tratamento com IL-2 aumentou a latência de busca do 1º filhote (p=0,02) e do 2º filhote (p=0,04), no entanto, não influenciou significativamente a latência de busca dos: 3º filhote (p=0,19), 4º filhote (p=0,77), 5º filhote (p=0,59), 6º filhote (p=0,93), 7º filhote (p=0,65) e 8º filhote (p=0,94). A tabela 9 mostrou que a porcentagem de mães que realizaram agrupamento total de filhotes (p<0,0001) e a porcentagem de filhotes agrupados (p=0,05) foi significativamente menor no grupo experimental. Já a tabela 10 mostra que não houve diferenças estatisticamente significantes entre frequência do *maternal bout* (p=0,40); períodos de *maternal bout* (p=0,37), de *grooming* dos filhotes (p=0,79) e de *self-grooming* (p=0,82).

Tabela 8: Efeitos da administração em N.Ac de 1µg/animal de IL-2 na latência para busca de filhotes. São apresentadas as médias e erros-padrão da latência (em segundos) para a busca de cada filhote; () = número de ratas.

Latência de Busca	Salina	IL-2
1º filhote	18,63 ± 3,38 (11)	42,33 ± 9,56* (9)
2º filhote	27,63 ± 4,63 (11)	46,00 ± 8,65* (9)
3º filhote	48,54 ± 2,71 (11)	56,66 ± 5,81 (8)
4º filhote	60,44 ± 5,50 (9)	62,75 ± 5,97 (7)
5º filhote	75,00 ± 4,40 (7)	79,25 ± 6,10 (5)
6º filhote	99,85 ± 14,70 (7)	97,6 ± 26,78 (4)
7º filhote	129,80 ± 21,56 (7)	126,00 ± 15,26 (2)
8º filhote	142,00 ± 18,031 (7)	140,50 ± 7,83 (2)

Teste t. * p < 0.05 em relação ao grupo salina

Tabela 9: Efeitos da administração de 1µg/animal de IL-2 nos parâmetros: Porcentagens de ratas que apresentaram CM Total (CMT) e de filhotes agrupados. São apresentadas as médias e erros-padrão; () = número de ratas.

Parâmetros	Salina	IL-2
Porcentagem de ratas que apresentaram (CMT)	63%	55%
Porcentagem de ratas que agruparam todos os filhotes	63%	22%**
Porcentagem de filhotes agrupados	44%	22%*

Teste t. * $p < 0.05$ em relação ao grupo salina; ** $p < 0.0001$ em relação ao grupo salina

Tabela 10: Efeitos da administração de 1 µg/animal de IL-2 nos parâmetros: Frequência do *maternal bout*, Períodos de *maternal bout*, de *grooming* dos filhotes e de *self-grooming*. São apresentadas as médias e erros-padrão; () = número de ratas.

Parâmetros	Salina	IL-2
Frequência do <i>maternal bout</i>	16 ± 2,08 (11)	19 ± 3,56 (9)
Período de <i>maternal bout</i>	1732,20 ± 91,87 (11)	1403,71 ± 378,65 (9)
Período de <i>grooming</i> dos filhotes	301,00 ± 47,31 (11)	284,38 ± 35,10 (9)
Período de <i>self-grooming</i> .	82,73 ± 21,52 (8)	90,17 ± 25,60 (8)

O teste t não indicou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Experimento 10: Efeitos da administração de IL-2 em N.Ac na agressividade maternal em ratas.

Delineamento experimental

Dezenove ratas foram divididas em dois grupos iguais (salina=9 e IL-2=10). No dia 9 da lactação as ratas do grupo experimental receberam a IL-2 (0,1 µg/animal) e as do grupo controle solução salina a 0,9%. As ratas foram avaliadas quanto a agressividade maternal durante 10 minutos conforme o item 3.6 de Materiais e Métodos.

Resultados

A tabela 11 mostra que o tratamento com IL-2 aumentou o número de ataques da rata para com o intruso ($p=0,03$), mas não alterou a latência para primeiro ataque ($p=0,44$), tempo de briga ($p=0,21$) e interação entre a rata e o intruso ($p=0,78$).

Tabela 11: Efeitos da administração de 1µg/animal de IL-2 na agressividade materna. São apresentadas as médias e erros-padrão; () = número de ratas.

Parâmetros	Salina	IL-2
Latência para primeiro ataque (seg)	25,32 ± 8,21 (9)	16,43 ± 7,9 (10)
Número de ataques	28 ± 4,63 (9)	49 ± 7,41* (10)
Tempo de briga (seg)	48,54 ± 2,71 (9)	56,66 ± 5,81 (10)
Interação entre a rata e o intruso (seg)	60,44 ± 5,50 (9)	62,75 ± 5,97 (10)

Test t. * p < 0.05 em relação ao grupo salina.

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho, observou-se no experimento 1, redução dos parâmetros locomoção e levantar na atividade geral em campo aberto em ratas lactantes, quando comparadas a ratas virgens. Isso reflete uma possível alteração em vias dopaminérgicas centrais que alteraram a parte motora ou motivacional das ratas. Por outro lado, o experimento 2 não mostrou alterações na neuroquímica de DA e seus metabólitos em N.Ac, sugerindo que a lactação não seja um fator que modifique os níveis de DA e metabólitos nesta região cerebral, portanto não deverá por esta via, ocasionar alterações comportamentais provenientes da neurotransmissão em N.Ac.

A partir destes dados, realizamos os experimentos seguintes no intuito de revelar possíveis efeitos do tratamento com IL-2 em diferentes comportamentos, assim como na liberação de DA em N.Ac.

O cuidado maternal é um comportamento complexo, espontâneo e com características espécie-específicas determinado por modificações fisiológicas que ocorrem pouco antes ou logo após o parto (NUMAN, 1994; MATTSON et al., 2001). Durante este período especial, o principal objetivo do comportamento da rata é garantir a sua sobrevivência e dos seus filhotes. Em função disso, muitos comportamentos são inibidos e a rata se dedica incondicionalmente a sua prole (YIM JÚNIOR, 2001).

Por outro lado, num cenário de busca compulsiva por drogas de abuso, o único interesse está em procurar e consumir a droga enquanto que outros comportamentos se tornam irrelevantes (KINSLEY et al., 1994).

A morfina, que também é uma droga que pode causar dependência e tem sido muito estudada neste contexto (PRZEWLOCKI, 2004). Miranda-Paiva et al. (2001, 2003) verificaram que o tratamento materno com morfina no final da prenhez exacerba o efeito inibitório desta droga sobre o CM durante a lactação. Curiosamente, esse efeito foi específico para o CM, pois, não houve aumento da locomoção dos animais. Assim, os autores propõem que esse fenômeno tenha algumas similaridades com a sensibilização clássica como, por exemplo, padrões de neuroplasticidade induzidos pelos tratamentos prolongados com drogas de abuso que levam a exacerbação determinadas respostas. Por outro lado, o resultado obtido com a morfina

no CM parece estar relacionado com o status hormonal da mãe no final da prenhez (MIRANDA-PAIVA et al., 2001, 2002).

Os resultados deste estudo mostraram que a administração de IL-2 não interferiu na atividade geral em campo aberto, fato observado tanto em tratamentos sistêmicos em ratas virgens (experimento 3) quanto em lactantes (experimento 5), sendo o mesmo observado após a administração de IL-2 em N.Ac (experimento 8). Vários trabalhos mostram que as interleucinas interferem com os sistemas dopaminérgicos (PETITTO et al., 1997; ZALCMAN, 2002). Sabe-se que tratamentos com IL-2 influenciam na atividade de receptores D2 no N.Ac (HANISCH *et al.*, 1997) e que a administração via intraperitoneal de IL-2 inibe a liberação de DA no N.Ac (ANISMAN *et al.*, 1996, 1997; MERALI *et al.*, 1997; SONG et al., 1999). A DA controla funções fisiológicas, como a atividade locomotora (PIJNENBURG; VAN ROSSUM, 1973). A ausência de diferenças entre todos os grupos estudados mostram que o tratamento com IL-2 não ocasionou alterações motoras via sistema dopaminérgico nas ratas.

A DA está envolvida com a fase inicial (HANSEN et al., 1991ab) e de manutenção do CM (STERN; TAYOR, 1991). A respeito do papel dos receptores de DA, foi demonstrado que os receptores D2 são importantes na expressão do CM. Após a injeção de um antisense para o receptor D2 no ventrículo lateral de ratas lactantes, o comportamento de construção de ninho, recuperação e amamentação dos filhotes foi interrompido (CLARKE-HALL et al., 1995).

Os resultados aqui apresentados sugerem ação da IL-2 no CM. Tal efeito foi observado na porcentagem de agrupamento total e porcentagem de filhotes agrupados, sendo que a administração de IL-2 reduziu estes parâmetros (experimento 6 e 9). Estas observações reforçam a hipótese de que receptores centrais de DA são importantes no controle e manutenção do CM durante a lactação. Estudos anteriores demonstraram que o uso do antagonista de receptores D1-D2 haloperidol prejudicou o CM (GIORDANO et al., 1990). Ainda neste sentido, houve aumento significativo de latência de busca de 1º e 2º filhotes no grupo experimental com administração em N.Ac (experimento 9). Este fato corrobora com trabalhos anteriores que demonstram que lesões em N.Ac prejudicaram o comportamento de trazer filhotes para o ninho (HANSEN et al., 1991a), e a administração de antagonistas de receptores de DA haloperidol e do antagonista de

receptores D2 pimozida prejudicam o comportamento de busca, agrupamento de filhotes e reconstrução do ninho. Ainda, os efeitos da pimozida no CM foram menos acentuados que os observados pelo uso do haloperidol (SILVA, 2000; SILVA et al., 2001, 2003). A administração bilateral do antagonista D2 pimozida no N.Ac reduz o CM de forma dose-dependente. Este dado reforça a proposta de que o bloqueio de receptores de DA inibe o CM (GIORDANO et al., 1990; KEER; STERN, 1999; CLARKE-HALL et al., 1995), sugerindo que os receptores D2 mesolímbicos participam da manutenção do mesmo (SILVA, 2000; SILVA et al., 2001, 2003). No experimento 6 e 9 confirmamos as observações anteriores, sugerindo e reforçando um importante papel da DA no agrupamento de filhotes.

A administração de pimozida prejudica o CM, porém não altera a atividade geral em campo aberto (SILVA, 2000). Tal fato foi corroborado com os presentes resultados, nos quais observamos que a IL-2, que assim como a pimozida atuando em receptores D2, prejudicou o CM, porém não interferiu com a atividade geral em campo aberto (experimentos 3, 5 e 8). Frente a esses resultados, é possível sugerir uma função para os receptores D2 no CM independente de alterações neuro-motoras. Possivelmente, este efeito se relacione com o estado motivacional e fisiológico maternos. Esta observação corrobora com o fato da DA influenciar motivações via sistema mesolímbico, principalmente em N.Ac (ROBBINS; EVERITT, 1996; WILLNER et al., 1991).

Além disso, a DA parece estar relacionada ao CM (GIORDANO et al., 1990; KINSLEY et al., 1994; NUMAN; NAGLE, 1983; VERNOTICA et al., 1996) e também com a secreção de prolactina (BEN-JONATHAN, 1996; BEN-JONATHAN et al., 1979). A prolactina por sua vez, desempenha um papel importante estimulando a manutenção do cuidado materno (BRIDGES, 1990; BRIDGES et al., 1985). Pode-se ainda especular a respeito da possibilidade da administração de IL-2 influenciar a secreção de prolactina, tendo como consequência as alterações comportamentais relatadas no presente trabalho.

Em relação ao comportamento agressivo, a administração de IL-2 aumentou o número de ataques. O Este comportamento contra um intruso é parte do complexo sistema de comportamentos que fazem contemplam o CM dos mamíferos (ERSKINE et al., 1978; NUMAN, 1994; ROSENBLATT et al., 1994; NUMAN and INSEL, 2003), o que

pode confirmar a alteração de parâmetros atribuídos ao CM (busca de primeiro e segundo filhote) quanto ao agressivo (ataque ao intruso). O N.Ac é uma região repleta de vias dopaminérgicas. Além disso, diversos autores afirmam que a DA modula o comportamento agressivo e defensivo (GARATTINI et al., 1967; LOUILOT et al., 1986; OLIVIER et al., 1987; ALMEIDA ; LUCION, 1997; BOER et al., 1999; VOLAVKA, 1999). Em ratas lactantes observou-se um aumento da agressividade maternal nas ratas tratadas com cocaína, um agonista dopaminérgico (JOHNS et al., 1998; ELLIOT et al., 2001). Através do método de microdiálise, constatou-se também que do início ao final do ato agressivo há um aumento de DA no N.Ac de ratas lactantes.

Tratamentos com IL-2 influenciam a ligação de receptores D1 e D2 no córtex frontal e/ou D2 no N.Ac (HANISCH et al., 1997). Além de influenciar a atividade dopaminérgica central, a IL-2 induz modificações comportamentais que se associam às alterações em processos dopaminérgicos centrais (ZALCMAN, 2002). A administração sistêmica (injeções intraperitoneais) de IL-2 inibe a liberação de DA no N.Ac, reduzindo os níveis de DA intersticial (ANISMAN et al., 1996, 1997; MERALI et al., 1997; SONG et al., 1999).

A injeção sistêmica de IL-2 reduziu a liberação de DA e DOPAC no N.Ac (ANISMAN et al., 1996), sendo este efeito mais evidente após 2 horas da administração. Esta observação foi reforçada parcialmente pelo experimento 4.1., o qual demonstrou que o valor absoluto de DOPAC após 100 e 120' da administração de IL-2 em ratas virgens. Tais fatos indicariam uma redução da atividade dopaminérgica. Para melhor avaliar esta hipótese, já que os erros-padrão foram grandes, o efeito da IL-2 na neuroquímica destas ratas foi observado a partir dos valores relativos. Para isso, no experimento 4.2., foi avaliada a neuroquímica de ratas virgens após administração sistêmica de IL-2, na qual não foram observadas alterações em DA ou seus metabólitos. Tais fatos sugerem que 1µg/animal não alterou a atividade dopaminérgica destas ratas. Apesar dos resultados absolutos e relativos não estarem de acordo entre si, os valores relativos parecem indicar resultados mais confiáveis. Essa hipótese é reforçada pela tendência dos níveis de DA, DOPAC e HVA se mostrarem diminuídos no grupo tratado com IL-2, sendo isto observado em relação a DA principalmente aos 100 e 120'. Este fato foi constatado tanto nas ratas virgens quanto nas lactantes. Apesar de não

significantes estatisticamente, os resultados são coerentes entre si e foram observados em todos os casos. Além disso, é possível que isso seja um indicador de que a dose utilizada nos experimentos não tenha sido suficiente para gerar diferença estatisticamente significativa. Além disso, o fato de os níveis de DA se encontrarem muito próximos do limite de detecção do aparelho, dificulta a observação de possíveis diferenças estatisticamente significantes.

Da mesma forma os experimentos 7.1. e 7.2. avaliaram os valores absolutos e relativos de DA e metabólitos em ratas lactantes após administração sistêmica de IL-2. Neste caso não foi detectada qualquer alteração neuroquímica. Sendo assim, sugere-se que a administração sistêmica da dose de IL-2 na dose estudada não influencia de forma significativa os níveis de DA e seus metabólitos em N.Ac.

Os resultados como um todo sugerem a IL-2, na dose aqui estudada, seja capaz de induzir alterações motivacionais em fêmeas. Embora os dados neuroquímicos não tenham revelado alterações significantes, a possibilidade da IL-2 alterar a dinâmica de neurotransmissão dopaminérgica, no N.Ac de fêmeas em lactação, ainda não pode ser descartada.

7 CONCLUSÕES

- As ratas lactantes apresentaram redução dos parâmetros locomoção e levantar na atividade geral em campo aberto, porém não apresentaram alterações nos níveis de DA e metabólitos em N.Ac, quando comparadas às ratas virgens.
- Em todos os grupos observados quanto à atividade geral em campo aberto, a administração de IL-2 não alterou nenhum dos parâmetros avaliados, mostrando a ausência de alterações motoras via sistema dopaminérgico.
- A administração sistêmica e em N.Ac de IL-2 reduziu as porcentagens de agrupamento total de filhotes e filhotes agrupados de ratas lactantes. Além disso, a administração de IL -2 em N.Ac aumentou as latências de busca do primeiro e segundo filhotes.
- Houve redução do valor absoluto de DOPAC após 100 e 120' da administração sistêmica de IL-2 em ratas virgens. Este achado corrobora a idéia de que o IL-2 altera a atividade da sinapse dopaminérgica.
- A administração de IL -2 em N.Ac alterou o comportamento agressivo materno, aumentando a quantidade de ataques ao intruso.
- Em ratas lactantes não foram observadas alterações neuroquímicas devido à administração de IL-2.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. R. M. M.; LUCION, A.B. 8-OH-DPAT in the median raphe, dorsal periaqueductal gray and corticomedial amygdala nucleus decreases, but the medial septal area it can increase maternal aggressive behavior in rats. **Psychopharmacology**, v. 134, p. 392–400, 1997.
- ANISMAN, H.; BOROWSKI, T.; KOKKINIDIS, L.; MERALI, Z. Differential effects of interleukin (IL)-1 β , IL-2 and IL-6 on responding for rewarding lateral hypothalamic stimulation. **Brain Res.**, v. 779, n. 1-2, p. 177-187, 1998.
- ANISMAN, H.; KOKKINIDIS, L.; MERALI, Z. Interleukin-2 decreases accumbal dopamine efflux and responding for rewarding lateral hypothalamic stimulation. **Brain Res.**, v. 731, n. 1-2, p. 1-11, 1996.
- ANISMAN, H.; ZALCMAN, S.; ZACHARKO, R. M. The impact of stressors on immune and central neurotransmitter activity: bidirectional communication. **Rev. Neurosci.**, v. 4, p. 147-180, 1993.
- BEN-JONATHAN, N. Editorial: dopamine and prolactin - an imperfect duo in circadian rhythmicity. **Endocrinology**, v. 137, p. 3619-3620, 1996.
- BEN-JONATHAN, N.; ARBOGAST, L. A.; HYDE, J. F. Neuroendocrine regulation of prolactin release. **Prog. Neurobiol.**, v. 33, p. 399-477, 1979.
- BESEDOVSKY, H. O. ; DEL REY, A. Physiological implications of the immune-neuroendocrine network. In: ADER, R.; FELTEN, D. L. ; COHEN, N. (Ed.). **Psychoneuroimmunology**. San Diego: Academic Press, 1991. p. 589-608.
- BJÖRKLUND, A.; LINDVALL, O. Catecholaminergic brain stem regulatory systems. In: Bloom, F.E. (Ed.). **Handbook of Physiology**. Bethesda: American Physiology Society, 1986, p. 155-236.
- BLALOCK, J. E. The syntax of immune-endocrine communication. **Immunol. Today**, v. 15, p. 504-544, 1994.
- BOER, D. S. F.; LESOURD, M.; MOCAER, E.; KOOLHAAS, J.M. Selective antiaggressive effects of alnespirone in resident-intruder test are mediated via 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors: a comparative pharmacological study with 8-hydroxy-2-dipropylaminotetralin, ipsapirone, buspirone, eltoprazine, and WAY-100635. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 288, p. 1125–1133, 1999.
- BRIDGES, R. S. Retention of rapid onset of maternal behavior during pregnancy in primiparous rats. **Behav. Biol.**, v. 24, n.1, p. 113-117, 1978.

BRIDGES, R. S. Endocrine regulation of parental behavior in rodents. In: KRASNEGOR, N. A. & BRIDGES, R. S. (Ed.) **Mammalian parenting: biochemical, neurobiological and behavioral determinants**. New York: Oxford University Press, 1990. p. 93-117.

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

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

BRIDGES, R. S.; FELICIO, L. F.; PELLERIN, L. 3.; STUER, A. M.; MANN, P. E. Prior parity reduces post-coital diurnal and nocturnal prolactin surges in rats. **Life Sciences**, v. 53, p. 439-445, 1993.

BRIDGES, R. S.; HAMMER JR., R. P. Parity-associated alterations of medial preoptic area opiate receptor in female rats. **Brain Research**, v. 578, p. 269-274, 1992.

BRIDGES, R. S.; HENRIQUEZ, B. M.; STURGIS, 3. D.; MANN, P. E. Reproductive experience reduces haloperidol-induced prolactin secretion in females rats. **Neuroendocrinology**, v. 118, p. 1-6, 1997.

BRIDGES, R. S.; MANN, P. E. Prolactin-bram interactions In the induction of maternal behavior in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, n. 5-7, p. 611-622, 1994.

BRIDGES, R. S.; NUMAN, M.; RONSHEIM, P. M.; MANN, P. E.; UJPINI, C. E. Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-[treated, nulliparous female rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, v. 87, n. 20, p. 8003-8007, 1990.

BRIDGES, R. S.; RONSHEIM, P. M. Prolactin (PRL) regulation of maternal behavior in rats: bromocriptine treatment delays and PRL promotes the rapid onset of behavior. **Endocrinology**, v. 126, n. 2, p.837-848, 1990.

BROADHURST, P. L. The place of animal psychology in the development of psychosomatic research. **Fortschr. Psychosom. Med.**, v. 1, n. 63-69, 1960.

CARANDENTE, F.; ANGELI, A.; CANDANIANI, G. B.; CROSIGNANI, P. G.; DAMMACCO, F.; CECCO, L.; MARRAMA, P.; MASSOBRIO, M.; MARTINI, L. Rhythms in the ovulatory cycle. 2 nd: LH, FSH, estradiol and progesterone. **Chronobiologia**, v. 16, p. 353-363, 1989.

- CARRIVE, P. The periaqueductal gray and defensive behavior; functional representation and neural organization. **Behav. Brain Res.**, v. 58, p. 27-47, 1993.
- CLARKE-HALL, Y. M.; ROSENBLATT, J. S.; CREESE, I. A role for dopamine D2 receptors in maternal behaviour in lactating rats. **Soc. Neurosci. Abstr.**, v. 21, p. 364, 1995.
- COHEN, J.; BRIDGES, R. S. Retention of maternal behavior in nulliparous and primiparous rats: effects of duration of previous maternal experience. **J. Comp. Psychol.**, v. 95, p. 450-459, 1981.
- COTE, L.; CRUTCHER, M. D. The basal ganglia. In: KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Principles of Neural Science**. Baltimore: Appietopn & Lange, p. 647-678, 1991.
- DANTZER, R. ; KELLEY, K. W. Stress and immunity: As integrated view of relationships between the brain and the immune system. **Life Sci.**, v. 44, p. 1995-2008, 1989.
- DAY, C.; GALEF, B. Pup cannibalism: One aspect of maternal behavior in golden hamsters. **J. Comp. Psychol.**, v. 91, p. 1179-1189, 1977.
- DE LOS MONTEROS, A. E. Differential PRL response to oral metoclopramide in nulliparous versus multiparous women throughout the menstrual cycle. **Fertil. Steril.**, v. 55, p. 885-889, 1991.
- DEURWAERDÈRE, P.; L'HIRONDEL, M. L; BONHOMME, N.; LUCAS, G.; CHERAMY, A.; SPAMPINATO, U. Serotonin stimulation of 5HT-4 receptors indirectly enhances *in vivo* dopamine release in the rat striatum. **Journal of Neurochemistry**, v. 68, p. 195-203, 1997.
- DICKINSON, C.; KEVERNE, E.B. Importance of noradrenergic mechanisms in the olfactory bulbs for the maternal behaviour of mice. **Physiol. Behav.**, v. 43, p. 313-316, 1988.
- DOHLER, K. D. The pre- and postnatal influence of hormone and neurotransmitter on sexual differentiation of the mammalian hypothalamus. **Int. Rev. Cytol.**; v. 131, p. 1-57, 1991.
- DRUKARCH, B.; STOOF, J. C. D2 dopamine autoreceptor selective drugs: do they really exist? **Life Sci.**, v. 47. p.361-76, 1990.
- DUNN, A. J. Interactions between the nervous system and the immune system. In: BLOOM, F. E. AND KUPFER, D. L. (Ed.). **Psychopharmacology**. New York: The Fourth Generation of Progress. 1995, p. 719-731.

EHINGER, B. Biogenic monoamines as transmitter in the retina. In: **Symposium of retinal neurotransmitters**. Barcelona: Bottinh, 1976.

ELLIOT, J. C.; LUBIN, D. A.; WALKER, C. H.; JOHNS, J. M. Acute cocaine alters oxytocin levels in the medial preoptic area and amygdala in lactating rat dams: implications for cocaine-induced changes in maternal behavior and maternal aggression. **Neuropeptides.**, v. 35, n. 2, p. 127– 134, 2001.

ERSKINE, M. S.; BARFIELD, R. J.; GOLDMAN, B. D. Intraspecific fighting during late pregnancy and lactation in rats and effects of litter removal. **Behav. Biol.**, v. 23, p. 206-218, 1978.

FALLON, J. H. Topographic organization of ascending dopaminergic projections. In: KALIVAS, P.W. & NEMEROFF, C.B. **The Mesocorticolimbic Dopamine System**. New York: Annals of the New York Academy of Sciences, v. 537, p. 1-9. 1988.

FELICIO, L. F.; BRIDGES, R. S. Domperidone induces a probenecid-sensitive rise in immunoreactive prolactin in cerebroventricular perfusates in female rats. **Brain Research**, v. 573, p. 133-138, 1992.

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 Research Bulletin**, v. 40, n. 4, p. 253-256, 1996.

FELICIO, L. F.; MIRANDA, W. L.; NASELLO, A. G. Prolactin levels in male and female rats perinatally treated with bromopride. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 21, p. 133-136, 1988.

FELICIO, L. F.; NASELLO, A. G. Effects of acute bromopride treatment on rat prolactin levels and sexual behavior. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 22, p. 1011-1014, 1989.

FELICIO, L. F.; NASELLO, A. G.; PALERMO-NETO, J. Dopaminergic supersensitivity after long-term bromopride treatment. **Physiol. Behav.**, v. 41, p. 433-437, 1987a.

FELICIO, L. F.; PALERMO-NETO, J.; NASELLO, A. G. Sobre a neurotransmissão dopaminérgica central. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 11, n.1, p. 7-16, 1987b.

FELTEN, D. L.; FELTEN, S. Y.; CARLSON, S. L.; OLSCHOWKA, J. A.; LIVNAT, S. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. **J. Immunol.**, v. 135, p. 755-765, 1985.

FINDLAY, A.L.R. Sensory discharges from lactating mammary glands. *Nature*, v. 211, p. 1183-1184, 1966.

FLEMING, A.S.; ROSENBLATT, J.S. Olfactory regulation of maternal behavior in rats: I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 86, p. 221-232, 1974.

FLEMING, A. S.; WALSH, C. Neuropsychology of maternal behavior in the rat: c-fos expression during mother-litter interactions. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, p. 429-443, 1994.

FREEMAN, M. E.; NEILL, S. D. The pattern of PRL secretion during pseudopregnancy in the rat: a daily nocturnal surge. **Endocrinology**, v. 90, p. 1292-1294, 1972.

GANDELMAN, R.; SIMON, N. Spontaneous pup-killing by mice in response to large litters. **Dev. Psychobiol.**, v. 11, p. 235-241, 1978.

GARATTINI, S.; GIACALONE, E.; VALZELLI, L. Isolation, aggressiveness and brain 5-hydroxytryptamine turnover. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 19, p. 338-339, 1967.

GIORDANO, A. L.; JOHNSON, A. E.; ROSENBLATT, J. S. Haloperidol-induced disruption of retrieval behavior and reversal with apomorphine in lactating rats. **Physiol. Behav.**, v. 48, p. 211-214, 1990.

GIORDANO, A. L.; JOHNSON, A. E.; ROSENBLATT, J. S. Haloperidol-induced disruption of retrieval behavior and reversal with apomorphine in lactating rats. **Physiol. Behav.**, v. 48, p. 211-214, 1990.

GRATTAN, E. R. The actions of prolactin in the brain during pregnancy and lactation. In: J. A. Russell; A. J. Douglas; R. J. Windle and C. D. Ingram (Eds.), *The maternal Brain. Neurobiological and Neuroendocrine Adaptation and Disorders in Pregnancy and Post Partum.* **Prog. Brain. Res.**, v. 133, p. 153-171, 2001.

GUBERNICK, D. J.; ALBERTS, J. R. Maternal licking of young: Resource exchange and proximate controls. **Physiol. Behav.**, v. 31, p. 593-601, 1983.

GUBERNICK, D. J.; KLOPFER, P. H. (Eds) **Parental Care in Mammals.** New York: Plenum Press; 1981.

HANISCH, U. K.; NEUHAUS, J.; ROWE, W.; van ROSSUM, D.; MOLLER, T.; KETTENMANN, H. ; QUIRION, R. Neurotoxic consequences of central long-term administration of interleukin-2 in rats. **Neuroscience.**, v. 79, p. 799-818, 1997.

HANSEN, S. Maternal Behavior of female rats with 6-OHDA lesions in the ventral striatum: characterization of the pup retrieval deficit. **Physiol. Behav.**, v. 55, p. 615-620, 1994.

HANSEN, S.; BERGVALL, A. H.; NYIREDI, S. Interaction with pups enhances dopamine release in the ventral striatum of maternal rats: a microdialysis study. **Pharmacol. Biochem. Behav.** Jul;45(3):673-6, 1993.

HANSEN, S.; HARTHON, C. Maternal behavior of female rats with 6-OHDA lesions in the ventral striatum: characterization of the pup retrieval deficit. **Physiol. Behav.**, v. 55, p. 615-620, 1991.

HANSEN, S.; HARTHON, C.; WALLIN, E.; LOFBERG, L.; SWENSSON, K. The effects of 6-OHDA-induced dopamine depletions in ventral ou dorsal striatum on maternal and sexual behavior in the female rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 39, p. 71-7, 1991a.

HANSEN, S.; HARTHON, C.; WALLIN, E.; LOFBERG, L.; SWENSSON, K. Mesotelencephalic dopamine system and reproductive behavior in the female rat: effects of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on maternal and sexual responsiveness. **Behav. Neurosci.**, v. 105, p. 588-598, 1991b.

HEFFNER, T. G.; HARTMAN, J. A.; SEIDEN, L. S. Feeding increases dopamine metabolism in the rat brain. **Science**, v. 208, p. 1168-1170, 1980.

HERNANDEZ, L.; HOEBEL, B. G. Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the *Nucleus accumbens* as measured by microdialysis. **Life Sci.**, v. 42, p. 1705-1712, 1988.

HOPKINS, S. J. and ROTHWELL, N. J. Cytokines and the nervous system. Expression and recognition. **Trends Neurosci.**, v. 18, p. 83-88., 1995.

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.

HULL, E. M.; DU, J.; LORRAIN, D. S.; MATUSZEWICH, L. Extracellular dopamine in the medial preoptic area: implications for sexual motivation and hormonal control of copulation. **J. Neurosci.**, v. 15, p. 7465-71, 1995.

JOHNS, J. M., NELSON, C. J.; METER, K. E.; LUBIN, D. A.; COUCH, C.D.; AYERS, A.; WALKER, C. H. Dose-dependent effects of multiple acute cocaine injections on maternal behavior and aggression in Sprague-Dawley rats. **Dev. Neurosci.**, v. 20, n. 6, p. 525-532, 1998.

KALACHE, A.; MAGUIRE, A.; THOMPSON, S. G. Age at last full-term pregnancy and risk of breast câncer. **The Lancet**, v. 341, p. 33-36, 1993.

KALINICHEV, M.; ROSENBLATT, J. S.; MORRELL, J.I. The medial preoptic área, necessary for adult maternal behavior m rats, is oníy partially

established as a component of the neural circuit that supports maternal behavior in juvenile rats. **Biol. Reprod.**, v. 114, p. 196-210, 2000.

KEER, S. E.; STERN, J. M. Dopamine receptor blockade in the *Nucleus accumbens* inhibits maternal retrieval and licking, but enhances nursing behavior in lactating rats. **Physiol. Behav.**, v. 67, p. 659-669, 1999.

KEVERNE, E. B.; LÉVY, F.; GUEVARA-GUZMAN, R.; KENDRICK, K. M. Influence of birth and maternal experience on olfactory bulb neurotransmitter release. **Neuroscience**, v. 56, n. 3, p. 557-565, 1993.

KINSLEY, C. H.; TURCO, D.; BAÜER, A.; BEVERLY, M.; WELLMAN, J.; GRAHAM, A. L. Cocaine alters the onset and maintenance of maternal behavior in lactating rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 4, p. 857-864, 1994.

KINSLEY, C. H.; BRIDGES, R. S. Parity-associated reduction in behavioral sensitivity to opiates. **Biol. Reprod.**, v. 39, p. 270-278, 1988.

KREHBIEL, D.; POINDRON, P.; LÉVY, F.; PRUD'HOME, M. J. Pentobarbital anesthesia disturbs maternal behavior in primiparous and multiparous parturient ewes. **Physiol. Behav.**, v. 40, n. 4, p. 463-472, 1987.

KWA, H. G.; CLETON, F.; BULBROOK, R. D.; WANG, D. Y.; HAYWARD, J. L. Plasma prolactin levels and breast cancer: relation to parity, weight and height, and age at first birth. **Int. J. Cancer Suppl.**, v. 28, p. 31-34, 1981.

LAMBE, M.; THÖRN, M.; SPARÉN, P.; BERGSTRÖM, R.; ADAMI, H. O. Malignant melanoma: reduced risk associated with early childbearing and multiparity. **Melanoma Research**, v. 6, n. 2, p. 147-153, 1996.

LANE, K. E.; LEAV, I.; ZIAR, J.; BRIDGES, R. S.; RAND, W. M.; HO, S. M. Suppression of testosterone and estradiol-17 β -induced dysplasia in the dorsolateral prostate of Noble rats by bromocriptine. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 8, p. 1505-1510, 1997.

LEE, A.; CLANCY, S.; FLEMING, A. S. Mother rats bar-press for pups: effects of lesions of the MPOA and limbic sites on maternal behavior and operant responding for pup-reinforcement. **Behav. Brain Res.**, v. 108, p. 215-231, 2000.

LERANT, A.; HERMAN, M. E.; FREEMAN, M. C. Dopaminergic neurons of periventricular and arcuate nuclei of pseudopregnant rats: semicircadian rhythm in Fos-related antigens immunoreactivities and in dopamine concentration. **Endocrinology**, v. 137, p. 3621-3628, 1996.

LÉVY, F.; GUEVARA-GUZMAN, R.; HINTON, M. R.; KENDRICK, K. M.; KEVERNE, E. B. Effects of parturition and maternal experience on noradrenaline and acetylcholine release in the olfactory bulb of sheep. **Behav. Neurosci.**, v. 107, p. 662-668, 1993.

LÉVY, F.; KENDRICK, K. M.; GOODE, J. A.; GUEVARA-GUZMAN, R.; KEVERNE, E. B. Oxytocin and vasopressin release in the olfactory bulb of parturient ewes: changes with maternal experience and effects on acetylcholine, γ -aminobutyric acid, glutamate and noradrenaline release. **Brain Res.**, v. 669, p. 197-206, 1995a.

LI, M.; FLEMING, A. S. The *Nucleus accumbens* shell is critical for normal expression of pup-retrieval in postpartum female rats. **Behav. Brain Res.**, v. 145, p. 99-111, 2003.

LINDVALL, O.; BJÖRKLUND, A. The organization of the ascending catecholamines systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. **Acta Physiologica Scandinava**, v. 412, suppl., p. 1-48, 1974.

LONSTEIN, J. S. Effects of dopamine receptor antagonism with haloperidol on nurturing behavior in the biparental prairie vole. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.74, p.11-19, 2002.

LOUILOT, A.; LE MOAL, M.; SIMON, H. Differential reactivity of dopaminergic neurons in the *Nucleus accumbens* in response to different behavioral situations: an *in vivo* voltammetric study in free moving rats. **Brain Res.**, v. 397, p. 395–400, 1986.

MacMAHON, B.; COLE, P.; LIN, T. M.; LOWE, C. R.; MIRRA, A. P.; RAVNIHAR, B. Age at first birth and breast cancer risk. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 42, p. 209-221, 1970.

MANN, P. E.; BRIDGES, R. S. Neural and endocrine sensitivities to opioids decline as a function of multiparity in the rat. **Brain Res.**, v. 580. p. 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.**, v. 34, p. 83-88, 1989.

MANN, P. E.; RUBIN, B. S.; BRIDGES, R. S. Differential proopiomelanocortin gene expression in the medial basal hypothalamus of rats during pregnancy and lactation. **Brain Res. Mol. Brain Res.**, v. 46, n. 1-2, p. 9-16, 1997.

MARCUS, P. M.; NEWCOMB, P. A.; YOUNG, T.; STOER, B. E. The association of reproductive and menstrual characteristics and colon and rectal cancer risk in Wisconsin women. **Annual Epidemiol.**, v. 5, n. 4, p. 303-309, 1995.

MARTH, C.; WINDBICHLER, G.; PETRU, E.; DIRSCHLMAYER, W.; OBERMAIR, A.; CZERWENKA, K.; MÜLLER-HOLZNER, E.; DAPUNT, O. Parity as independent

prognostics factor in malignant mixed mesodermal tumors of the endometrium. **Gynecol. Oncol.**, v. 64, n. 1, p.121-125, 1997.

MATTSON, B.J.; WILLIAMS, S.; ROSENBLATT, J.S, MORRELL, J.I. - Comparison of two positive reinforcing stimuli: pups and cocaine throughout the postpartum period. **Behav. Neurosci.**, v. 115, p. 683-694, 2001.

McCARTHY, M. M.; CURRAN, G. H.; SIEGEL, H. I. Evidence for the involvement of prolactin in the maternal behavior of the hamster. **Physiol. Behav.**, v. 55, p. 181-184, 1994.

MERALI, Z.; LACOSTA, S.; ANISMAN, H. Effects of interleukin-1 β and mild stress on alterations of norepinephrine, dopamine and serotonin neurotransmission: a regional microdialysis study. **Brain Res.**, v. 761, p. 225-235, 1997.

MIRANDA-PAIVA, C. M.; NASELLO, A. G.; YIM, A. J.; FELICIO, L. F. Morphine pretreatment increases opioid inhibitory effects on maternal behavior. **Brain Res. Bull.**, v. 55, n. 4, p. 501-505, 2001.

MIRANDA-PAIVA, C. M.; NASELLO, A. G.; YIN, A. J.; FELICIO, L. F. Puerperal blockade of cholecystinin (CCK1) receptors disrupts maternal behavior in lactating rats. **J. Mol. Neurosci.**, v. 18, p.97-103, 2002.

MIRANDA-PAIVA, C. M.; RIBEIRO-BARBOSA, E. R.; CANTERAS, N. S.; FELICIO, L. F. A role for the periaqueductal grey in opioidergic inhibition of maternal behaviour. **Eur. J. Neurosci.**, v. 18, p.667-674, 2003,

MOFFAT, S. D.; SUH, E. J.; FLEMING, A. S. Noradrenergic Involvement in the consolidation of maternal experience in postpartum rat. **Physiol. Behav.**, v. 53, p. 805-811, 1993.

MOGENSEN, G. P.; JONES, P.; Yim, C. Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. **Prog. Neurobiol.**, v. 14, p. 69-97, 1980.

MOLTZ, H.; ROBBINS, D.; PARKS, M. Caesarian delivery and the maternal behavior of primiparous and multiparous rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 61, p. 455-460, 1966.

MOLTZ, H.; LEVIN, R.; LEON, M. Differential effects of progesterone on the maternal behavior of primiparous and multiparous rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 67, p. 36-40, 1969.

MOLTZ, H.; ROBBINS, D. The maternal behavior of primiparous and multiparous rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 60, p. 417-421, 1965.

MORRELL, J. I.; ROSENTHAL, M. F.; McCABE, J. T.; HARRINGTON, C. A.; CHIKARAISHI, D. M.; PFAFF, D. W. Tyrosine hydroxylase mRNA in the neurons of the tuberoinfundibular region and zona incerta examined after gonadal steroid hormone treatment. **Mol. Endocrinol.**, v. 3, n. 9, p. 1426-1433, 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. Metab.**, v. 64, p.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.**, v. 316, p. 229-234, 1987b.

NASELLO, A. G.; VANZELER, M. L. A.; MADUREIRA, E. H.; FELICIO, L. F. Effects of acute and long-term domperidone treatment on prolactin and gonadal hormone levels and sexual behavior of male and female rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 58, n. 4, p. 1089-1094, 1997.

NEILL, J. D. **The Physiology of Reproduction**. Knobil, E. & Neill, J.D. (eds.), New York: Raven Press, p. 1370-1390, 1988.

NUMAN, M. Maternal behavior, In: KNOBIL, E. ; NEILL, J. **The Physiology of Reproduction** 2^aed., New York: Raven Press, p.221-302, 1994.

NUMAN, M. Medial preoptic área and maternal behavior in the female rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 87, p. 746-759, 1974.

NUMAN, M.; CORODIMAS, K. P.; NUMAN, M. J.; FACTOR, E. M.; PIERS, W. D. Axon-sparing lesions of the preoptic region and substantia innommata disrupt maternal behavior in rats. **Behav. Neurosci.**, v. 102, p. 381-396, 1988.

NUMAN, M.; INSEL, T. R. Hormones, brain and behavior. In: BALL, G. F., BALTHAZART, J., NELSON, R.J. (Ed.). **The neurobiology of Parental Behavior**. Secaucus, NJ: Springer, 2003.

NUMAN, M.; NAGLE, D. S. Preoptic área and substantia nigra interact in the control of maternal behavior in the rat. **Behav. Neurosci.**, v. 97, p.120-139, 1983.

NUMAN, M.; NUMAN, M. J. A lesion and neuroanatomical tract-tracing analysis of the role of the bed nucleus of the stria terminalis in retrieval behavior and other aspects of maternal responsiveness in the rat. **Dev. Psychobiol.**, v. 29, p. 23-51, 1996.

NUMAN, M.; ROSENBLATT, J.S.; KOMISARUK, B.R. Medial preoptic área and onset of maternal behavior in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 91, p. 146-164, 1977.

NUMAN, M.; SMITH, H. G. Maternal behavior in rats: evidence for the involvement of preoptic projections to the ventral tegmental area. **Behav. Neurosci.** v. 98(Aug), n. 4, p. 712-27, 1984.

OLIVER, B.; MOS, J.; VAN DER HEYDEN, J.; SCHIPPER, J.; TULP, M.; BERKELMANS, B.; BEVAN, P. Serotonergic modulation of agonistic behaviour. In Olivier, B. (Ed.), **Ethopharmacology of Agonistic Behaviour in Animals and Humans**. Martinus-Nijhoff, Dordrecht: 1987. p. 162–186.

ORR, R. K.; FRAHER, K. M. Parity associated with axillary nodal involvement in operable breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 34, n. 1, p. 71-76, 1995.

PALERMO-NETO, J. Dopamine system: dopamine receptors. In: MIGUEL, E. C.; SCOTT, L.; LECKMAN, J. F. **The psychiatric Clinics of North America: Neuropsychiatry of the Basal Ganglia**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1997. p.705-721.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. San Diego: Academic Press Inc, 1986.

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. **Hum. Reprod.**, v. 12, n. 2, p. 214-219, 1997.

PATEL, S.; ROBERTS, J.; MOORMAN, J.; REAVILL, C. Localization of serotonin-4 receptors in the striatal pathway in the rat brain. **Neuroscience**, v. 69, n. 4, p. 1159-1167, 1995.

PETITTO, J. M.; McCARTHY, D. B.; RINKER, C. M.; HUANG, Z.; GETTY, T. Modulation of behavioral and neurochemical measures of forebrain dopamine function in mice by species-specific interleukin-2. **J. Neuroim.**, v. 73, n. 1-2, p. 183-90, 1997.

PIJNENBURG, A. J. J.; VAN ROSSUM, J. M. Stimulation of locomotor activity following injection of dopamine into *Nucleus accumbens*. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 25, p. 1003-1005, 1973.

PRZEWLOCKI, R. Opioid abuse and brain gene expression. **Eur. J. Pharmacol.** v. 500, p. 331-349, 2004.

RABIN, B. S.; COHEN, S.; GANGULI, R.; LYSLE, D. T.; CUNNICK, J. E. Bidirectional interaction between the central nervous systems and the immune system. **Crit. Rev. Immunol.**, v. 9, p. 279-312, 1989.

RIVIER, C. Effects of peripheral and central cytokines on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the rat. **Ann. N.Y.Acad. Sci.**, v. 697, p. 97-105, 1993.

RIVEST, S. Molecular mechanisms and neural pathways mediating the influence of interleukin-1 on the activity of neuroendocrine CRF motoneurons in the rat. **Int. J. dev. Neurosci.**, v. 13, p. 135-146, 1995.

ROBBINS, T. W. ; EVERITT, B. J. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. **Curr Opin Neurobiol.** v. 6(Apr), n. 2, p. 228-236, 1996.

ROSENBLATT J. S, FACTOR E, MAYER A. D. Relationship between maternal aggression and maternal care in the rat. **Aggress. Behav.**, v. 20, p. 243-255, 1994.

ROSENBLATT, J. S.; MAYER, A. D.; SIEGEL, H. I. Maternal behavior among the nonprimate mammals. In: ADLER, N.; PFAFF, D.; GOY, R. W. **Handbook of Behavioral neurobiology Reproduction**. New York: Plenum Press, 1985. v. 7, p. 229-298.

SAMUELS, M. H.; BRIDGES, R. S. Plasma prolactin concentrations in parental male and female rats: Effects of exposure to rat young. **Endocrinol.**, v. 113, p.1647-1654, 1983.

SCHULKIN, J. In: **The neuroendocrine regulation of behavior**. London: Cambridge University Press, 1999.

SHEEHAN, T. P.; CIRRITO, J.; NUMAN, M. J.; NUMAN, M. Using c-Fos immunocytochemistry to identify forebrain regions that may inhibit maternal behavior in rats. **Behav. Neurosci.**, v. 114, p. 337-352, 2000.

SHIEH, K. R.; PAN, J. T. Sexual differences in the diurnal changes of tuberoinfundibular dopaminergic neuron activity in the rat: role of cholinergic control. **Biol. Reprod.**, v. 54, n. 5, p. 987-992, 1996.

SHIEH, K. R.; PAN, J. T. Nicotinic control of tuberoinfundibular dopaminergic neuron activity and prolactin secretion: diurnal rhythm and involvement of endogenous opioidergic system. **Brain Res.**, v. 756, p. 266-272, 1997.

SILVA, M. R. P. **O comportamento de ratas lactantes**: Efeitos de antagonistas de receptores de DA. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SILVA, M. R.; BERNARDI, M. M.; FELICIO, L. F. Effects of dopamine receptor antagonists on ongoing maternal behavior in rats. **Pharm. Biochem. Behav**, v. 68, p. 461-468, 2001.

SILVA, M. R. P.; BERNARDI, M. M.; CRUZ- CASALLAS, P. E.; FELÍCIO, L. F. Pimozide injections into the *Nucleus accumbens* disrupt maternal behavior in lactating rats. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 93, p. 42-47, 2003.

- SINHA, D. K.; PAZIK, S. E.; DAO, T. L. Prevention of mammary carcinogenesis in rats by pregnancy: effect of full-term and interrupted pregnancy. **Braz. J. Cancer**, v. 57, p. 390-394, 1988.
- SLOTNICK, B. M. Disturbances of maternal behavior in the rat following lesions of the cingulate cortex. **Behaviour**, v. 13, p. 835-838, 1967.
- SMITH, M. S.; NEILL, J. D. Termination at midpregnancy of the two daily surges of plasma PRL initiated by mating in the rat. **Endocrinology**, v. 98, p. 696-701, 1976.
- SMITH, M. O.; HOLLAND, R. C. Effects of lesions of the *Nucleus accumbens* on lactation and postpartum behavior. **Physiol. Psychol.**, v. 3, p. 331-336, 1975.
- SOKOLOFF, O.; SCHWARTZ, J. C. Novel dopamine receptor half a decade later. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 16, p. 270-275, 1995.
- SONG, C.; MERALI, Z.; ANISMAN, H. Variations of *Nucleus accumbens* dopamine and serotonin following systemic interleukin-1, interleukin-2 or interleukin-6 treatment. **Neuroscience**, v. 88, p. 823-836, 1999.
- STERN, J. M. Somatosensation and maternal care in Norway rats. In: ROSENBLATT, J. S.; SNOWDEN, C. T. (Eds.). Parental care: Evolution, mechanisms, and adaptive significance. **Advances in the study of behavior**. San Diego: Academic Press, 1996, v. 25, p. 243-294.
- STERN, J. M.; TAYLOR, L. A. Haloperidol inhibits maternal retrieval and licking, but facilitates nursing behavior and milk ejection in lactating rats. **J. Neuroendocrinol.**, v. 3, p. 591-596, 1991.
- STOLZENBERG DS, MCKENNA JB, KEOUGH S, HANCOCK R, NUMAN MJ, NUMAN M. Dopamine D1 receptor stimulation of the *Nucleus accumbens* or the medial preoptic area promotes the onset of maternal behavior in pregnancy-terminated rats. **Behav. Neurosci.**, v. 121, p.907-919, 2007.
- TERKEL, J.; BRIDGES, R. S.; SAWYER, C. H. Effects of transecting lateral neural connections of the medial preoptic area on maternal behavior in the rat: nest building, pup retrieval and prolactin secretion. **Bram Research**, v. 169, n. 2, p. 369-380, 1979.
- TERLECKI, L. J.; SAINSBURY, R. S. Effects of fimbria lesions on maternal behavior in rats. **Physiol. Behav.**, v. 22, p. 89-97, 1978.
- 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**, v. 62, p. 434-443, 1995.

TORNER, L.; NEUMANN, I.D. The brain prolactin system: involvement in stress response adaptations in lactation. **Stress**, v. 5, p. 249-257, 2002.

TORNER, L.; TOSCHI, N.; NA VA, G.; CLAPP, C.; NEUMANN, I.D. Increased hypothalamic expression in lactation: involvement in behavioral and neuroendocrine stress responses. **Eur. J. Neurosci.** v.15, p. 1381-1389, 2002.

TRIPATHY, D.; BENZ, C. C. Hormones & Câncer: Breast câncer in women. GREENSPAN, F. S.; STREWLER, G. J. In: **Basic & Clinical Endocrinology** Rio de Janeiro: Editora Prentice Hall do Brasil Ltda., 1997. p. 732-736.

TUREK, F. W.; VAN CAUTER, E. Rhythms in reproduction. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The physiology of reproduction**, 2. ed., New York: Raven-Press, 1993. p. 571-628.

TUCKER, H. A. Lactation and its hormonal control. In: Knobil, E., Neill, J. D. (Eds). **The Physiology of Reproduction**. Raven Press, New York: 1994. p. 1065-1098.

UNGERSTEDT, U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. **Acta Physiology Scandinava**, v. 367, suppl., p. 1-48, 1971.

VERNOTICA, E. M.; LISCIOTTO, C. A.; ROSENBLATT, J. S.; MORRELL, J.I. Cocaine transiently impairs maternal behavior in the rat. **Behav. Neurosci.**, v. 110, n. 2, p. 315-323, 1996.

VOLAVKA, J. The effects of clozapine on aggression and substance abuse in schizophrenic patients. **J. Clin. Psychiatry**, v. 60, n. 12, p. 43-46, 1999.

WAKERLEY, J.B.; CLARKE, G.; SUMMERLEE, A.J.S. Milk ejection and its control. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. **The Physiology of Reproduction**, 2. nd., New York: Raven Press, p. 1131-1177, 1996.

WATKINS, L. R.; MAIER, S. F.; GOEHLER, L. E. Cytokine to brain communication: a review and analysis of alternative mechanisms. **Life Sci.**, v. 57, p. 1011-1026, 1995.

WEATHERSPOON, J. K.; FRANK, A. R.; WERLING, L. L. Neurotensin, N-acetyl-aspartylglutamate and beta-endorphin modulate [3H]dopamine release from guinea pig *Nucleus accumbens*, prefrontal cortex and caudate-putamen. **Neuropeptides**, v. 30, n. 5, p. 497-505, 1996

WELSCH, C. W.; NAGASAWA, H. Prolactin and murine mammary tumorigenesis: a review. **Câncer Res.**, v. 37, p. 951-963, 1977.

WILLNER, P.; SCHEEL-KRUGER, J., eds. The mesolimbic dopamine system: From motivation to action. New York: JOHN WILEY ; SONS, 1991.

YIM JÚNIOR, A. **Efeitos do pré-tratamento com morfina em parâmetros de comportamento, neuroquímicos e endócrinos de ratas.** 100 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

YU, M. C.; GERKINS, V. R.; HENDERSON, B. E.; BROWN, J. B.; PIKE, M. C. Elevated levels of prolactin in nulliparous women, **Braz. J. Cancer**, v. 43, n. 6, p. 826-31, 1981.

ZALCMAN, S. S. Interleukin-2-induced increases in climbing behavior: inhibition by dopamine D-1 and D-2 receptor antagonists. **Brain Res.**, v. 944, n. 1-2, p. 157-164, 2002.