

## **SEPARAÇÃO MATERNA NEONATAL E CONSUMO VOLUNTÁRIO DE ETANOL NA MORFOLOGIA DA PRÓSTATA DE RATOS.**

Henrique Krambeck Rofatto, Wilson de Mello Júnior, Sérgio Pereira, Otávio Augusto Martins, Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro, Rafael Kremer. Morfologia - Ciências Biológicas – Anatomia - Instituto de Biociências - Campus de Botucatu.

O álcool está relacionado com 50% dos casos de mortes em acidentes automobilísticos, 50% dos homicídios, 25% dos suicídios e o número de mortes e de incapacitados pelo álcool em todo mundo é equivalente à soma dos casos provocados pela hipertensão e pelo fumo. O abuso do álcool está associado também à diminuição dos níveis séricos de testosterona e atrofia testicular.

Experiências traumáticas na infância estão associadas ao aumento do risco de abuso de álcool e de outras drogas na adolescência e na vida adulta. A exposição crônica a fatores estressantes aumenta a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e, concomitantemente, causa desequilíbrio na atividade do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (HHG). Assim, sabe-se que estresses sociais e ambientais também produzem efeitos deletérios na função reprodutiva.

No entanto, a maior parte dos trabalhos relacionando os efeitos deletérios do estresse sobre as funções reprodutoras masculinas está direcionada para a investigação de hormônios, raros são os relatos sobre os efeitos do estresse sobre as glândulas sexuais acessórias. Pouco é conhecido sobre a complexa relação entre o estresse, o alcoolismo e as alterações dos genitais masculinos. Sendo a próstata órgão hormônio dependente e sensível a essas alterações fisiológicas, os efeitos da interação entre a separação materna e o consumo de etanol sobre a morfologia do lobo ventral da próstata dos animais adultos foram estudados.

Utilizaram-se ratos das linhagens UChB e UChA (alto e baixo consumo voluntário de etanol, respectivamente) e Wistar, sendo os grupos experimentais submetidos à separação materna neonatal (SMN) durante o período hiporresponsivo ao estresse. Nesse período, do 4º ao 14º dia de vida no rato, o animal neonato não apresenta comumente resposta adrenocortical a estímulos estressores, sendo que a SMN pode desinibir o eixo HHA levando-o a responder a fatores estressantes brandos e resultar em alterações permanentes da resposta ao estresse.

Assim durante a separação materna, os filhotes foram individualizados em recipientes com 15 cm de diâmetro e 10 cm de altura durante 4 horas (Figura 1). Posteriormente, foram devolvidos aos cuidados da mãe, retirando-a de sua caixa antes de retornar a prole.



*Figura 1. Indução ao estresse por separação materna neonatal. Filhotes individualizados.*

Os animais foram manejados por uma única pessoa do início ao fim da experimentação. A umidade do ar e a temperatura da sala do biotério foram monitoradas e isolada ao máximo de ruídos externos. As mãos do investigador foram lavadas em água corrente, secas e esfregadas na maravalha de forro das caixas da ninhada para evitar que cheiros estranhos chegassem aos filhotes, evitando rejeição da mãe à prole. Os filhotes dos três grupos controles não foram separados da mãe, apenas receberam os cuidados necessários de manejo para criação de animais de laboratório. Após o desmame, aos 21 dias, os filhotes machos que passaram por privação materna e os controles foram alojados em caixas individuais. Aos 65 dias de idade, os animais UCh receberam além da garrafa de água, uma garrafa contendo solução de etanol a 10% *ad libitum*. Aos 80 dias de idade, ocorreu a padronização das linhagens UCh. Os animais UChA que apresentaram consumo médio menor que 2,0 mL de solução de etanol a 10% por 100g de peso corpóreo/dia foram selecionados. Os animais UChB que apresentaram consumo médio diário igual ou superior a 3,9mL de solução de etanol a 10% por 100g de peso foram selecionados.

Depois da seleção os animais de ambas as linhagens, UChA e UChB, continuaram recebendo uma garrafa contendo solução de etanol a 10%, outra garrafa de água e ração *ad libitum* até os 120 dias de idade. Não foi oferecido álcool aos animais da linhagem Wistar, recebendo apenas água e ração *ad libitum* até os 120 dias de vida.

Dessa forma, seis grupos de ratos machos foram formados (Tabela 1):

Grupos		Linhagem	Separação materna	Consumo de etanol (mL)	Total de Animais
1	Experimental	UChA	X	< 2,0	5
2	Controle	UChA	-	< 2,0	7
3	Experimental	UChB	X	≥ 3,9	7
4	Controle	UChB	-	≥ 3,9	7
5	Experimental	Wistar	X	-	7
6	Controle	Wistar	-	-	7

Tabela 1. Grupos formados após a SMN e padronização das linhagens bebedoras de etanol.

Aos 120 dias, os animais foram pesados e a eutanásia foi realizada por decapitação. Através de laparotomia abdômino-pélvica, a próstata (lobo ventral) foi coletada, pesada e fixada em solução de Bouin. Lavada em álcool 70 %, desidratada, diafanizada, incluída em *Paraplast Plus*<sup>®</sup> e cortada com quatro micrômetros de espessura para obtenção de coleções de lâminas de cortes transversais. Os cortes foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE), analisados e fotografados em fotomicroscópio Zeiss AxiCam HRc do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP.

Foram realizadas 30 medidas do epitélio, desde a membrana basal até o ápice da célula, e mensuradas, de 30 células, as áreas citoplasmáticas, nucleares e totais (citoplasmáticas + nucleares) da região intermediária do lobo ventral da próstata por animal. As medidas foram realizadas através do programa de análise de imagens Axiovision 4.0, Zeiss do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP.

O estudo das variáveis foi realizado através da técnica da análise de variância em experimentos inteiramente casualizados. A técnica de análise foi complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey para contraste entre médias dos grupos. Os resultados estão demonstrados na tabela 2.

Grupos	Variáveis				
	Peso da próstata (g)	Altura do epitélio ( $\mu\text{m}$ )	Área celular ( $\mu\text{m}^2$ )	Área citoplasmática ( $\mu\text{m}^2$ )	Área nuclear ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>SM UChA</b>	0,47 $\pm$ 0,09ab	15,42 $\pm$ 0,37c	141,16 $\pm$ 1,72b	100,02 $\pm$ 1,51b	41,14 $\pm$ 0,23ab
<b>CO UChA</b>	0,42 $\pm$ 0,07ab	14,72 $\pm$ 0,73bc	140,63 $\pm$ 0,64ab	99,71 $\pm$ 0,52ab	40,93 $\pm$ 0,26a
<b>SM UChB</b>	0,51 $\pm$ 0,01b	14,33 $\pm$ 0,62ab	138,06 $\pm$ 0,76a	97,69 $\pm$ 0,88a	41,23 $\pm$ 0,34ab
<b>CO UChB</b>	0,52 $\pm$ 0,06b	13,74 $\pm$ 0,37a	139,34 $\pm$ 1,61ab	98,07 $\pm$ 1,86ab	41,26 $\pm$ 0,22ab
<b>SM Wistar</b>	0,43 $\pm$ 0,07ab	14,71 $\pm$ 0,71ab	139,93 $\pm$ 1,55ab	98,38 $\pm$ 0,99ab	41,39 $\pm$ 0,31ab
<b>CO Wistar</b>	0,39 $\pm$ 0,07a	14,83 $\pm$ 0,3bc	139,76 $\pm$ 1,12ab	98,45 $\pm$ 1,48ab	41,47 $\pm$ 0,21b
<b>Resultado do Teste Estatístico</b>	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05

*Tabela 2. Dados de peso da próstata, altura do epitélio, área nuclear, área citoplasmática e área celular total segundo grupos (Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si).*

A próstata apresentou aumento de peso relacionado ao consumo de etanol. A SMN não alterou significativamente o peso da próstata, porém observa-se tendência ao aumento de peso. Não foi verificada interação entre a SMN e o consumo de etanol provocando alterações no peso da próstata. Não houve diferenças significativas na altura do epitélio da região intermediária da próstata devido à SMN, ao consumo de etanol ou à interação desses fatores. Verifica-se tendência à diminuição na altura epitélio, relacionada ao alto consumo de etanol (animais UChB). Nas áreas citoplasmática, nuclear e celular total das células da região intermediária do lobo ventral da próstata não foram verificadas alterações significativas, relacionadas ou influenciadas pela separação materna, pelo consumo de etanol ou pela interação desses fatores.

Conclui-se que a interação entre o consumo de etanol e da separação materna sobre as variáveis estudadas é complexa, sofrendo influência distinta, possivelmente dos eixos hipotálamo-hipófise-testículo e hipotálamo-hipófise-adrenal, indicando respostas através de vias diferentes. Portanto, verificou-se que as alterações fisiológicas causadas pela SMN e consumo de etanol não apresentaram efeitos sinérgicos para alterar significativamente a morfologia da próstata.

**Bolsa:** Fapesp