

## INFLUÊNCIA DA AUSÊNCIA DE LUZ SOBRE O CICLO ESTRAL DE RATAS

K.R.P. Santos<sup>1</sup>, J.S. Mendonça<sup>2</sup>, V.W. Teixeira<sup>3</sup>, A.A.C. Teixeira<sup>3</sup><sup>1</sup>Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco., R. Dom Manoel de Medeiros, s/nº, CEP 52171-900, Recife, PB, Brasil. E-mail: aact@bol.com.br

## RESUMO

A presente pesquisa teve o objetivo de avaliar o ciclo estral de ratas mantidas na ausência de luz. Para tanto, foram utilizadas 20 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) com 40 dias de idade, pesando aproximadamente 150 g. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo I – ratas mantidas em ciclo claro/escuro de 12h/12h e Grupo II – ratas mantidas na ausência de luz. Os animais foram mantidos com alimentação e água "ad libitum", e em temperatura de 22° C. Após três meses de experimento as ratas foram submetidas a exames colpocitológicos por cinco semanas consecutivas. Os esfregaços obtidos foram corados pelo método de Shorr-Harris e analisados à microscopia de luz. Nossos resultados mostraram que no grupo I os animais apresentaram maior incidência da fase de estro com um percentual de 40%, seguida das fases de proestro, diestro e metaestro com percentuais de 26%, 18% e 16% respectivamente. No grupo II houve uma maior incidência da fase de metaestro, a qual apresentou-se num percentual de 34%, seguida da fase de estro com 24%. As fases proestro e diestro tiveram os mesmos percentuais, com 21% do total do ciclo. No entanto, esses resultados não mostraram diferenças estatisticamente significantes. Portanto, podemos concluir que a ausência de luz influencia diretamente na frequência das fases do ciclo estral em ratas, provocando redução na incidência da fase de estro, fazendo com que ocorra o alongamento do ciclo estral nesses animais.

PALAVRAS-CHAVE: Ciclo estral, melatonina, ausência de luz.

## ABSTRACT

INFLUENCE OF THE ABSENCE OF LIGHT ON THE ESTROUS CYCLE OF FEMALE RATS. The present research had the objective of evaluating the estrous cycle of female rats kept in the absence of light. The study involved 20 albino rats (*Rattus norvegicus albinus*) with the age of 40 days old, weighing nearly 150 g. The animals were divided in two groups: Group I– female rats kept in the clear / dark cycle 12/12 h and Group II– female rats kept in the light absence. The animals were kept with regular meals and "ad libitum" water, and at temperature of 22° C. After three months of experiment, the rats were submitted to colpocitologic exams for a period of five weeks consecutively. The smears obtained were dyed through the method of Shorr-Harris and analyzed by light microscopy. Our results showed that in the group I the animals presented larger incidence of the estrus phase with a percentage of 40%, followed by the proestro, diestro and metaestro phases with percentage of 26%, 18% and 16% respectively. In the group II there was a larger incidence of the metaestrus phase, which presented a percentage of 34%, followed by the estrous phase, with 24%. The proestrus and diestrus phases had the same percentage, with 21% of the total of the cycle. However, these results didn't show statistically meaningful differences. So, we concluded that the absence of light influences directly in the frequency of the estrous cycle phases in rats, leading to a reduction in the incidence of the estrus phase, causing the increase of the estrous cycles in these animals.

KEY WORDS: Estrus cycle, melatonin, absence light.

## INTRODUÇÃO

Vários estudos indicam que a glândula pineal possui papel específico no controle da atividade cíclica sexual em ratas, através da produção de substâncias

antigonadotróficas que estão envolvidas na regulação de funções reprodutivas (REITER *et al.*, 1981).

Uma dessas substâncias é a melatonina, a qual tem sua síntese inibida pela presença de luz e estimulada pelo escuro. Segundo TAMARKIN *et al.* (1985), em

<sup>2</sup>Bolsista PIBIC-UFRPE<sup>3</sup>Professor DMFA/Área de Histologia/UFRPE

escuro contínuo, o ritmo de melatonina persiste por um período aproximadamente de 24 horas.

A pineal, sincronizada pelo ciclo claro/escuro, determina as mudanças periódicas na função reprodutiva em várias espécies animais (REITER, 1991, 1993; WEAVER *et al.*, 1993; TEIXEIRA *et al.*, 2002). Quando roedores são expostos a um estímulo luminoso contínuo, entram em estado de estro permanente, podendo ser abolido injetando-se extratos de pineal bovina (WURTMANN *et al.*, 1963; SANTOS *et al.*, 1995). De maneira contrária, quando animais são mantidos em curtos fotoperíodos apresentam uma frequência estral reduzida e menor peso gonadal (TAMARKIN *et al.*, 1985).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo analisar a frequência estral em ratas mantidas na ausência de luz.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 20 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) procedentes do Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, com 40 dias de idade, pesando aproximadamente 150 g. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo I – ratas mantidas em ciclo claro/escuro de 12h/12h (controle) e Grupo II – ratas mantidas na ausência de luz. Os animais foram mantidos com alimentação e água "ad libitum", e em temperatura de 22° C.

Após três meses de experimento as ratas foram submetidas a exames colpocitológicos por cinco semanas consecutivas, sempre no mesmo horário (10h). As fases foram transformadas em percentuais, os quais foram submetidos ao teste de Tukey com 95% de significância.

### Ausência de Luz

A ausência de luz foi obtida utilizando-se uma sala de aproximadamente 3 m<sup>2</sup> totalmente escura, sendo a única fonte de luminosidade, uma lâmpada marca Philips (lustre color E27), vermelha, de 15 w, a qual só era acesa no momento da coleta dos esfregaços vaginais.

### Exame Colpocitológico

Para os exames colpocitológicos foram utilizadas hastes de algodão umedecido em solução salina. Após a coleta do material, as células foram transferidas para lâminas histológicas através de um movimento rotatório da haste de algodão. Posteriormente, as lâminas, contendo o material, foram imediatamente mergulhadas numa mistura álcool-éter em partes iguais, e em seguida foram coradas pelo método de

Shorr-Harris. A análise foi realizada através da microscopia de luz.

## RESULTADOS

Nossos resultados mostraram que no grupo I os animais apresentaram maior incidência da fase de estro com um percentual de 40%, seguida das fases de proestro, diestro e metaestro com percentuais de 26%, 18% e 16% respectivamente. No Grupo II houve maior incidência da fase de metaestro, a qual apresentou-se num percentual de 34%, seguida da fase de estro com 24%. As fases proestro e diestro tiveram os mesmos percentuais, com 21% do total do ciclo (Fig. 1). No entanto, esses resultados não mostraram diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Tukey com 95% de significância (Tabela 1).

Observou-se ainda que as fases de estro dos animais do grupo II, quando comparadas as do grupo I, apresentaram poucas células queratinizadas, enquanto que nas fases de diestro mostravam a presença de bastante muco. Além disso, houve alteração na duração das fases do ciclo, onde a fase de metaestro apresentou uma variação de um a dois dias. Já a fase de estro, teve duração no máximo de um dia. No grupo controle a fase de metaestro teve duração de algumas horas (12 horas em média), enquanto a fase estro durou em média dois dias.

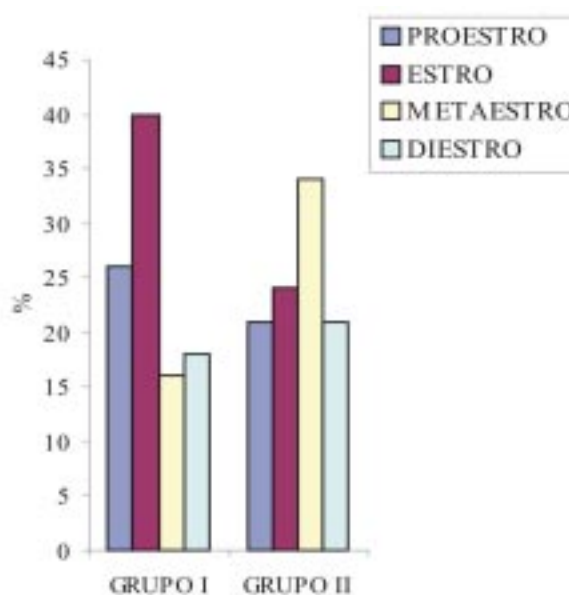


Fig. 1 - Percentagem das fases do ciclo estral.

Tabela 1 – Análise estatística dos percentuais das frequências das fases do ciclo estral.

| Fases (%*) | Grupos |     |
|------------|--------|-----|
|            | I      | II  |
| Proestro   | 26a    | 21a |
| Estro      | 40a    | 24a |
| Metaestro  | 18a    | 34a |
| Diestro    | 16a    | 21a |

(\*) Percentuais seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Sabe-se que os roedores são animais do tipo poliestro, ou seja, apresentam ciclos estrais regulares e sucessivos, que duram de quatro a seis dias na rata, estando na dependência dos hormônios sexuais (LONG & EVANS, 1922).

Segundo WURTMANN *et al.* (1964), quando ratas adultas são mantidas em iluminação constante há um aumento na frequência da fase de estro, enquanto que o escuro inibe este aumento. Já SCHLATT *et al.* (1993) observaram uma diminuição da ciclicidade estral em hamsters mantidos em curtos fotoperíodos por 27 semanas.

De acordo com JOHNSON *et al.* (1982), ratas mantidas em fotoperíodo normal (12h claro/12h escuro) apresentam os maiores picos de melatonina durante as fases de metaestro e diestro. Além disso, BENSON & McASEY (1998), DÍAZ *et al.* (1999) e DARDES *et al.* (2000) relataram que roedores expostos a curtos fotoperíodos ou tratados com melatonina exibem duração mais longa do ciclo estral, podendo desenvolver até mesmo o anestro. Deste modo, o aumento da incidência da fase de metaestro em relação às outras fases, pode ser explicado pela presença de elevados níveis de melatonina nesses animais, como consequência da ausência de luz. Portanto, do presente trabalho, podemos concluir que a ausência de luz influencia diretamente na frequência das fases do ciclo estral de ratas, provocando redução na incidência da fase de estro, fazendo com que ocorra o alongamento do ciclo estral nesses animais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENSON, B. & McASEY, M.E. An essential role for ovarian inhibin in pineal gland-mediated anestrus in Syrian hamsters. *J. Pineal. Res.*, v.25, n.1, p.5-11, 1998.

DARDES, R.C.; BARACAT, E.C.; SIMÕES, M.J. Modulation of estrous cycle and LH, FSH and melatonin levels by pinealectomy and sham-pinealectomy in female rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, v.24, n.3, p.441-453, 2000.

DÍAZ, E.; FERNÁNDEZ, C.; CASTRILLÓN, P.O.; ESQUIFINO, A.I.; MARÍN B.; DÍAZ LÓPEZ, B. Effect of exogenous melatonin on neuroendocrine-reproductive function of middle-aged female rats. *J. Reprod. Fertil.*, v.117, n.2, p.331-337, 1999.

JOHNSON, L.Y.; VAUGHAN, M.K.; RICHARDSON, B.A.; PETERBERG, L.J.; REITER, R.J. Variation in pineal melatonin content during the estrus cycle of the rat. *Procee. Soc. Experim. Biol. Med.*, v.169, p.416-419, 1982.

LONG, J.A. & EVANS, H.M. The oestrus cycle in the rat it's associated phenomena. *Men. Univ. California*, v.6, p.1-148, 1922.

REITER, R.J.; JOHNSON, L.Y.; VAUGHAN, M.K.; RICHARDSON, B.A. Pineal constituents and reproductive physiology. *Prog. Clin. Biol. Res.*, v.74, p.163-178, 1981.

REITER, R. J. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrinol. Soc.*, v.2, p.151-180, 1991.

REITER, R.J. The melatonin rhythm: both a clock and calendar. *Experientia*, v.49, p.654-664, 1993.

SANTOS, J.M.; SMANIOTTO, S.; EVÊNCIO-NETO, J.; SIMÕES, M.J. Aspectos morfológicos do endométrio de ratas submetidas a iluminação constante (estro permanente). In: ARQUIVOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 8., 1995. São Paulo. *Resumos. Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.62, Supl., p.47, 1995. Resumo 059.

SCHLATT, S.; NIKLOWITZ, P.; HOFFMANN, K.; NIESCHLAG, E. Influence of short photoperiods on reproductive organs and estrus cycles of normal and pinealectomized female djungarian hamsters, *Phodopus sungorus*. *Biol. Reprod.*, v.49, p.243-250, 1993.

TAMARKIN, L.; BAIRD, C.J.; ALMEIDA, O.F.X. Melatonin: a coordinating signal for mammalian reproduction? *Sci.*, v.227, p.714-720, 1985.

TEIXEIRA, A.A.C.; SIMÕES, M.J.; EVÊNCIO NETO, J.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V. Morphologic aspects of the endometrium, in the estrus phase, of pinealectomized rats. *Rev. Chil. Anat.*, v.20, n.2, p.145-149, 2002.

WEAVER, D.R.; STEHLE, J.H.; STOPA, E.G.; REPERT, S.M. Melatonin receptors in human hypothalamus and pituitary: implications for circadian and reproductive responses to melatonin. *Clin. Endocrinol. Metab.*, v.76, p.295-301, 1993.

WURTMANN, R.J.; AXELROD, J.; CHU, E.W. Melatonin, a pineal substance: effect on the rat ovary. *Science*, v.141, p.277-278, 1963.

WURTMANN, R.J.; AXELROD, J.; CHU, E.W.; FISCHER, J.E. Mediation of some effects of illumination on the rat estrous cycle by the sympathetic nervous system. *Endocrinology*, v.75, p.266, 1964.

Recebido em 17/10/02

Aceito em 28/4/03