



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA –  
PIBIC**

**TÍTULO DO PROJETO:** PVA7432-2019 - ESTUDO DO PAPEL DA OCITOCINA NO METABOLISMO DE PROTEÍNAS MUSCULARES DE RATOS

**PLANO DE TRABALHO:** VIAS DE SINALIZAÇÃO ENVOLVIDAS NO EFEITO ANABÓLICO DA OCITOCINA NO METABOLISMO PROTEICO MUSCULAR

**Área do conhecimento:** Fisiologia

**Subárea do conhecimento:** Fisiologia endócrina

**Especialidade do conhecimento:** Mecanismos neuro-humorais de controle do metabolismo proteico no músculo esquelético

**Relatório Final**

**Período da bolsa:** agosto/2019 a julho/2020

**Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica  
PIBIC/COPEs**

**Orientador:** Prof. Dr. Danilo Lustrino Borges

**Discente:** João da Cruz Filho



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

## **1. INTRODUÇÃO**

A ocitocina (OT) é um nonapeptídeo sintetizado principalmente nos núcleos paraventricular e supraóptico do hipotálamo e liberado na circulação sanguínea através da hipófise posterior (GIMPL; FAHRENHOLZ, 2001). Fisiologicamente, ela exerce seus efeitos por meio de seu receptor, o OTR, o qual é um membro típico da família dos receptores acoplados à proteína Gαq (GPCR) (GIMPL; FAHRENHOLZ, 2001). A ativação deste receptor estimula à atividade da fosfolipase C, culminando com o aumento das concentrações intracelulares de Ca<sup>2+</sup> e da atividade da proteína quinase C (PKC) (BILLUPS et al., 2006; HOELZ et al., 2013; MIZUNO; ITOH, 2009). Embora, as ações clássicas da OT tenham sido relacionadas à contração da musculatura lisa uterina e mamária durante a lactação (NORRIS; CARR, 2013), foi também descrita a presença de OTR na musculatura estriada cardíaca e nesse tecido a OT demonstrou ter ações similares à insulina, ativando a via de sinalização da proteína quinase B, também conhecida como AKT, e consequentemente aumentando a captação de glicose em cardiomiócitos (NOISEUX et al., 2012). A ativação dessa via de sinalização intracelular está envolvida no controle do metabolismo proteico, uma vez que a AKT inibe os processos proteolíticos lisossomal e dependente de ubiquitina-proteassoma (UPS), através da fosforilação de fatores de transcrição da família FoxO e consequente supressão da expressão de genes envolvidos com atrofia muscular, isto é atrogenes, como, atrogina-1, MuRF-1 e LC3b. Além disso, a AKT também pode estimular a síntese proteica através de efeitos não genômicos que envolvem a ativação da mTOR e de seus alvos *downstream* (BOUITBIR et al., 2020). Desta forma, a AKT é considerada uma enzima chave no metabolismo de proteínas musculares.

Recentemente foi também descrita a expressão de OTR em células mioblásticas humanas, indicando que a OT pode desempenhar um papel na regulação do metabolismo muscular esquelético (BRETON et al., 2002). Foi demonstrado que a estimulação do OTR em músculo esquelético também



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

culmina com o aumento das concentrações intracelulares de  $Ca^{2+}$  e consequente captação de glicose (DING; LEOW; MAGKOS, 2019; LEE et al., 2008). Trabalhos posteriores também observaram que o aumento da massa muscular observada em animais tratados com esteroides anabólicos foi associado com o aumento na expressão gênica muscular dos OTR e da própria OT (DE JAGER et al., 2011; DIVARI et al., 2013; KONGSUWAN et al., 2012) e que animais *knockout* para OT tem um desenvolvimento prematuro de sarcopenia, indicando que a OT pode ter papel no controle da massa muscular (ELABD et al., 2014).

Embora seja bem estabelecido que a manutenção da massa muscular seja decorrente de um balanço entre os processos de síntese e degradação proteica, para o nosso conhecimento, muito pouco se sabe sobre o papel da OT na regulação do metabolismo proteico muscular. Portanto, *a hipótese que foi testada neste estudo é que a OT exerce efeitos anti-catabólicos e/ou anabólicos no metabolismo proteico em músculos esqueléticos de roedores.*

É importante mencionar que em relatórios anteriores (PIBIC 2018/2019), demonstramos que a estimulação direta dos OTR com WAY 267,464 (WAY), um agonista seletivo destes receptores, inibiu a proteólise total através da atenuação das atividades dos sistemas proteolíticos lisossomal e proteassomal em músculos esqueléticos oxidativos de ratas sendo este efeito associado com ativação da via de sinalização AKT/FoxO e supressão da expressão proteica de atrogina-1 e MuRF-1. Para confirmar o efeito seletivo do agonista de OTR, nós repetimos o experimento piloto realizado no semestre anterior utilizando um antagonista seletivo de OTR, L-371,257. Posteriormente, foi avaliado o efeito da estimulação ocitocinérgica na proteólise total em músculos com metabolismo glicolítico, isto é, extensor digital longo (EDL), porém não observamos qualquer efeito do WAY neste parâmetro e, portanto, os experimentos seguintes foram conduzidos somente em músculos oxidativos, soleus. Além disso, para relacionar com os resultados obtidos *in vitro* (apresentados no relatório parcial) que demonstraram que a síntese proteica não é estimulada em músculos soleus



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

incubados com WAY, tal processo anabólico foi avaliado em animais tratados por três dias com OT e os possíveis mecanismos relacionados foram estudados.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Esclarecer o papel da estimulação ocitocinérgica sobre o metabolismo proteico muscular em ratas.

### **2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

a) Avaliar o efeito da estimulação ocitocinérgica *in vitro* na proteólise de músculos EDL basais de ratas e nos processos de síntese proteica dos músculos soleus e EDL;

b) Identificar a via de sinalização envolvida no possível efeito anabólico da OT no metabolismo de proteínas musculares.

## **3. METODOLOGIA**

### **3.1. ANIMAIS**

Ratas, da linhagem Wistar, com cerca de 90g, cedidas pelo biotério setorial da Universidade Federal de Sergipe foram utilizadas para os experimentos *in vivo* e *in vitro*. O uso de animais de menor porte é extremamente necessário, visto que nos experimentos *in vitro* os músculos precisam ser aerados com uma mistura de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e, dessa forma, a utilização de músculos obtidos de animais maiores impossibilitaria a difusão dos gases e dos nutrientes contidos no meio de incubação. Além disso, o uso de animais pré-puberes previne a interferência dos esteroides sexuais no metabolismo proteico.

Os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental, onde receberam ração balanceada para roedores e água *ad libitum*, em ambiente com ciclo claro-escuro



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

de 12 horas (ciclo claro: 6h00 às 18h00) e temperatura mantida a aproximadamente 25°C.

Todos os procedimentos experimentais desenvolvidos neste projeto foram previamente submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa com Animais desta instituição (CEPA-UFS) e aprovados sob registro nº 062/2017 (ver em anexo).

### **3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

#### **3.2.1. Estimação da taxa de proteólise total**

##### **- Efeito *in vitro* do WAY 267,464 sobre a proteólise total em músculos EDL de ratas**

Estudos prévios do nosso laboratório (dados não mostrados) comprovaram que a incubação com o WAY 267,464, um agonista seletivo para os receptores de ocitocina (OTR), em três diferentes concentrações ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-4}$  molar), foi capaz de atenuar a proteólise total em músculos tipicamente oxidativos (soleus) de ratas. Deste modo, o presente protocolo experimental buscou averiguar se os mesmos efeitos seriam observados em músculos de característica predominantemente glicolítica, nesse caso, o extensor digital longo (EDL).

Para tal, foram utilizados dois grupos experimentais (n = 5 - 7):

- a) Grupo controle, incubado com tampão Krebs;
- b) Grupo WAY, incubado com WAY 267,464 na concentração de  $10^{-4}$ M.

Para quantificar a atividade proteolítica total no músculo esquelético, o parâmetro utilizado neste trabalho foi a mensuração da concentração de tirosina liberada na solução Krebs durante as 2 horas de incubação, uma vez que este aminoácido não é sintetizado e nem degradado pelo músculo, logo sua taxa de



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

liberação no meio de incubação corresponde a proteólise muscular (KETTELHUT; WING; GOLDBERG, 1988).

Os músculos EDL coletados dos animais previamente eutanasiados foram presos em suportes que permitem a permanência de seu comprimento de repouso, durante a incubação, a fim de não interferir na difusão de gases e nutrientes do meio de incubação para o tecido (BARACOS; GOLDBERG, 1986). Em seguida, foram pré-incubados, por 1 hora, a 37°C, com meio Krebs-Ringer bicarbonato (0,120M de NaCl; 0,015M de NaHCO<sub>3</sub>; 4,828mM de KCl; 1,2mM de MgSO<sub>4</sub>; 1,212mM de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,4mM de CaCl<sub>2</sub> - pH 7,4) previamente aerado com uma mistura de carbogênio - O<sub>2</sub> 95% + CO<sub>2</sub> 5% - ou meio Krebs-Ringer bicarbonato acrescido de WAY 10<sup>-4</sup>M. Após a pré-incubação, o volume foi renovado, os músculos foram novamente aerados e, então, incubados por 2 horas. Ao final da incubação, um volume de 1mL do meio de incubação final foi coletado e homogeneizado junto ao ácido tricloroacético (TCA) 10%, nitroso naftol + ácido nítrico (1:1) e clorofórmio para posterior mensuração da [Tyr] por método fluorimétrico, que apresenta maior sensibilidade e estabilidade para esta avaliação (KETTELHUT; WING; GOLDBERG, 1988).

**- Efeito *in vitro* do L-371,257 sobre a proteólise total em músculos soleus de ratas**

Uma vez que o WAY-267,464 além de ser um agonista seletivo para os OTR também apresenta ação antagônica aos receptores para vasopressina (V1a), a seletividade do WAY foi testada em músculos co-incubados com L371,257, um antagonista seletivo para OTR e taxa proteolítica total foi mensurada. A condução do experimento foi executada de acordo com o protocolo descrito logo acima, exceto a distribuição dos grupos (n= 4 - 6), que permaneceu como segue:

- a) Grupo CON (controle), incubado com o tampão Krebs;
- b) Grupo WAY, incubado na presença do WAY-267,464 a 10<sup>-4</sup>M;
- c) Grupo L3 (antagonista), incubado na presença do L-371,257 a 10<sup>-4</sup>M;



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

- d) Grupo WAY+L3, incubado com ambos o agonista e antagonista, em concentrações equimolares ( $10^{-4}M$ ).

**3.2.2. Avaliação do efeito da estimulação ocitocinérgica sobre o processo de síntese proteica em músculos soleus de ratas**

Previamente descrito por Goodman e Hornberger (2013) e Schmidt et al. (2009), o método SUnSET (do inglês, *SURface SEnsing of Translation*) foi aqui utilizado para estimar a taxa de síntese proteica nos músculos coletados, a partir da quantificação de puromicina incorporada à peptídeos recentemente formados. A puromicina é uma molécula semelhante ao RNA transportador, que se incorpora a polipeptídios em processo de síntese e previne seu alongamento e continuidade do processo. Quando usada em concentrações mínimas, permite estimar a taxa de síntese proteica (SCHMIDT et al., 2009).

A avaliação da síntese proteica *in vitro* foi realizada a partir da coleta de músculos que foram pesados, presos em comprimento de repouso e, logo em seguida, pré-incubados a 37 °C em tampão Krebs acrescido de 5mM de glicose e todos os aminoácidos em concentrações similares àquelas do plasma em ratos (SCHARFF; WOOL, 1966). Após 1h de pré-incubação, a solução foi renovada, com adição do WAY  $10^{-4}M$  e/ou puromicina  $1\mu M$ . Além dos grupos controle e WAY, foram utilizados também um controle positivo, incubado na presença de 1UI/mL de insulina, que sabidamente estimula a síntese proteica neste tecido (GONÇALVES et al., 2012) e um controle negativo, incubado na ausência da puromicina. Em 30 minutos, os músculos foram retirados da solução, secados em papel filtro e homogeneizados seguindo as instruções para *western blotting* descritas a seguir.

Para realização do protocolo *in vivo*, os animais foram, inicialmente, divididos em dois grupos distintos (n=5) e tratados com solução salina 0,9% ou OT (3U.I./kg/dia, *i.p.*) (RIBEIRO et al., 2007; TERBLANCHE et al., 2017), por 3 dias consecutivos. No último dia do experimento, os animais receberam, 30 minutos após o tratamento, uma dose de  $0,04\mu mol/g$  de puromicina diluída em



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

100µl de solução salina tamponada com fosfato (PBS), por via intraperitoneal. Após outros 30 minutos, os músculos soleus foram coletados e armazenados para posterior avaliação por *Western Blotting*.

### **3.2.3. Análise por Western Blotting**

Para avaliação quantitativa da expressão de proteínas por *western blotting*, os músculos foram homogeneizados por cerca de 2 minutos com um tampão de lise Tris-HCl (50mM; pH 7,4 - 150mM de NaCl, 1mM de EDTA, 1% de Triton X-100, 1% de deoxicolato de sódio, 1% de SDS e inibidores de proteases e de fosfatases) e, então, centrifugados para obtenção do sobrenadante (15.000rpm, 4°C, 20 minutos).

A amostra obtida foi misturada, numa proporção de 1:1 com o tampão de amostra Laemmli (20% de glicerol, 125mM de tris, 4% de SDS, 100mM de ditiotreitol, 0,02% de azul de bromofenol, pH 6,8). Imediatamente antes do processo de eletroforese, a alíquota foi fervida (70°C, 5 minutos) e, então, pipetada em gel de SDS-Page.

A dosagem de proteínas nas amostras foi realizada como previamente descrito por Lowry et al. (1951). Uma vez finalizada a eletroforese em gel, foi realizada transferência das proteínas do gel para uma membrana de nitrocelulose utilizando-se uma corrente de 400mA, em sistema semi-seco, por 30min.

As membranas foram, então, bloqueadas com uma solução a 5% de leite desnatado em pó diluído em TBS-T. Após 1 hora de bloqueio, foram lavadas com uma solução de TBS-T (20 mM TRIS + 160 mM NaCl + 0,1% Tween 20), por 4 vezes (1x de 10 minutos + 3x de 5 minutos) afim de retirar o excesso da solução de bloqueio. Terminado o procedimento, as membranas foram levadas à geladeira (≈4°C), onde permaneceram *overnight* sob incubação com anticorpos primários específicos. No dia seguinte, as membranas foram, novamente, lavadas com TBS-T (3x de 5 minutos) e incubadas com os anticorpos secundários (conjugados a uma peroxidase), por 1 hora, a temperatura





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

ambiente. Após uma última lavagem (3x de 5 minutos), as membranas foram levadas para revelação em aparelho ChemiDoc BioRad®. O processo foi realizado após rápida incubação (2 minutos) das membranas com reagente amplificador de quimioluminescência (ECL).

A análise quantitativa das bandas foi realizada através de densitometria utilizando o software ImageLab BioRad®. Após serem quantificados, os valores foram corrigidos pela densitometria da  $\beta$ -actina, proteína utilizada como controle de carregamento, ou pela coloração com o corante indiscriminado de proteínas, Ponceau S.

### **3.3. Análise estatística**

Os resultados são mostrados como média  $\pm$  EPM. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste Shapiro-Wilk e a significância estatística através do teste t-Student, Mann-Whitney ou *One-way* ANOVA seguido de pós-teste Bonferroni, como identificado na legenda de cada figura. As análises estatísticas foram feitas no Software GraphPad Prism e o nível de significância aqui utilizado foi de  $P \leq 0.05$ .

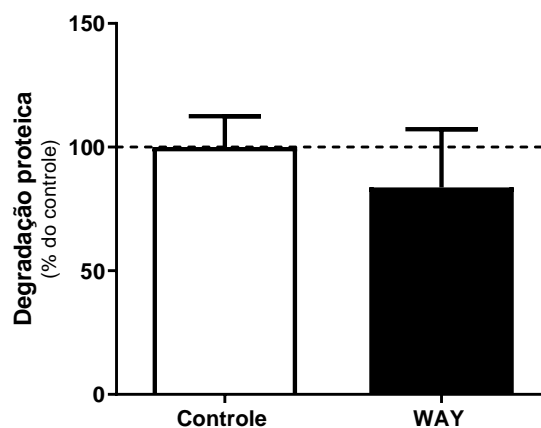


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. Efeito anti-catabólico *in vitro* da estimulação ocitocinérgica em músculos soleus e EDL basais de ratas

Experimentos prévios do nosso laboratório (dados não mostrados) revelaram que a incubação de músculos soleus, tipicamente oxidativos, com o agonista ocitocinérgico WAY-267,464 a  $10^{-4}$  M foi capaz de reduzir de forma significativa a taxa de proteólise total nestes músculos. Por isso, decidimos avaliar se tal alteração seria também observada em músculos com característica predominantemente glicolítica; neste caso, o extensor digital longo (EDL). Após a incubação destes músculos com o WAY ( $10^{-4}$  M), no entanto, pudemos observar que não houve alteração na taxa proteolítica total do grupo, em comparação ao controle (**Figura 1**).



**Figura 1** – Efeito da incubação com WAY 267,464 ( $10^{-4}$ M) sobre a taxa proteolítica total em músculos EDL de ratas. O resultado é expresso como média  $\pm$  EPM ( $n = 5-7$ ) dos valores percentuais de degradação proteica obtidos. Os dados foram analisados através de teste t.

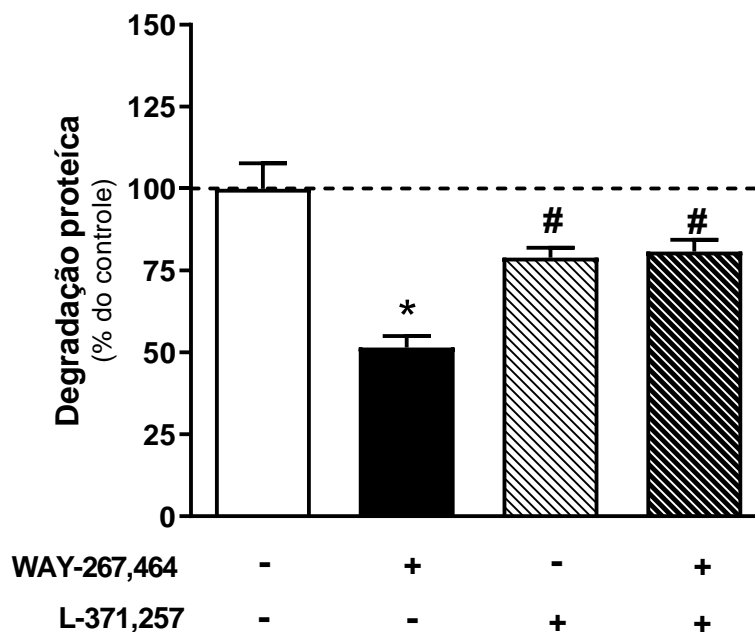
Considerando, portanto, que não foram observados efeitos biológicos nesse tipo muscular, decidimos não o utilizar nas demais avaliações.

Por sua vez, uma vez que havíamos observado, no músculo soleus, redução da proteólise total, buscamos confirmar se o efeito da estimulação



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

ocitocinérgica provinha, de fato, da ativação dos OTR. Para tanto, testamos o efeito do antagonista de OTR (L-371,257;  $10^{-4}$  M) na proteólise total e, então, pudemos observar que a sua adição no meio de incubação foi capaz de bloquear o decréscimo na proteólise causado pelo WAY  $10^{-4}$  M (**figura 2**), confirmando que o efeito observado nesse tecido é produto da estimulação do OTR.



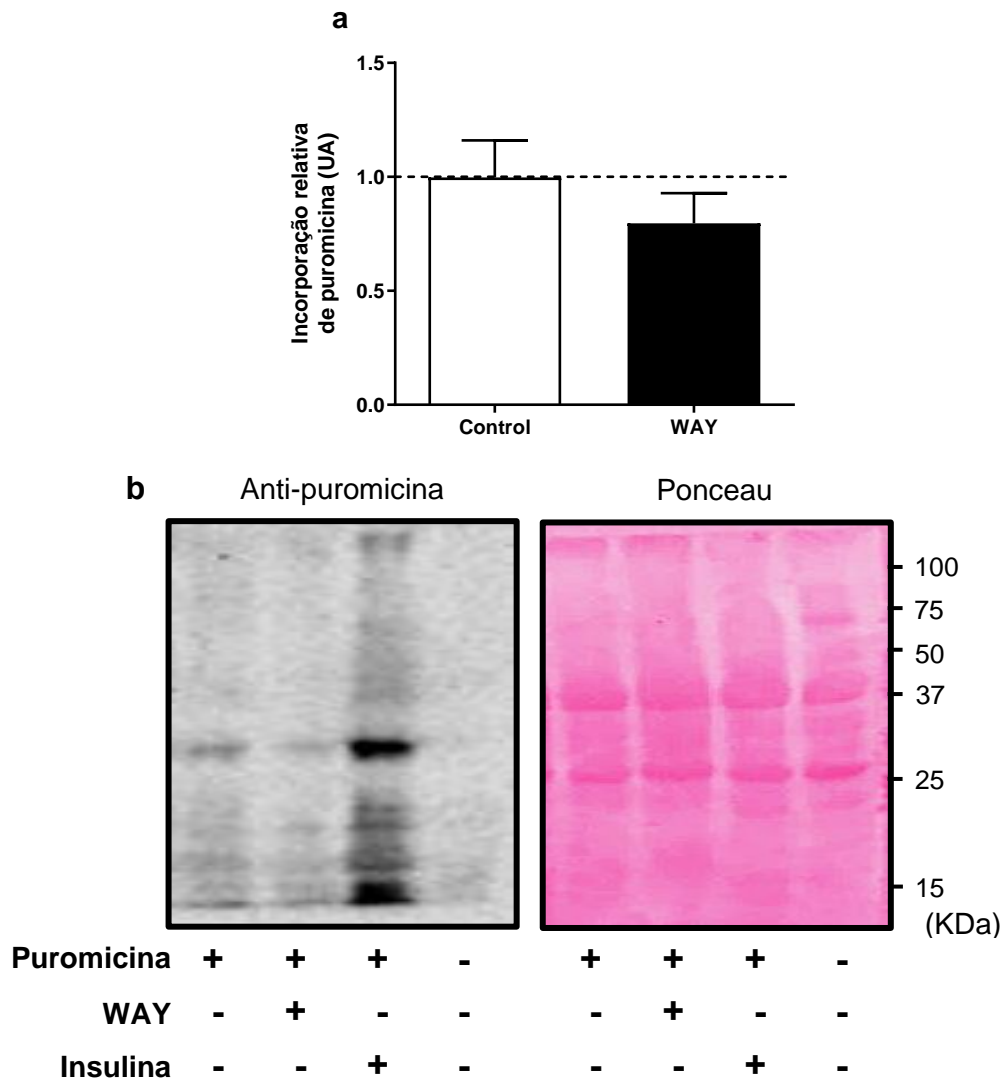
**Figura 2.** Efeito do antagonista de OTR (L-371,257;  $10^{-4}$ M) sobre a taxa proteolítica total em músculos soleus basais de ratas. Os músculos foram incubados na presença ou não de WAY e co-incubados ou não com L-371,257 para análise da degradação de proteínas. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM (n = 4 - 6) do valor percentual de degradação proteica. \* $p \leq 0,0001$  vs. Controle; # vs. WAY. Os valores foram analisados por meio de *One-Way ANOVA* seguido de pós-teste *Bonferroni*.

Com esses dados, fomos capazes de comprovar que num modelo experimental *in vitro* a estimulação ocitocinérgica possui caráter anti-catabólico e tais efeitos são mediados pelo receptor homônimo, isto é, o receptor para ocitocina. A partir daí nos questionamos se um efeito anabólico também seria observado conjuntamente à ativação desses receptores e, portanto, avaliamos a síntese de proteínas em músculos soleus basais de ratas. Para tal, separamos os músculos em quatro grupos distintos: controle, incubado com WAY, controle positivo (acrescido de insulina, um estimulador clássico da síntese proteica



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

muscular) e controle negativo (incubado na ausência de puromicina) e averiguamos que *in vitro*, o agonista não foi capaz de estimular o processo mencionado (**figura 3a-b**).



**Figura 3.** Efeito *in vitro* do WAY 267464 ( $10^{-4}$  M) na incorporação de puromicina em proteínas recém-sintetizadas (a-b) em músculos *soleus* inervados de ratos. Em (b), temos imagens representativas da análise por *western blotting*. O experimento foi composto por 4 grupos (controle, WAY, controle positivo – incubado com insulina – e controle negativo – incubado sem puromicina), n=5. O corante *ponceau* foi usado para confirmar a igualdade da transferência de proteínas para a membrana. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM. Os dados foram analisados através de teste *t*.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

#### 4.2. Efeito anabólico *in vivo* da estimulação ocitocinérgica em músculos soleus basais de ratas

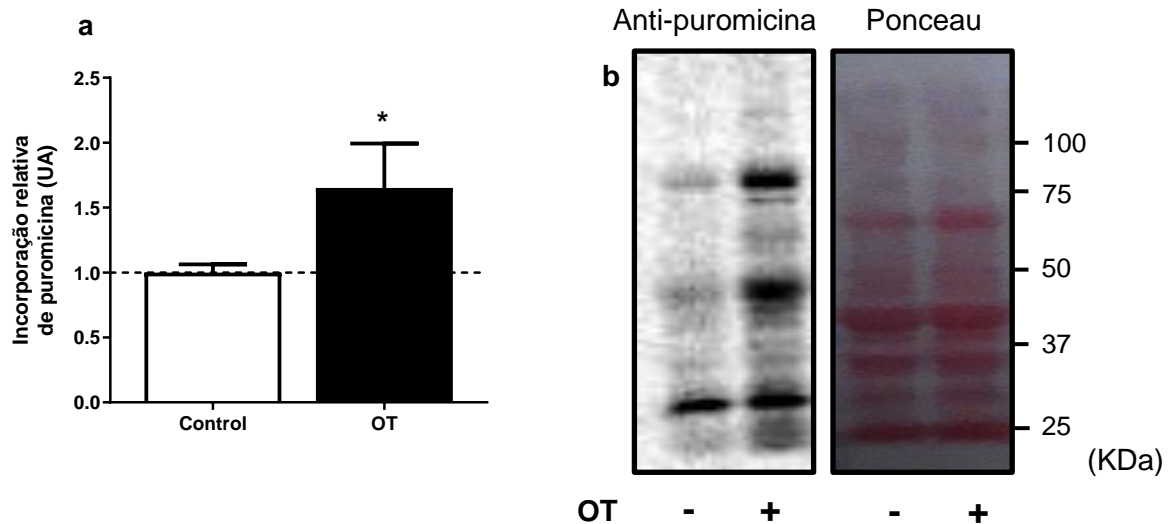
Os dados descritos na **Figura 4** foram apresentados no relatório do plano “Estudo da contribuição da insulina no efeito anabólico da ocitocina no metabolismo proteico muscular” do projeto PVA7432-2019 e são utilizados aqui, para justificar as análises demonstradas na **Figura 5**.

Embora não tenhamos observado efeito da estimulação ocitocinérgica sobre o processo de síntese proteica *in vitro* (**figura 3**), investigamos se o mesmo se repetiria num modelo experimental *in vivo*, no qual o tratamento sofre interação com toda uma gama de sistemas fisiológicos. À vista disso, utilizamos um protocolo de tratamento com OT (3U.I./kg/dia, i.p.) (RIBEIRO et al., 2007; TERBLANCHE et al., 2017) por três dias consecutivos. No dia da coleta dos músculos, os animais foram tratados com uma dose única de puromicina (0,04 $\mu$ mol/g), 30 minutos antes da eutanásia. Como explicado anteriormente, a aplicação dessa substância permite estimar de forma indireta a taxa de síntese de proteínas (GOODMAN; HORNBERGER, 2013).

Diferentemente do nosso achado *in vitro*, o modelo experimental *in vivo* demonstrou que o grupo tratado com ocitocina apresentou um aumento significativo na incorporação da puromicina em proteínas recém-sintetizadas, caracterizando assim o aumento na taxa de síntese proteica neste grupo (**figura 4**).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA



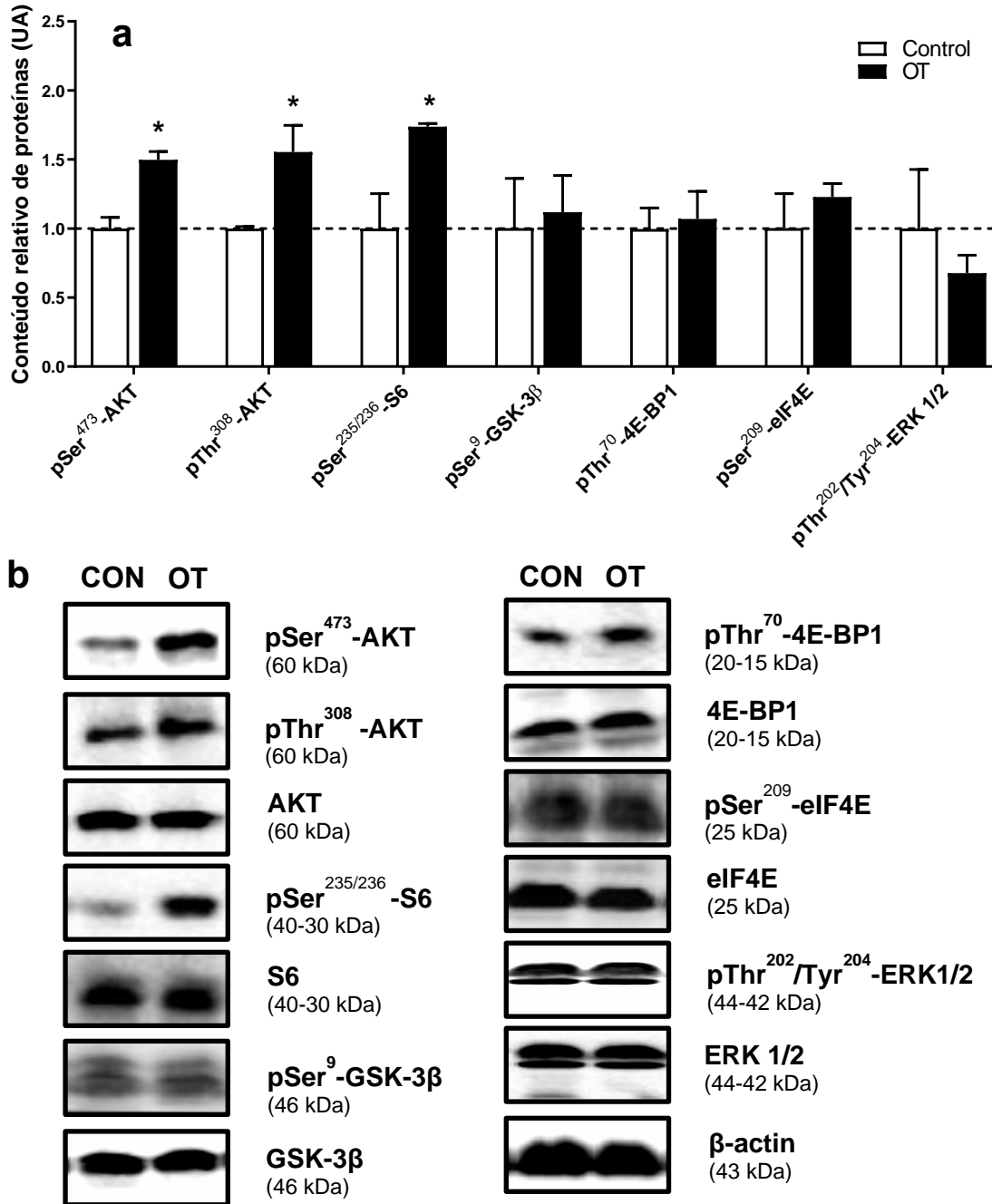
**Figura 4.** Efeito do tratamento com OT (3U.I./kg/dia, *i.p.*) na síntese de proteínas em músculos *soleus* normais de ratas (a). As imagens representativas da análise de *western blotting* são mostradas em (b). O corante ponceau foi usado para confirmar a igualdade da transferência de proteínas para a membrana. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM (n=5). \*P<0.05 vs. controle. Os dados foram analisados através de teste t.

Sabemos que, na musculatura esquelética, ambos os processos de síntese e degradação proteica são regulados, pelo menos parcialmente, pela via de sinalização mediada por PI3K/AKT (BODINE et al., 2001; LÉGER et al., 2006). Em nosso projeto apresentado no ano anterior (dados não mostrados), conseguimos demonstrar que o efeito anti-catabólico *in vitro* da ocitocina era acompanhado por um aumento na fosforilação de ambas a proteína AKT e seu alvo nuclear, o fator de transcrição FoXO.

Considerando, portanto, que no modelo experimental *in vivo*, confirmamos o efeito anabólico da OT, decidimos avaliar se nessa condição, tal processo também era mediado pela via da AKT. Por isso, avaliamos através de *western blotting*, o nível de fosforilação dessa proteína quinase, bem como de seus alvos: S6, GSK-3 $\beta$ , 4-EBP1 e eiF4E (**figura 5**). A proteína ERK1/2 (**figura 5**) foi avaliada em decorrência de relatos prévios na literatura de que a ocitocina ou até mesmo a PKC possa ativar essa via de sinalização, que pode exercer efeitos similares àquela mediada por AKT (ARROWSMITH, 2020; GE et al., 2019; GUO et al., 2020).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA



**Figura 5.** Conteúdo relativo das proteínas pSer<sup>473</sup>-AKT, pThr<sup>308</sup>-AKT, pSer<sup>235/236</sup>-S6, pSer<sup>9</sup>-GSK, pThr<sup>70</sup>-4E-BP1, pSer<sup>209</sup>-eIF4E e pThr<sup>202</sup>/Tyr<sup>204</sup>-ERK1/2 em músculos soleus de ratos (a) tratados com OT ou salina 0,9% por 3 dias consecutivos. As imagens representativas da análise de *western blotting* são mostradas em (b). Os resultados são expressos como média ± EPM. (a) \*P<0,05 vs. controle (n=3-4). Os dados foram analisados através de *test t*.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Averiguamos então que, como já era esperado, o tratamento a curto-prazo com a OT foi capaz de impulsionar a atividade da via de sinalização mediada por AKT, como demonstrado por meio do aumento em seus níveis de fosforilação juntamente à proteína S6. No entanto, nenhuma alteração foi observada nas demais proteínas, isto é, GSK-3, 4-EBP1, eIF4E e ERK1/2 (**figura 5a-b**).

## **DISCUSSÃO**

A massa muscular esquelética é regulada por uma série de agentes neuro-humorais que regulam, de forma precisa, os processos de síntese e degradação proteica (SCHIAFFINO; MAMMUCARI, 2011), mas não se conhece todo o escopo de fatores endógenos ou exógenos que possam interferir nesses processos. A ocitocina é um hormônio hipotalâmico cuja produção já foi descrita também no músculo esquelético, no qual observou-se também a presença dos receptores para esse hormônio (BENONI et al., 2020; ELABD et al., 2014).

De acordo com a proporção de fibras – isto é, tipo I e II – e, conseqüentemente, a característica oxidativa ou glicolítica de um determinado músculo, o mesmo pode apresentar proporção variável de receptores para ocitocina. De fato, alguns dados na literatura indicaram que o músculo quadríceps, glicolítico, possuía maior quantidade de OT que o soleus, oxidativo (GAJDOSECHOVA et al., 2015). Todavia, estudos prévios em nosso laboratório (dados não mostrados) mostraram o oposto: a expressão relativa de RNA para o OTR em músculos EDL (glicolítico), como mensurado por meio de RT-PCR, foi significativamente menor em comparação aos músculos soleus e, por isso, estimamos que essa seja a provável causa pela qual não ocorreram alterações biológicas no primeiro músculo após a estimulação ocitocinérgica.

Além disso, a ocitocina também possui capacidade de atuar em receptores de arginina vasopressina, embora com afinidade variável, devido às semelhanças em suas estruturas químicas (GAO; HENQUIN, 1993; SMITH; DIBENEDICTIS; VEENEMA, 2019; SONG; ALBERS, 2018). Por isso, decidimos,





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

ainda, confirmar se os efeitos observados a partir da estimulação ocitocinérgica *in vitro*, em nossos resultados, eram resultado da estimulação direta do receptor de ocitocina (OTR) ou quiçá dos receptores de vasopressina. Para tanto, avaliamos, em músculos soleus – tipo muscular no qual já observáramos efeito anteriormente – a proteólise total utilizando, desta vez, o antagonista dos receptores de ocitocina – L-371,257 –, em concentração equimolar ao agonista ( $10^{-4}$  M). Como descrito anteriormente, a presença do antagonista foi capaz de bloquear o efeito da estimulação ocitocinérgica, provando que tal efeito era realmente proveniente da ativação do OTR. Este resultado é, de certa forma, esperado, uma vez que já existem dados mostrando que não somente a ocitocina atua no músculo esquelético, como também é produzida no mesmo. Portanto, a presença do seu receptor é de suma importância para seu efeito biológico (BENONI et al., 2020).

O OTR pertence à família de receptores acoplados à proteína G e, em tecidos distintos, tem se mostrado capaz de interagir e ativar proteínas  $G_q$ ,  $G_i$  e  $G_o$  e, conseqüentemente, diferentes vias de sinalização (ARROWSMITH, 2020; GIMPL; FAHRENHOLZ, 2001). No miométrio, onde exerce uma das suas ações clássicas – estimulação da contração uterina durante o parto –, a ocitocina é conhecida por induzir a ativação de um receptor ligado a  $G_q$  (ARROWSMITH, 2020), cuja ativação inicia uma cascata de sinalização marcada pelo aumento da  $[Ca^{2+}]$  no sarcolema e, conseqüentemente, ativação da proteína quinase C (PKC) (ZHANG; NIELSEN; STRØMGAARD, 2020).

Curiosamente, já existem relatos de que a ativação da PKC é capaz de promover a atividade da via de sinalização mediada por PI3K/AKT (GRECO; STORELLI; MARSIGLIANTE, 2006) e que a estimulação de outros receptores ligados proteínas  $G_q$  exerce efeito anti-atrófico na musculatura esquelética (BALASUBRAMANIAM et al., 2009; MORALES et al., 2016). Por isso, buscamos investigar os efeitos da estimulação ocitocinérgica sobre esta via de sinalização e sobre o processo de síntese proteica nos músculos soleus.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

A via de sinalização mediada por PI3K/AKT, classicamente associada à estimulação o insulinérgica (MANNING; CANTLEY, 2007; MANNING; TOKER, 2017), exerce efeito sobre diversos processos celulares, dentre os quais a proliferação e ciclo celular (LAWLOR; ALESSI, 2001). Na musculatura esquelética, é associada à promoção de efeitos hipertróficos, seja por estimular o processo de síntese proteica ou inibir a atividade proteolítica neste tecido (YOON, 2017). Isso porque as suas proteínas-alvo são capazes de interagir em diferentes passos dos processos mencionados: a proteínas mTOR, S6 e eIF4E estimulam diretamente a síntese de proteínas (MAMMUCARI; SCHIAFFINO; SANDRI, 2008; RUVINSKY; MEYUHAS, 2006), enquanto que que a GSK-3 $\beta$ , quando fosforilada, permite a atividade do fator eucarioto de iniciação à tradução (eIF2B). Já a degradação proteica acontece de forma proporcional à atividade do fator de transcrição FoXO, que induz a produção dos atrogenes MuRF-1 e atrogina-1 (LÉGER et al., 2009).

Em nossas condições experimentais, pudemos constatar que o tratamento a curto prazo com OT foi capaz de ativar a via de sinalização mediada por PI3K/AKT, uma vez que ambos os seus substratos fosforilados foram hiper-expressos nessa circunstância. Ademais, a proteína S6, alvo da AKT, que participa do processo de síntese proteica, também sofreu um aumento de sua atividade, corroborando com os nossos resultados. Quanto às demais proteínas avaliadas – GSK-3 $\beta$ , 4-EBP1 e eIF4E –, interessante, não foram observadas alterações significativas, embora todas participem da mesma via de sinalização, indicando que estas não atuem no efeito mediado pela OT ou que, pelo menos, possam estar ativas em tempos diferentes daquele estudado aqui.

Altay et al. (2020) e Wrzal et al. (2012) descreveram que a ativação do OTR também está relacionada à estimulação da proteína ERK1/2, uma MAP quinase, que assim como a AKT também está envolvida em diversos processos de proliferação celular (MEBRATU; TESFAIGZI, 2009). Em nossas condições experimentais, a estimulação ocitocinérgica *in vivo* foi incapaz de promover a expressão dessa proteína, mas é importante ressaltar que o pico de atividade da



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

ERK1/2 acontece muito rapidamente após a sua estimulação – entre 5 e 10 minutos – acrescido de um pico menor, entretanto mais duradouro, em cerca de 6h pós-estímulo (MEBRATU; TESFAIGZI, 2009). Considerando que a eutanásia dos animais, neste trabalho, foi executada somente após 1 hora do último tratamento, podemos supor que a atividade da ERK1/2 poderia estar aumentada em um tempo anterior ao que utilizamos em nossas análises, mas são necessários outros experimentos para confirmar uma possível relação entre a estimulação do OTR e a atividade da ERK1/2 nessas condições.

Ademais, é importante mencionar a discrepância vista na avaliação do efeito da estimulação ocitocinérgica sobre o processo de síntese proteica na musculatura esquelética. Como descrito previamente, o protocolo experimental *in vitro* não mostrou alteração nesse parâmetro após 2h de incubação com WAY, ao passo que *in vivo*, os músculos apresentaram um aumento significativo na incorporação de puromicina após 3 dias de tratamento com OT, indicando, portanto, o aumento da síntese proteica. Desta forma, acreditamos que o efeito da OT sobre esse processo aconteça de forma indireta, por meio de algum mediador ainda desconhecido.

De fato, a ocitocina estimula também a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas (GAO; HENQUIN, 1993) e, uma vez que esta última possui caráter anabólico sobre o metabolismo de proteínas musculares, abre-se a possibilidade de que o efeito *in vivo* da ocitocina sobre a síntese proteica possa decorrer, pelo menos parcialmente, a partir do estímulo à secreção insulinérgica. Mais estudos são necessários para avaliar a possível relação entre a ocitocina e a insulina em nossas condições experimentais. Vale mencionar que parte dessa hipótese já está sendo testada em nosso laboratório e será discutida num relatório distinto, pelo discente responsável.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

## **5. CONCLUSÕES**

A partir dos dados obtidos, podemos concluir que o efeito da ocitocina:

- (i) em seu caráter anabólico, é aparentemente limitado aos músculos de caráter predominantemente oxidativo;
- (ii) é, de fato, mediado pelo OTR, uma vez que o uso *in vitro* do antagonista desse receptor aboliu os efeitos da incubação com o agonista ocitocinérgico;
- (iii) não exerce função estimulatória direta sobre o processo de síntese proteica *in vitro*, sugerindo que os efeitos anabólicos observados *in vivo* possam ser mediados por um mecanismo secundário, estimulado pela OT.

## **6. PERSPECTIVAS DE FUTUROS TRABALHOS**

Os resultados deste projeto contribuem para o melhor entendimento dos efeitos da estimulação ocitocinérgica sobre o metabolismo de proteínas musculares esqueléticas, consoante com dados de relatórios apresentados previamente por membros do nosso laboratório em edições anteriores do Programa de Iniciação Científica desta instituição.

A partir deste plano de trabalho, pudemos esclarecer melhor algumas das questões que permaneceram pendentes de pesquisas anteriores, mas os dados atuais também abrem um leque de possibilidades para o posterior esclarecimento de novos questionamentos.

Pudemos observar que a OT é capaz de estimular o processo de síntese proteica *in vivo* no músculo esquelético, opostamente ao que observamos no modelo experimental *in vitro*. Desta forma, **pretendemos, posteriormente, correlacionar esse efeito da estimulação ocitocinérgica *in vivo*, com uma possível mediação da insulina, que sabidamente possui ação anabólica**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**sobre esse tecido.** Assim, podemos esclarecer melhor toda uma plethora de funções que este hormônio possa exercer na musculatura.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAY, B. et al. Effect of Systemic Oxytocin Administration on New Bone Formation and Distraction Rate in Rabbit Mandible. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, p. S0278239120302305, mar. 2020.

ARROWSMITH, S. Oxytocin and vasopressin signalling and myometrial contraction. **Current Opinion in Physiology**, Pregnancy and the Myometrium. v. 13, p. 62–70, 1 fev. 2020.

BALASUBRAMANIAM, A. et al. Ghrelin inhibits skeletal muscle protein breakdown in rats with thermal injury through normalizing elevated expression of E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 296, n. 4, p. R893–R901, 1 abr. 2009.

BARACOS, V. E.; GOLDBERG, A. L. Maintenance of normal length improves protein balance and energy status in isolated rat skeletal muscles. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 251, n. 4, p. C588–C596, 1 out. 1986.

BENONI, A. et al. Neurohypophyseal hormones and skeletal muscle: a tale of two faces. **European Journal of Translational Myology**, v. 30, n. 1, 1 abr. 2020.

BILLUPS, D. et al. Modulation of Gq-Protein-Coupled Inositol Trisphosphate and Ca<sup>2+</sup> Signaling by the Membrane Potential. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 39, p. 9983–9995, 27 set. 2006.

BODINE, S. C. et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nature Cell Biology**, v. 3, n. 11, p. 1014–1019, nov. 2001.

BOUITBIR, J. et al. Mechanisms of statin-associated skeletal muscle-associated symptoms. **Pharmacological Research**, v. 154, p. 104201, abr. 2020.

BRETON, C. et al. Presence of Functional Oxytocin Receptors in Cultured Human Myoblasts. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 3, p. 1415–1418, mar. 2002.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

DE JAGER, N. et al. Chronic exposure to anabolic steroids induces the muscle expression of oxytocin and a more than fiftyfold increase in circulating oxytocin in cattle. **Physiological genomics**, v. 43, p. 467–78, 1 fev. 2011.

DING, C.; LEOW, M. K. -S.; MAGKOS, F. Oxytocin in metabolic homeostasis: implications for obesity and diabetes management. **Obesity Reviews**, v. 20, n. 1, p. 22–40, jan. 2019.

DIVARI, S. et al. Oxytocin precursor gene expression in bovine skeletal muscle is regulated by  $17\beta$ -oestradiol and dexamethasone. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 4358–4366, 15 dez. 2013.

ELABD, C. et al. Oxytocin is an age-specific circulating hormone that is necessary for muscle maintenance and regeneration. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, dez. 2014.

GAJDOSECHOVA, L. et al. Differential Regulation of Oxytocin Receptor in Various Adipose Tissue Depots and Skeletal Muscle Types in Obese Zucker Rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 47, n. 08, p. 600–604, 7 jan. 2015.

GAO, Z.-Y.; HENQUIN, J.-C. Arginine Vasopressin and Oxytocin Effects in Mouse Pancreatic  $\beta$ -cells: Receptors Involved in Stimulation of Insulin Release. **Diabetes**, v. 42, n. 6, p. 914–921, 1 jun. 1993.

GE, B. et al. Oxytocin facilitates the proliferation, migration and osteogenic differentiation of human periodontal stem cells in vitro. **Archives of Oral Biology**, v. 99, p. 126–133, mar. 2019.

GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. The Oxytocin Receptor System: Structure, Function, and Regulation. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 629–683, abr. 2001.

GONÇALVES, D. A. P. et al. Clenbuterol suppresses proteasomal and lysosomal proteolysis and atrophy-related genes in denervated rat soleus muscles independently of Akt. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 302, n. 1, p. E123–E133, jan. 2012.

GOODMAN, C. A.; HORNBERGER, T. A. Measuring Protein Synthesis With SUnSET: A Valid Alternative to Traditional Techniques? **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 41, n. 2, p. 107–115, abr. 2013.

GRECO, S.; STORELLI, C.; MARSIGLIANTE, S. Protein kinase C (PKC)- $\delta$ / $\epsilon$  mediate the PKC/Akt-dependent phosphorylation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 in MCF-7 cells stimulated by bradykinin. **Journal of Endocrinology**, v. 188, n. 1, p. 79–89, 2006.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

GUO, W. et al. Crosstalk between PKC and MAPK pathway activation in cardiac fibroblasts in a rat model of atrial fibrillation. **Biotechnology Letters**, v. 42, n. 7, p. 1219–1227, 1 jul. 2020.

HOELZ, L. V. B. et al. G Protein-Coupled Receptors. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 5, 2013.

KETTELHUT, I. C.; WING, S. S.; GOLDBERG, A. L. Endocrine regulation of protein breakdown in skeletal muscle. **Diabetes/Metabolism Reviews**, v. 4, n. 8, p. 751–772, dez. 1988.

KONGSUWAN, K. et al. The effect of combination treatment with trenbolone acetate and estradiol-17 $\beta$  on skeletal muscle expression and plasma concentrations of oxytocin in sheep. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, n. 1, p. 67–73, jul. 2012.

LAWLOR, M. A.; ALESSI, D. R. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses? **Journal of Cell Science**, v. 114, n. 16, p. 2903–2910, 15 ago. 2001.

LEE, E. S. et al. Oxytocin stimulates glucose uptake in skeletal muscle cells through the calcium–CaMKK–AMPK pathway. **Regulatory Peptides**, v. 151, n. 1–3, p. 71–74, nov. 2008.

LÉGER, B. et al. Akt signalling through GSK-3 $\beta$ , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy: Akt signalling in muscle hypertrophy and atrophy. **The Journal of Physiology**, v. 576, n. 3, p. 923–933, 1 nov. 2006.

LÉGER, B. et al. Atrogin-1, MuRF1, and FoXO, as well as phosphorylated GSK-3 $\beta$  and 4E-BP1 are reduced in skeletal muscle of chronic spinal cord-injured patients. **Muscle & Nerve**, v. 40, n. 1, p. 69–78, jul. 2009.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, nov. 1951.

MAMMUCARI, C.; SCHIAFFINO, S.; SANDRI, M. Downstream of Akt: FoxO3 and mTOR in the regulation of autophagy in skeletal muscle. **Autophagy**, v. 4, n. 4, p. 524–526, 16 maio 2008.

MANNING, B. D.; CANTLEY, L. C. AKT/PKB Signaling: Navigating Downstream. **Cell**, v. 129, n. 7, p. 1261–1274, jun. 2007.

MANNING, B. D.; TOKER, A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. **Cell**, v. 169, n. 3, p. 381–405, abr. 2017.





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

MEBRATU, Y.; TESFAIGZI, Y. How ERK1/2 Activation Controls Cell Proliferation and Cell Death Is Subcellular Localization the Answer? **Cell cycle (Georgetown, Tex.)**, v. 8, n. 8, p. 1168–1175, 15 abr. 2009.

MIZUNO, N.; ITOH, H. Functions and regulatory mechanisms of Gq-signaling pathways. **Neuro-Signals**, v. 17, n. 1, p. 42–54, 2009.

MORALES, M. G. et al. Angiotensin-(1-7) attenuates disuse skeletal muscle atrophy in mice via its receptor, Mas. **Disease Models & Mechanisms**, v. 9, n. 4, p. 441–449, 1 abr. 2016.

NOISEUX, N. et al. Preconditioning of stem cells by oxytocin to improve their therapeutic potential. **Endocrinology**, v. 153, n. 11, p. 5361–5372, nov. 2012.

NORRIS, D. O.; CARR, J. A. **Vertebrate endocrinology**. Fifth edition ed. Amsterdam: Academic Press, Elsevier, 2013.

RIBEIRO, L. C. et al. Produção, composição e rendimento em queijo do leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 438–444, abr. 2007.

RUVINSKY, I.; MEYUHAS, O. Ribosomal protein S6 phosphorylation: from protein synthesis to cell size. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 31, n. 6, p. 342–348, jun. 2006.

SCHARFF, R.; WOOL, I. Effect of diabetes on the concentration of amino acids in plasma and heart muscle of rats. **Biochemical Journal**, v. 99, n. 1, p. 173–178, 1 abr. 1966.

SCHIAFFINO, S.; MAMMUCARI, C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. **Skeletal Muscle**, v. 1, n. 1, p. 4, 2011.

SCHMIDT, E. K. et al. SUnSET, a nonradioactive method to monitor protein synthesis. **Nature Methods**, v. 6, n. 4, p. 275–277, abr. 2009.

SMITH, C. J. W.; DIBENEDICTIS, B. T.; VEENEMA, A. H. Comparing vasopressin and oxytocin fiber and receptor density patterns in the social behavior neural network: Implications for cross-system signaling. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 53, p. 100737, 1 abr. 2019.

SONG, Z.; ALBERS, H. E. Cross-talk among oxytocin and arginine-vasopressin receptors: Relevance for basic and clinical studies of the brain and periphery. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 51, p. 14–24, out. 2018.

TERBLANCHE, N. et al. An observational cohort study of 3 units versus 5 units slow intravenous bolus oxytocin in women undergoing elective caesarean





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

delivery. **Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society**, v. 68, n. 4, p. 547–553, ago. 2017.

WRZAL, P. K. et al. Functional interactions between the oxytocin receptor and the  $\beta$ 2-adrenergic receptor: Implications for ERK1/2 activation in human myometrial cells. **Cellular Signalling**, v. 24, n. 1, p. 333–341, jan. 2012.

YOON, M.-S. mTOR as a Key Regulator in Maintaining Skeletal Muscle Mass. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 788, 2017.

ZHANG, H.; NIELSEN, A. L.; STRØMGAARD, K. Recent achievements in developing selective Gq inhibitors. **Medicinal Research Reviews**, v. 40, n. 1, p. 135–157, 2020.

## **8. OUTRAS ATIVIDADES**

O bolsista:

- atuou como monitor no 29º Encontro de Iniciação Científica (EIC), durante a VI Semana acadêmica da Universidade Federal de Sergipe;
- participou do mini-curso intitulado “Redação Científica”, durante o evento supracitado;
- participou, como monitor, da ação de extensão “I Curso de Verão em Fisiologia: Fisiologia Fora da Caixa!”, promovida pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFS;
- conta, como coautor, com dois resumos apresentados no 54º congresso da Sociedade Brasileira de Fisiologia, ocorrido em agosto de 2019, a saber: “ANABOLIC EFFECTS OF OXYTOCIN IN RAT SKELETAL MUSCLE PROTEIN METABOLISM” e “OXYTOCIN ATTENUATES PROTEOLYSIS IN RAT SKELETAL MUSCLES”, produtos de trabalhos prévios do nosso laboratório.
- conta, como coautor, com um artigo científico fruto de seu trabalho de IC, submetido ao *Journal of Molecular and Cellular Endocrinology* (FI 3,99), que já possui um primeiro parecer emitido pela revista e está em fase de correção pelos autores.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

- há de participar do 55º congresso da Sociedade Brasileira de Fisiologia, a ocorrer em outubro do ano corrente.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**ANEXOS**



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

ANEXO 1




Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
Universidade Federal de Sergipe  
Coordenação de Pesquisa  
Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA)

CERTIFICADO

2ª via

Certificamos que a proposta intitulada "PAPEL DA OCTOCINA NO METABOLISMO DE PROTEÍNAS EM MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATOS", registrada com o nº 62/2017, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Danilo Lustrino Borges que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (esqueleto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de 19/12/2017.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 03/2018, Término: 02/2022
Especie/linhagem/raca	Ratos Heterogênicos Wistar
Nº de animais	328
Peso/Idade	60-90g / 25-35 dias
Sexo	F
Origem	Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da UFS.

  
Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA  
Coordenador do CEPA/UFS