

FABIANA BARBOSA GONÇALVES

**INFLUÊNCIA DA AUTO-SELEÇÃO À LUZ NO RITMO
CIRCADIANO DE ATIVIDADE MOTORA EM *Callithrix jacchus***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Rio
Grande do Norte, como parte
dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em
Psicobiologia.

**NATAL
2006**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INFLUÊNCIA DA AUTO-SELEÇÃO À LUZ NO RITMO
CIRCADIANO DE ATIVIDADE MOTORA EM *Callithrix jacchus***

FABIANA BARBOSA GONÇALVES

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Rio
Grande do Norte, como parte
dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em
Psicobiologia.

**Orientadora: Prof^ª Dr^ª Carolina
Virginia M. de Azevedo**

**NATAL
2006**

Título:

**INFLUÊNCIA DA AUTO-SELEÇÃO À LUZ NO RITMO CIRCADIANO
DE ATIVIDADE MOTORA EM *Callithrix jacchus***

Autora:

FABIANA BARBOSA GONÇALVES

Data da apresentação:

26 / 06 / 2006

Banca examinadora:

Profa. Dra. Carolina Virginia M. de Azevedo (orientadora)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Fernando Mazzilli Louzada
Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. John Fontenele Araujo
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

*Dedico à grande teia formada por pessoas queridas
Que têm as suas vidas entrelaçadas na minha*

“O homem é a única criatura que pode alargar suas áreas de comportamento inteligente pelo pensar [vale incluir os outros animais]. Ele consegue isso melhorando suas habilidades específicas através do domínio sobre os detalhes. Como? Prestando a máxima atenção ao que esteja fazendo e experimentando, na ocasião em que o esteja fazendo e experimentando. Então, mais adiante ele faz ressuscitar a experiência em sua mente para enxergar como poderia ter agido melhor. Com esse processo ele se prepara para agir mais inteligentemente na próxima vez que essa situação surgir; ainda mais, ele estará constantemente adquirindo novas habilidades com as quais enfrentará novas situações”.

David Harold Fink

Agradecimentos

A gratidão é uma difícil lição que devemos pôr em prática diariamente. Entretanto, reservo este pequeno espaço para dedicar meu enorme agradecimento a todos que, direta ou indiretamente, tornaram este sonho possível.

Ao longo desses dois anos em que concentrei esforços para a conclusão do Mestrado, lidei com a difícil tarefa de crescer longe daqueles que sempre lutaram para o engrandecimento de sua filha caçula. Não havendo dúvida da importância suprema na concretização desse sonho, agradeço aos meus queridos pais, Antônio Gonçalves e Maria do Carmo Gonçalves, por essa mais nova realização de vida que obtive com o apoio de vocês.

Além do crescimento pessoal, também houve neste ínterim o engrandecimento profissional. Por isso, agradeço à Prof^a Carolina Azevedo pelo apoio e incentivo para transformar os primeiros passos cambaliantes de uma pequena recifense em passos mais firmes na Cronobiologia. O meu agradecimento pela inserção profissional vem acompanhado de muita admiração e respeito.

Ao Prof. John Araújo, pela presença constante e pelas valiosas contribuições na fundamentação teórica deste trabalho, que, confesso, esteve muitas vezes corrompida pelo excesso de atividades.

Ao Prof. Alexandre Menezes, pelas “pílulas de noção” receitadas. Acredito que sem fazer uso delas estaria sofrendo de um distúrbio sério, que prejudicaria o andamento perfeito desse trabalho.

A todos os professores que compõem o Laboratório de Cronobiologia pelos exemplos de profissionais que são. Dentre eles, destaco a astúcia do Prof. Jeferson Cavalcante, a sabedoria serena da Prof^a Miriam Stela e a motivação de Verônica Valentinuzzi, qualidades com as quais pude me deleitar ao longo desses anos.

Meu sincero agradecimento a todos os professores do Departamento de Fisiologia, que ao longo do Mestrado agiram inconscientemente como incentivadores em mim.

Agradeço aos alunos que por muito tempo estiveram reunidos numa pequena saleta para um bem comum, Sebastião Pacheco, Crhistine Silva, Paula Rocha, Alexsandro Lamarck, Christina Camillo e Rute Sousa, compartilhando emoções e decepções. Aos que contribuem com a formação do LabCrono meu profundo obrigado!

Às minhas queridas companheiras que dividiram os cuidados com os animais, Aline Belísio, Paula Rocha e Crhistine Silva. Por muitas vezes as nossas atividades estiveram misturadas com a vontade de encontrar os pequeninos sagüis.

Aos quatro convidados ilustres desse estudo: Alceu, pela curiosidade inconfundível e pela incrível habilidade de virar os pratos de comida, Boris, pela emissão de grunhidos de alegria sempre quando entrávamos na sala com alimentos, Doko, por causa da sua avidez por comida que o fizera engordar um pouco ao final do estudo, e Xande, que exercia um completo fascínio em nós com seus olhos sempre expressivos. Estudar esses quatro sagüis foi a tarefa mais compensatória que tive!

Ao acolhimento natalense, apoio emocional e paciência heróica do meu querido Cosme Neto, historiador com uma incrível habilidade léxica que contribuiu bastante para a revisão dos meus textos acadêmicos. Sem ti as dificuldades teriam se tornado obstáculos intransponíveis.

À pequena turma de recifenses que pude dividir moradia e sentimentos, Tatiana Crêspo, Sebastião Pacheco e Ermeton Duarte (Tony). Coincidências ou não, acabamos nos encontrando na terra dos “hômis”. Nã!!!

Aos amigos de turma, em especial à Ismênia Gurgel e Yalkiria Guadalupe, pelos grandes momentos de aprendizado compartilhados.

Aos funcionários do Núcleo de Primatologia que em muito contribuíram para a execução deste projeto. Pude contar com a organização de Edinólia para a escolha dos animais, aos cuidados médicos sempre presentes de Flávio e as contribuições na alimentação e cuidados com a sala de todos os funcionários. Dentre eles, destaco a participação de “Tota” e de Luís ao longo deste tempo.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal e do Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado. Elemento fundamental na concretização deste objetivo.

Deixo para o fim, mas não por ter menor importância, o agradecimento às minhas irmãs queridas, Juliana e Luciana, pela presença sempre constante em minha vida. No início parecia apenas me livrar das broncas das irmãs mais velhas, mas agora

percebo que as brincadeiras de infância e os atritos naturais da adolescência estavam contribuindo para o crescimento e fortalecimento da irmã caçula manhosa.

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
1. Introdução	
1.1. Importância da organização temporal da matéria viva	1
1.2. Sincronização fótica e seus mecanismos	3
1.3. O sagüi como modelo experimental	12
2. Objetivos	
2.1. Objetivo geral	18
2.2. Objetivos específicos	18
3. Hipóteses e Predições	19
4. Metodologia	
4.1. Sujeito experimental	20
4.2. Condições de manutenção	21
4.3. Delineamento da pesquisa	25
4.4. Coleta dos dados	
4.4.1. Perfil da atividade motora	26
4.4.2. Duração da fase ativa (α) e diferenças de ângulo de fase (ψ)	27
4.5. Análise estatística	
4.5.1. Ciclo CE (12:12)	27
4.5.2. Iluminação constante (CC)	28
5. Resultados	
5.1. Perfil circadiano da atividade motora sob o ciclo de CE	29
5.1.1. Duração da fase ativa (α)	31
5.1.2. Diferença de ângulo de fase (ψ)	32
5.1.3. Acrofase do ritmo circadiano de atividade motora	34

5.2. Perfil circadiano da atividade motora sob iluminação constante (CC)	
5.2.1. Período endógeno.....	35
5.2.2. Duração da fase ativa (α).....	42
6. Discussão.....	44
7. Conclusões.....	67
8. Referências Bibliográficas.....	68

Resumo

Gonçalves, F.B. (2006). Influência da auto-seleção à luz no ritmo circadiano de atividade motora em *Callithrix jacchus*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

Os sagüis, *Callithrix jacchus*, são primatas estritamente diurnos. A ritmicidade da atividade motora é gerada pelo sistema de temporização circadiano e modulada por fatores ambientais, principalmente pelos estímulos fóticos que compõem o ciclo claro e escuro. Os estímulos fóticos podem ajustar os osciladores biológicos promovendo mudanças no padrão rítmico da atividade, mecanismo denominado de arrastamento. Em contrapartida, a ação direta sobre o ritmo expresso, sem atuar nos osciladores biológicos, promove o mascaramento. Dessa forma, os estímulos fóticos são capazes de induzir dois mecanismos distintos que, de forma isolada ou conjunta, podem levar à sincronização do ritmo circadiano de atividade motora (RCA). Dentre os elementos que influenciam a sincronização, destacam-se a duração e os momentos de exposição à luz. Se no ambiente natural, os sagüis podem optar por locais de diferentes intensidades luminosas e estão sincronizados ao ciclo claro-escuro (CE), como os mecanismos da sincronização fótica podem ser avaliados em laboratório, através da auto-seleção à luz? Com o objetivo de responder a essa questão, foram estudados quatro sagüis machos adultos em duas condições: com e sem a caixa-ninho. Os animais foram submetidos ao ciclo CE (12:12/ 350:2 lux) e ao claro constante (CC: 350 lux) em gaiolas individuais contendo em seu interior uma caixa-ninho opaca, que permitia a auto-seleção à luz. Na sala, a temperatura foi de 25,6°C ($\pm 0,3^\circ\text{C}$) e a umidade de 78,7 ($\pm 5\%$). O registro da atividade motora foi realizado em intervalos de 5 min por sensores de movimento por infravermelho instalados sobre as gaiolas. O perfil da atividade motora foi distinto nas duas condições: sem a proteção da caixa ninho contra a luz, a frequência de atividade foi maior em CT 11-12 (ANOVA; $F_{(3,23)} = 62,27$; $p < 0,01$). Sem caixa-ninho, a duração da fase ativa (α) foi prolongada em cerca de 1 h (teste t, $p < 0,05$) e os animais apresentaram retardos significativos para o início e término da atividade (teste t, $p < 0,05$) e para a acrofase (intervalos de confiança a 5%) do RCA. Em CC, a exposição forçada à luz prolongou a fase ativa e modificou a expressão endógena do período do ritmo circadiano de atividade motora. A partir da análise dos resultados, concluímos que a auto-seleção à luz é capaz de modificar diversos parâmetros do ritmo circadiano de atividade motora em sagüis, permitindo o estudo dos mecanismos que mediam a sincronização através do modelo de toca. Pois, na ausência da caixa-ninho houve um atraso de fase entre o RCA e o CE (arrastamento) e um aumento da atividade motora no final da fase de claro (mascaramento positivo). Além disso, em CC, a exposição forçada à luz modificou o α e a expressão endógena do RCA. Portanto, sugere-se que a auto-seleção à luz deva ser considerada em estudos que avaliam a ritmicidade biológica em sagüis.

Palavras-chaves: atividade motora; sincronização; mascaramento; *Callithrix jacchus*

Abstract

Gonçalves, F.B. (2006). The influence of self-selection of light on motor activity circadian rhythm in *Callithrix jacchus*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

Marmosets, *Callithrix jacchus*, are strictly diurnal animals. The motor activity rhythmicity is generated by the circadian timing system and is modulated by environmental factors, mainly by photic stimuli that compose the light-dark cycle. Photic stimuli can reset the biological oscillators changing activity motor pattern, by a mechanism called entrainment. Otherwise, light can act directly on expressed rhythm, without act on the biological oscillators, promoting the masking. Thus, photic stimuli can synchronize the circadian activity rhythm (CAR) by two distinct mechanisms, acting isolated or at a combined way. Among the elements that can influence photic synchronization, the duration and time of photic exposure is pointed out. If in the natural environment the marmoset can choose places of different intensity illumination and is synchronized to light-dark cycle (LD), how the photic synchronization mechanism can be evaluated in laboratory by light self-selection? With objective to response this question, four adult male marmosets were studied at two conditions: with and without sleeping box. The animals were submitted to a LD cycle (12:12/ 350:2 lx) and constant light (LL: 350 lx) conditions in individual cages with an opaque sleeping box, that permitted the light self-selection. At the room, the temperature was 25.6 °C (\pm 0.3 °C) and humidity was 78.7 (\pm 5%). The motor activity was recorded at 5 min bins by infrared movement sensors installed at the top of the cages. The motor activity profile was distinct at the two conditions: without the sleeping box protection against light, the activity frequency was higher at CT 11-12 (ANOVA; $F_{(3,23)} = 62.27$; $p < 0.01$). Also, the duration of the active phase (α) was prolonged of about 1 h (t test, $p < 0.05$) and the animals showed a significant delay on the activity onset and offset (t test, $p < 0.05$) and at the acrophase (confidence intervals of 5%) of CAR. In LL, the light continuous exposure prolonged the active phase and influenced the endogenous expression of the circadian activity rhythm period. From the result analysis, it is concluded that the light self-selection can modify several parameters of CAR in marmosets, allowing the study of the synchronization mechanism using the burrow model. Thus, without sleeping box there was a phase delay between the CAR and LD (entrainment) and an increase of activity near lights off (positive masking). Furthermore, in LL, the light continuous exposure modifies α and the endogenous expression of CAR. It is suggested that the light self-selection might be take into account at investigations that evaluate the biological rhythmicity in marmosets.

Keywords: motor activity; synchronization; masking; *Callithrix jacchus*

1. Introdução

1.1. Importância da organização temporal da matéria viva

Os fatores ambientais atuam como agentes determinantes em vários níveis da organização biológica: no comportamento, na fisiologia e na morfologia dos organismos vivos (Bünning, 1967). Alguns desses fatores se repetem com regularidade na natureza, e desse modo, tornam-se pressões ambientais que atuam de forma recorrente na matéria viva (Marques, Golombek e Moreno, 2003).

Os organismos que apresentam a fisiologia e o comportamento com ritmicidade correspondente aos fatores ambientais podem se antecipar precisamente aos perigos iminentes no ambiente físico, como por exemplo, presença de predadores e competidores, ou aos fatores benéficos, como por exemplo, fonte alimentar em abundância (Menna-Barreto, 2003). Dessa maneira, a organização temporal prévia das funções pode evitar gastos energéticos desnecessários e otimizar as atividades realizadas pelos organismos (Marques, Golombek e Moreno, 2003; Cipolla-Neto, Marques e Menna-Barreto, 1988), aumentando a probabilidade de sobrevivência e o sucesso reprodutivo (Hurd e Ralph, 1998).

As funções biológicas que apresentam ritmicidade são chamadas de ritmos biológicos. Essa denominação se oficializou, e atualmente a expressão ritmos biológicos faz parte do léxico da Cronobiologia, que os define como funções orgânicas que se repetem com intervalos de tempo regulares (Halberg, 1969).

Os ritmos biológicos podem ser classificados de duas formas. A primeira classificação é baseada na frequência das oscilações biológicas (Halberg, 1960) e enquadra os ritmos em três categorias: (1) *Ritmos ultradianos* são aqueles que se repetem em menos de 20 horas, por exemplo, os batimentos cardíacos; (2) *Ritmos circadianos* (*circa*: “cerca” e *diem*: “dia”) são aqueles que acontecem aproximadamente a cada 24 horas, como por exemplo o ritmo de atividade e repouso em animais; e (3) *Ritmos infradianos*, que se repetem menos de uma vez

por dia, apresentando intervalos superiores a 28 horas; dentre estes, o ciclo menstrual nas mulheres.

Outra classificação mais recente (Araujo e Marques, 2003) critica a utilização da mesma escala temporal para classificar os ritmos biológicos (sufixo *diano*: “dia”, acrescentado às categorias na primeira classificação). Pois, segundo os autores, a primeira classificação não apresenta significado funcional e gera a supervalorização do ciclo dia e noite (24 h) em relação aos outros ciclos ambientais. A classificação proposta por Araujo e Marques (2003) sugere que os ritmos biológicos sejam agrupados de duas maneiras: (1) *Ritmos que possuem correlato ambiental*, ou seja, ritmos que estariam relacionados a ciclos geofísicos, como a atividade e repouso associada ao claro e escuro diário, e (2) *Ritmos sem correlato ambiental*, que estariam relacionados à dinâmica interna do organismo, como os batimentos cardíacos e o ciclo menstrual.

Além disso, embora existam duas classificações possíveis para os ritmos biológicos, entre elas há o consenso no que diz respeito à definição e à caracterização de suas propriedades. Entretanto, conhecer de que forma os organismos conseguem gerar e regular os ritmos biológicos não é uma tarefa simples.

Após a constatação da ubiquidade da ritmicidade nos organismos vivos (Aschoff, 1963), era mister desvendar a base morfofisiológica da geração do padrão rítmico das funções biológicas.

Entre os ritmos com correlato ambiental, a periodicidade circadiana é a mais estudada. Com o intuito de descobrir se os ritmos circadianos eram gerados intrinsecamente por estruturas biológicas ou se apenas representavam uma resposta passiva aos ciclos ambientais, era necessário submeter os organismos a condições ambientais constantes (Wever, 1979).

Sob a constância do meio externo ou com a inexistência dos fatores ambientais cíclicos, os ritmos circadianos continuavam a ser expressos, comprovando a sua endogeneidade. Porém, nessas condições, o ritmo circadiano oscila com periodicidade diferente de quando está sob a influência das pistas

ambientais, por isso, recebe a denominação de ritmo em livre-curso (Marques *et al.*, 2003).

A geração endógena observada para os ritmos circadianos capacita os organismos a manter sua ritmicidade, mesmo em condições onde os ciclos ambientais estão ausentes. Além disto, proporciona uma organização temporal em suas funções biológicas (ordem temporal interna), contribuindo para a otimização na realização de suas atividades (Marques, 2002).

Ademais, a correlação dos ritmos endógenos com os eventos ambientais é imprescindível para a capacidade adaptativa, pois assim os organismos podem se preparar antecipadamente às mudanças no ambiente e alocar suas funções biológicas em uma base temporal ambiental propícia (DeCoursey e Krulas, 1998; DeCoursey *et al.*, 2000; Roenneberg, Daan e Mellow, 2003).

1.2. Sincronização fótica e seus mecanismos

As estruturas que atuam na geração endógena dos ritmos circadianos não estão isentas da influência ambiental. Ao contrário, os organismos estão em interação contínua com um ambiente oscilante, em que os ritmos circadianos são passíveis de um ajuste temporal pelos ciclos ambientais (Moore, 1999).

O processo de ajuste dos ritmos circadianos pela ação dos fatores ambientais recebe a denominação de *sincronização*. A sincronização possui duas funções básicas: controlar a fase e ajustar o período dos ritmos endógenos (Turek e Takahashi, 2001). Contemplando-se esses dois propósitos, há a estabilidade da relação de fase entre os ritmos biológicos e os ciclos ambientais (Marques *et al.*, 2003).

Dentre os ciclos ambientais que agem na organização temporal dos organismos, cita-se o ciclo dia e noite (ou ciclo claro e escuro) como um *zeitgeber* (“doador de tempo”) preponderante, pois sua demarcação temporal é regular e seu efeito sincronizador abrange diversas espécies, desde unicelulares até animais mais complexos (Daan e Aschoff, 2001).

A sincronização ao ciclo claro e escuro, também chamada de *sincronização fótica*, faz com que os organismos aloquem suas atividades nos mesmos momentos a cada dia, por exemplo, animais que apresentam sua atividade na fase de escuro são denominados noturnos e, de maneira análoga, os animais com atividade alocada na fase de claro, diurnos. Desse modo, a sincronização está promovendo o controle da fase dos ritmos circadianos que passam a estar correlacionados ao tempo ambiental. Além da demarcação temporal das funções biológicas, o período dos ritmos circadianos sofre ajuste ambiental, passando a oscilar com as 24 horas equivalentes a um dia.

A sincronização fótica pode ser efetuada por dois mecanismos: *arrastamento* e *mascaramento* (Mrosovky, 1999; Marques *et al.*, 2003). Quando a sincronização é obtida pelo processo de *arrastamento*, a luz atinge os osciladores biológicos e ajusta o ritmo gerado por estes. Este arrastamento pode ser promovido por uma ação contínua da luz (modelo paramétrico) ou por ação discreta, através do fornecimento de pulsos de luz (modelo não-paramétrico), (Pittendrigh, 1981; Daan & Aschoff, 2001). De maneira distinta, quando o processo que promove a sincronização é o *mascaramento*, o ajuste no ritmo não perpassa os osciladores biológicos. A resposta obtida por este último processo ocorre pela atuação dos estímulos fóticos diretamente sobre estruturas efetoras (Aschoff, 1960; Mrosovsky, 1999).

Nos mamíferos, uma das estruturas responsáveis pela geração da ritmicidade circadiana é o núcleo supraquiasmático (NSQ) (Rusak, 1977). O NSQ está localizado no hipotálamo bilateralmente ao terceiro ventrículo e se encontra sobre o quiasma óptico (Meijer e Rietveld, 1989). A descoberta inequívoca da importância deste núcleo, para a geração dos ritmos endógenos, foi advinda dos experimentos realizados nos anos 90. Ralph, Foster, Davis e Menaker (1990) demonstraram que lesionando o NSQ há a perda da ritmicidade das funções biológicas, e que a realização de transplantes de NSQ após a lesão, promove a restauração do ritmo antes perdido. Este núcleo foi por muito tempo considerado o único oscilador biológico responsável pela geração e controle de todos os ritmos, denominado metaforicamente de relógio biológico.

Porém, a lesão do NSQ não é capaz de inibir totalmente a expressão de ritmos biológicos. A atividade antecipatória ao alimento é um destes ritmos que não desaparecem após a lesão do NSQ (Stephan *et al.*, 1979). A persistência de ritmos independentes ao NSQ suscita a idéia da presença de outros osciladores biológicos, que funcionaria como o NSQ, recebendo informação ambiental e sincronizando. Além disso, a evidência mais recente quanto à presença de osciladores periféricos, que permitem a capacidade rítmica em órgãos como coração, pulmão (Balsalobre *et al.*, 2000) e fígado (Stokkan *et al.*, 2001) confirmam a idéia da presença de outros osciladores biológicos (modelo multioscilar) (Damiola *et al.*, 2000; Balsalobre, 2002; Brandstaetter, 2004).

As evidências comportamentais que sustentam a idéia da presença de outros osciladores biológicos são provenientes principalmente de três fenômenos diferentes: a dessincronização interna, a bipartição ou *splitting* e a dissociação do ritmo circadiano de atividade motora.

Na dessincronização interna, há o desacoplamento entre ritmos biológicos que, antes mutuamente sincronizados, passam a expressar períodos diferentes, havendo a perda da organização temporal interna, de modo que as várias funções passam a manifestar períodos diferentes em resultado da falta de sincronia (Aschoff *et al.*, 1967). A dessincronização interna pode ser ocasionada por diversos fatores, podendo se apresentar de maneira espontânea (Weinert, Sturm e Waterhouse, 2002), forçada (Wever, 1975; Aschoff, 1988) ou transitória (Moore-Ede e Sulzman, 1981; Nagano *et al.*, 2003). Em todos os casos, diz-se que há o desacoplamento das funções rítmicas geradas por osciladores biológicos distintos.

No fenômeno da bipartição, quando o animal é submetido a condições constantes é visualizada espontaneamente a expressão de dois componentes distintos para o ritmo circadiano de atividade motora. Estes dois componentes ficam em livre-curso com períodos diferentes e podem se tornar estáveis apresentando-se em antifase de 180° entre si (Pittendrigh, 1960). A bipartição pode ser considerada uma consequência da condição de iluminação constante, fazendo com que haja o desacoplamento entre os NSQs. A demonstração de que

os NSQs bilaterais ao terceiro ventrículo, direito e esquerdo, estariam envolvidos na bipartição surgiu do experimento demonstrando que a lesão unilateral do NSQ promove o desaparecimento de um dos componentes expressos na bipartição (Pickard e Turek, 1982). Além disso, a posterior identificação da expressão molecular nos NSQs de genes envolvidos na ritmicidade biológica durante a bipartição, reitera a hipótese de que a bipartição é ocasionada pela perda do acoplamento entre os núcleos supraquiasmáticos (de la Iglesia, Meyer, Carpino Jr e Schwartz, 2002).

O modelo de dissociação é caracterizado pelo surgimento simultâneo de dois componentes do ritmo circadiano de atividade motora, com períodos diferentes, quando o animal é exposto a ciclos CE próximos ao limite de arrastamento, entre 21 e 23 horas. Sob essas condições, um componente do ritmo de atividade sincroniza ao ciclo CE e o outro entra em livre-curso (Campuzano, Vilaplana, Cambras e Díez-Noguera, 1998). Esse fenômeno é entendido como uma consequência do baixo nível de acoplamento entre as porções do NSQ, uma localizada na região ventrolateral e outra na região dorsomedial (Welsh, Logothesis, Meister e Reppert, 1995; Schwartz *et al.*, 2000; Nakamura, Honma, Shirakawa e Honma, 2001; de la Iglesia, Cambras, Schwartz e Díez-Noguera, 2004).

Os três fenômenos supracitados revelam a natureza multioscilar da geração dos ritmos biológicos, cujos osciladores podem ter diferentes graus de acoplamento dependendo das condições de iluminação (Cambras e Díez-Noguera, 1991) e da atividade motora (Campuzano, Vilaplana, Cambras e Díez-Noguera, 1999). Esses osciladores podem estar localizados fora do NSQ ou em tecidos periféricos (dessincronização interna), nos dois núcleos supraquiasmáticos (bipartição) ou até mesmo em subpopulações de cada NSQ (dissociação).

O relato da existência de outros osciladores não é um tema recente. A presença de mais de um oscilador responsivo à luz e com capacidade de levar à sincronização das funções biológicas foi tema do artigo de Pittendrigh e Daan (1976). Segundo os autores, existiriam dois osciladores em antifase de 12 h,

denominados oscilador matutino (M) e oscilador vespertino (V), que estariam associados à aurora e ao crepúsculo vespertino, respectivamente, e que estes osciladores responderiam de forma distinta ao estímulo fótico. Apesar de trazer à tona a idéia da existência de dois osciladores, este modelo não aponta uma localização exata. Somente com o advento de novos estudos, torna-se aceitável a especulação que tanto os NSQs direito e esquerdo (Daan *et al.*, 2001) quanto as porções ventrolateral e dorsomedial do NSQ (Jagota, de la Iglesia e Schwartz, 2000) possam ser as estruturas descritas por Pittendrigh e Daan na década de 1970.

Apesar de ser largamente aceita a natureza multioscilar da geração dos ritmos, o NSQ não deixa de apresentar grande importância, ao contrário, ainda continua sendo considerado a estrutura principal na geração e na coordenação do ritmo circadiano expresso, assumindo a posição de maestro sobre os outros osciladores biológicos presentes sincronizando-os ao ciclo claro e escuro ambiental (Sakamoto *et al.*, 1998).

O NSQ recebe as informações ambientais fólicas através das células retinianas, principalmente pelas células ganglionares que possuem melanopsina. Essas células são responsáveis pela captação e pela transmissão da informação fólica ao NSQ, por isso, a sua integridade é necessária para que possa acontecer a sincronização fólica (Brainard e Hanifin, 2005). Os fotorreceptores que participam da visão, cones e bastonetes, não são considerados estruturas imprescindíveis para a indução do processo de sincronização fólica, pois na ausência desses fotorreceptores retinianos foi observado o arrastamento fólico do ritmo de atividade motora em sagüis (Silva, Albuquerque e Araujo, 2005) e o mascaramento fólico em ratos (Mrosovsky, Foster e Salmon, 1999; Mrosovsky, Salmon, Foster e McCall, 2000; Mrosovsky, Lucas e Foster, 2001).

Tanto o processo de arrastamento quanto o de mascaramento podem acontecer por diversos fatores ambientais, ou pelo mesmo estímulo ambiental. A susceptibilidade do organismo ao estímulo aplicado é que determina a existência de um processo ou do outro (Marques e Waterhouse, 1994; Mrosovsky, 1999). Em plantas e insetos, o ciclo de temperatura ambiental é capaz de promover o

arrastamento dos ritmos biológicos (Marques *et al.*, 2003), embora em primatas diurnos, como o sagüi, esse estímulo seja considerado uma pista ambiental ineficiente para arrastar o ritmo circadiano de atividade, mas capaz de mascará-lo (Menezes, Moreira, Azevedo, Costa e Castro, 1993; Pálková, Sigmund e Erkert, 1999).

Por isso, os estímulos ambientais, capazes de sincronizar os ritmos biológicos, promovem respostas espécie-específicas e não devem ser categorizados nem em *arrastadores* e nem em *mascaradores*, pois a resposta biológica diante do estímulo apresentado é que difere um processo do outro (Mrosovsky, 1999).

No arrastamento, os pulsos de luz que são captados pela retina e transmitidos diretamente ao NSQ através do trato retino-hipotalâmico (TRH) e indiretamente pelo trato genículo-hipotalâmico (TGH) são capazes de promover mudanças de fase do ritmo gerado pelo oscilador biológico (Moore, 1999). Essas mudanças de fase são consideradas ajustes necessários para que o ritmo biológico permaneça sincronizado ao ciclo ambiental.

Esses ajustes, segundo o modelo não-paramétrico de arrastamento, podem ocorrer por meio de avanços ou atrasos do ritmo após pulsos rápidos de luz. Se um ritmo biológico possui o período endógeno menor que 24 h, o ajuste necessário consistirá em um atraso de fase no NSQ. Por outro lado, se o ritmo biológico possui o período endógeno maior que 24 h, será necessário um avanço de fase para que exista a sincronização entre o ciclo ambiental e o ritmo biológico. As mudanças de fase, embora promovidas pelo mesmo estímulo, ocorrem em direções opostas devido à resposta do oscilador biológico, que por sua vez é dependente da fase em que o estímulo fótico incide. A construção da curva de resposta dependente da fase (CRF) para o estímulo luminoso permite visualizar bem isso (Wechselberger e Erkert, 1994; Daan e Aschoff, 2001). Os pulsos de luz que incidem do início da noite subjetiva, momento que corresponde à fase de repouso do animal diurno ou de atividade do animal noturno, promovem atrasos de fase e os que incidem no final da noite subjetiva promovem avanços de fase. Portanto, na sincronização fótica por meio do modelo não-

paramétrico de arrastamento, o NSQ sofrerá ajustes abruptos para que os ritmos gerados possam estar correlacionados aos ciclos ambientais de maneira efetiva (Pittendrigh, 1981).

Entretanto, segundo o modelo paramétrico de controle da luz (Daan & Aschoff, 2001), estes ajustes no período e na fase do ritmo podem ocorrer por meio da aceleração ou desaceleração gradual da velocidade de funcionamento do NSQ. A característica principal que difere este modelo do anterior é a duração do estímulo fótico, que neste caso é maior e, por isso, sua ação sobre o oscilador é de forma contínua. Contudo, semelhante ao modelo não-paramétrico, as respostas do oscilador dependem da sua fase. No início da noite subjetiva o oscilador sofre desaceleração, diferente do atraso rápido visto com a aplicação dos pulsos de luz, e no final da noite subjetiva, o NSQ apresenta aceleração, não mais o avanço súbito. Porém, estas mudanças, seja na velocidade (paramétrico) ou no ângulo de fase (não-paramétrico), convergem numa mesma forma de ajuste do ritmo endógeno, o que leva a crer que estes dois modelos podem ter ações complementares e que trabalhem em uma mesma base funcional (Pittendrigh, 1981).

Quando a sincronização fótica é mediada pelo processo de mascaramento, o NSQ não é requerido. No mascaramento, o estímulo ambiental tem efeito direto no sistema motor, e por isso, a falta de funcionalidade do NSQ não impede a ocorrência do mascaramento (Redlin e Mrosovsky, 1999a), sugerindo que os mecanismos de arrastamento e mascaramento ocorram em bases morfofuncionais distintas. Isto é apoiado por Groot e Rusak (2002), que demonstraram a existência de diferenciação molecular nos processos que induzem o arrastamento e o mascaramento. Neste estudo observou-se que havia uma mutação gênica que não permitia o arrastamento do ritmo de atividade ao ciclo claro-escuro, mas o animal mutante continuava a apresentar o mascaramento de sua atividade. Ou seja, a mutação ocorrida no animal o tornava impedido de arrastar seu ritmo, mas a ação direta da luz sobre o ritmo (mascaramento) não sofreu prejuízos.

Entretanto, apesar do mascaramento ocorrer quando o NSQ está lesionado, há estudos com hamsters (Redlin e Mrosovsky, 1999a; Aschoff, 1999) que

descrevem mudanças na responsividade do sistema a agentes mascaradores ao longo das fases circadianas. Os autores descrevem que o mascaramento negativo promovido pela luz foi mais forte no final da fase claro (CT 10-14), que corresponde ao início da fase ativa para o hamster. Portanto, apesar do oscilador biológico não promover o mascaramento, os resultados desse estudo demonstram que o oscilador pode estar envolvido na modulação circadiana do mascaramento fótico.

O mascaramento foi classificado em positivo ou negativo por Aschoff e von Goetz (1988, 1989), a partir da observação da ativação ou inibição da atividade locomotora após a aplicação do estímulo fótico em hamster e em pássaros. O termo *mascaramento positivo* foi usado para descrever um aumento da atividade provocada pela luz em espécies diurnas e pelo escuro em espécies noturnas. O mascaramento negativo foi usado para descrever uma supressão da atividade pelo escuro nos animais diurnos e pela luz nos animais noturnos.

A constatação de que a luz e o escuro podem desencadear respostas contrárias tanto em espécies diurnas como noturnas fez com que surgisse outra classificação. O termo *mascaramento paradoxal positivo* define o aumento da atividade promovido pelo escuro em espécies diurnas e pela luz em noturnas. O *mascaramento paradoxal negativo* consiste na inibição da atividade locomotora provocada pela luz em animais diurnos e pelo escuro nos noturnos (Mrosovsky, 1999).

Embora tal terminologia ainda não tenha sido utilizada, o estudo realizado por Erkert e Gröber (1986) evidenciou o mascaramento paradoxal positivo exercido pela luz sobre o ritmo de atividade locomotora em primata noturno. Nesse estudo, foi testado o efeito de intensidades luminosas diferentes sobre o perfil da atividade locomotora e da temperatura corporal no macaco-da-noite (*Aotus lemurinus griseimembra*). Apesar de ser um animal noturno, com sua atividade concentrada na fase de escuro, o *Aotus* apresentou aumento da atividade locomotora e da temperatura corporal com o aumento da intensidade luminosa. O *mascaramento paradoxal positivo* também foi observado em primata diurno. Neste caso, verificou-se um aumento na atividade locomotora

com a diminuição da intensidade luminosa fornecida em sagüis. Sob intensidade luminosa de 10 lux, os animais apresentaram níveis mais elevados de atividade locomotora do que sob 500 lux, 200 lux ou 100 lux (Dias, 2001).

Portanto, vê-se que as condições ambientais, principalmente o ciclo claro e escuro, e as bases neurobiológicas interagem entre si para regular a expressão das funções biológicas.

Atualmente, considera-se que os dois mecanismos de sincronização estejam envolvidos no estabelecimento da ritmicidade biológica harmônica com os ciclos ambientais. Entretanto, isso nem sempre foi assim. Durante muito tempo, o mascaramento foi considerado uma perturbação promovida pelo estímulo luminoso, que deveria ser evitado ou até mesmo abolido nos experimentos (Lavie, 1989; Folkard, 1989). Com o desenvolvimento da Cronobiologia, o mascaramento passou a ser considerado um mecanismo importante para a sincronização dos ritmos biológicos, participando juntamente com o arrastamento no controle temporal das funções fisiológicas e comportamentais. Marques e Waterhouse (1994) sugerem que o mascaramento é responsável pelo ajuste fino dos ritmos biológicos aos ciclos ambientais, e que o ajuste temporal de forma reativa, como no caso do mascaramento, evidencia a flexibilidade dos mecanismos endógenos aos estímulos ambientais que controlam a sincronização fótica.

Apesar de ser difícil estudar o mecanismo de mascaramento isolado, já se encontram na literatura estratégias alternativas para separar o mascaramento do arrastamento. Uma alternativa bem-sucedida impõe aos organismos ciclos ultradianos de claro e escuro (3,5:3,5). Dessa forma, os animais não conseguem arrastar os ritmos biológicos, mas expressam um ritmo de atividade mascarado pelo estímulo fótico (Redlin e Mrosovsky, 1999b).

Outro método existente permite aos animais a auto-seleção à luz, por meio da utilização do modelo de toca (Pratt e Godman, 1986). Esse modelo é caracterizado pela existência de um abrigo à luz (toca), onde os animais podem selecionar os momentos de exposição luminosa pelas preferências biológicas. A existência de uma toca faria com que os animais pudessem expressar o ritmo

endógeno com menos efeito do mascaramento, pois a auto-seleção tornaria o ritmo de atividade expresso correspondente ao componente gerado pelo oscilador (produto do arrastamento). De modo inverso, a ausência da toca induziria a exposição à luz em momentos preteridos, o que aumentaria a possibilidade da ocorrência do mascaramento dos ritmos biológicos. A evidência que a disponibilidade de um ambiente escuro (toca) promove uma diminuição do efeito de mascaramento foi observada no estudo de Bastos (2005). Neste, ratos submetidos ao modelo de dissociação, ou seja, que apresentavam dois componentes para o ritmo de atividade motora (um sincronizado ao ciclo CE e o outro em livre curso), tiveram uma menor resposta reativa à luz com a presença de uma toca.

O estudo dos mecanismos que medeiam a sincronização fótica por meio do modelo de toca aponta que a periodicidade do ritmo de atividade locomotora de ratos não apresenta diferença quanto à presença ou ausência da caixa-ninho, mas a relação de fase pode ter uma forte tendência a ser modificada por causa da forma de exposição luminosa (Refinetti, 2004). Em outro estudo realizado por Boulos, Macchi, Houpt e Terman (1996) foi evidenciado que hamsters não apresentam diferenças no período do ritmo quando estão com ou sem a caixa-ninho. Entretanto, a relação de fase entre o ritmo biológico e o ciclo ambiental e a duração da fase ativa dos animais (α) sofrem mudanças na presença da caixa-ninho. Dessa forma, se a exposição à luz pode ocorrer em momentos preferenciais ou de maneira forçada, e isso induziria a ocorrência do arrastamento ou do mascaramento, a auto-seleção à luz pode ter importância na sincronização fótica das funções fisiológicas e comportamentais.

1.3. O sagüi como modelo experimental

O sagüi, *Callithrix jacchus*, possui distribuição territorial abrangente no território brasileiro, sendo encontrado desde o nordeste até as regiões centrais do país (Clarke, 1994). O sagüi é um pequeno primata diurno com hábito arbóreo pertencente à família Callithrichidae.

É uma espécie adaptável às condições de cativeiro, onde consegue manter alta taxa de fecundidade (Clarke, 1994) e repertório comportamental complexo (Yamamoto, 1993) semelhante ao que é observado em condições naturais. Os sagüis podem viver em grupos de 7 a 15 animais, em que o modo reprodutivo e cuidado parental encontrados nessa espécie permitem que exista um forte fator cooperativo entre eles na execução de suas atividades (Werdenich e Huber, 2002).

O sagüi foi estudado em diversas pesquisas que avaliam aspectos relacionados ao desenvolvimento de doenças e aos parâmetros fisiológicos. Seu tamanho pequeno favorece a manutenção em condições laboratoriais, embora traga dificuldades para as pesquisas que promovam cirurgias e a análise hormonal sérica (Clarke, 1994).

Uma revisão ampla, recém-realizada, sobre a biologia do sagüi (Abbott, Barnett, Colman, Yamamoto e Schultz-Darken, 2003) traz informações relevantes sobre a reprodução e o desenvolvimento dessa espécie, e demonstra que na última década houve um aumento considerável do número de estudos que o utilizam como modelo experimental em várias áreas, como por exemplo, nutrição, farmacologia, toxicologia e comportamento. Em relação à Cronobiologia, os primeiros estudos em sagüis relataram a existência de ritmicidade circadiana na ingestão de alimentos, na atividade geral (Petry, Riehl e Zucker, 1987) e na secreção do hormônio melatonina (Guerin e Matthews, 1990).

Nesta mesma época, Erkert (1989) evidenciou a expressão do ritmo de atividade motora de sagüis sob diversas condições ambientais. Segundo Erkert (1989), os sagüis são animais estritamente diurnos, que acordam antes do acender da luz e permanecem na caixa-ninho até a luz acender, somente depois disso iniciam imediatamente sua atividade. A inibição da atividade locomotora pelo escuro caracteriza a existência de mascaramento negativo no início da fase ativa dos sagüis. Nesse mesmo estudo, sob CE (12:12), os sagüis apresentaram uma duração média da sua atividade de $11,1 \pm 0,7$ h, que terminou geralmente 1-2 h antes do início do escuro, caracterizando uma diferença de ângulo de fase positiva (ψ^+) do ritmo de atividade em relação ao ciclo claro e escuro.

O ritmo circadiano de atividade locomotora dos sagüis foi estudado sob intensidades luminosas diferentes (0,1 a 500 lux) e após a realização de mudanças de fase de 6 h no ciclo claro e escuro. Não foram observadas mudanças significativas quanto ao período endógeno desse ritmo em relação às intensidades luminosas ou após as mudanças de fase. Além disso, nas mudanças de fase, os animais apresentaram ciclos transientes até a ressincronização total do ritmo circadiano de atividade, o que caracteriza a ocorrência do arrastamento nesta espécie (Erkert, 1989).

O período endógeno (τ) do sagüi sob condições de claro constante mostra-se menor que 24 horas ($23,2 \pm 0,3$ h). Talvez por este fator, o animal possua uma diferença de ângulo de fase positiva (ψ^+) entre o ritmo de atividade e repouso e o ciclo claro e escuro. Essa diferença de fase positiva promoveria a visualização do término da atividade antes do apagar das luzes e, por isso, a incidência luminosa nesta fase poderia induzir efeitos ativacionais no sistema. Nesse estudo, evitou-se a entrada na sala experimental nas últimas duas horas do ciclo claro-escuro, sugerindo que essa medida de controle considere a diferença de ângulo de fase positiva (ψ^+), entre a atividade e o CE, e a duração da fase ativa (α) apresentadas pelo sagüi (Erkert, 1989).

Os sagüis são animais que têm convívio social e podem utilizar a dinâmica social rítmica para sincronizar os seus ritmos biológicos. Apesar da possível sincronização social, é o estímulo fótico que exerce o papel fundamental no controle da ritmicidade biológica (Erkert, Nagel e Stephani, 1986; Erkert e Schardt, 1991).

Wechselberger e Erkert (1994) evidenciaram que os animais mantidos em condições de iluminação constante modificam a expressão dos ritmos biológicos após receber pulsos de luz com duração de 1 h. As respostas biológicas ao estímulo fótico apresentam variações ao longo das fases circadianas. No sagüi, as mudanças de fase mais pronunciadas ocorreram próximo ao final da atividade (CT 12), em que o pulso de luz desencadeou atrasos de fase e no final da fase de repouso (CT 21), em que houve avanços de fase. As respostas distintas ao estímulo fótico em determinadas fases do ciclo são claras e representam o

arrastamento exercido pela luz sobre a ritmicidade da atividade motora em espécies diurnas, como os sagüis.

A maioria das informações obtidas nos estudos cronobiológicos é proveniente de estudos em cativeiro, com sistema de iluminação fornecido por lâmpadas e controle de temperatura. Com o intuito de estudar parâmetros rítmicos com correspondência às variações ambientais, Menezes e colaboradores (1993) avaliaram a atividade motora em três sagüis adultos mantidos em cativeiro sob condições climáticas naturais. Os animais apresentaram atividade restrita à fase de claro, demarcada pelos crepúsculos (05:20 h \pm 1 min e 17:15 h \pm 1 min). Os animais iniciavam a atividade às 5:00 h \pm 3 min e a terminavam às 16:45 h \pm 7 min, resultando em uma duração média de atividade (α) de 11,6 \pm 0,47 min. As observações evidenciaram que os animais acordam antes da aurora, embora permaneçam dentro da caixa-ninho até que a intensidade luminosa do ambiente seja maior. A quietude dos animais no início da atividade, antes que a iluminação ambiental a propicie, foi descrita no trabalho realizado por Erkert (1989) em condições laboratoriais.

Menezes e colaboradores (1993) observaram que sagüis apresentam redução da atividade locomotora no meio do dia (12:00-14:00h). A redução da atividade dos sagüis, nestes horários, promoveu a visualização de um padrão bimodal para a atividade locomotora. Segundo os autores, o perfil bimodal da atividade locomotora pode estar relacionado à ocorrência da inibição da atividade locomotora pelas altas temperaturas do ambiente neste horário (mascaramento negativo). Menezes, Moreira e Menna-Barreto (1996) evidenciaram que a bimodalidade apresentada pelo ritmo de atividade locomotora dos sagüis pode se tornar mais evidente ao longo do desenvolvimento dos sagüis, mas novamente a sua presença estaria envolvida com o mecanismo de termorregulação. Apesar disso, outros perfis como o unimodal e o multimodal são também evidenciados em sagüis (Erkert, 1989).

O ciclo claro e escuro pode também promover o mascaramento do ritmo de atividade e repouso como a temperatura ambiental. Segundo Dias (2001), o ritmo circadiano de atividade locomotora e a distribuição temporal do

comportamento de autocatação em sagüis sofrem influência da intensidade luminosa durante a fase de claro nas condições experimentais. Foram testadas quatro intensidades luminosas, sob a intensidade luminosa mais fraca (10 lux), os animais apresentaram um aumento significativo na frequência da atividade locomotora e uma redução no número de episódios de autocatação. O que demonstra que as funções fisiológicas e comportamentais, além de sincronizadas pelo estímulo luminoso, apresentam diferenças em relação à intensidade do estímulo fótico, sugerindo que essa modificação pode estar vinculada ao mecanismo de mascaramento.

Na maioria dos estudos citados que revelam a ritmicidade dos sagüis, os animais são mantidos em gaiolas com caixa-ninho, apesar de não apresentarem justificativas para a metodologia aplicada. Sabe-se que a caixa-ninho é utilizada pelos animais para a ocorrência do episódio de repouso, mas, além disso, pode ser utilizada como abrigo para a auto-seleção à luz. Segundo o modelo não-paramétrico de controle da luz, existem dois momentos em que a auto-seleção à luz assume maior relevância: o início e o final da atividade. No início da atividade, a luz pode induzir avanços de fase e no fim da fase ativa, atrasos de fase. Como nesses horários ocorrem as mudanças de fase com as maiores amplitudes em sagüis (Wechselberger e Erkert, 1994), é possível especular que esses também seriam os momentos mais propícios para a ocorrência do mascaramento, positivo pela luz e negativo pelo escuro.

Portanto, a caixa-ninho assume grande importância para a sincronização fótica do ritmo circadiano de atividade motora em sagüis. A influência da caixa-ninho, no processo de sincronização do ritmo circadiano de atividade motora nesta espécie, pode ser bem evidenciada no estudo realizado por Mendes (2004). Neste estudo, os animais foram submetidos a atrasos e a avanços de fase de 6 h no ciclo claro e escuro sem a caixa-ninho. No atraso de fase foi verificada a ocorrência de ciclos transientes até a resincronização, caracterizando o arrastamento fótico do ritmo de atividade do sagüi. Entretanto, nos avanços de fase, a luz incidiu mais cedo, em horários correspondentes à inatividade dos animais, obtendo-se a resincronização imediata do ritmo circadiano de atividade

motora, provavelmente devido a um efeito ativacional imediato da luz sobre o ritmo circadiano de atividade motora, ou seja, o mascaramento positivo. Esta mesma metodologia foi realizada por Erkert (1989), mas como os animais estavam com a caixa-ninho, foram observados ciclos transientes para o ritmo circadiano de atividade motora após o atraso e o avanço de fase. Aos efeitos de mascaramento observados por Mendes (2004), o autor atribuiu à ausência da caixa-ninho nas gaiolas onde os animais foram alojados, fazendo com que durante os avanços de fase houvesse mascaramento positivo, pois no momento em que a luz acendia os sagüis não tinham nenhuma proteção contra a iluminação.

Desta forma, a caixa-ninho passa a receber, além do cuidado metodológico trivial do local onde os animais vão realizar seu repouso, a importância quanto à influência da exposição à luz na expressão dos ritmos biológicos nos sagüis.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a influência da auto-seleção e da exposição forçada à luz na sincronização fótica e na expressão endógena do ritmo circadiano de atividade motora de sagüis (*Callithrix jacchus*) adultos machos.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Comparar a amplitude, a duração da fase ativa (α), as diferenças dos ângulos de fase entre o ritmo circadiano de atividade motora e o ciclo CE e a acrofase do ritmo circadiano da atividade motora de sagüis sob o ciclo CE (12:12) entre as condições de auto-seleção e exposição forçada à luz;

2.2.2. Comparar o período endógeno e a duração da fase ativa (α) do ritmo circadiano de atividade motora de sagüis sob a condição de iluminação constante (CC) entre as condições de auto-seleção e exposição forçada à luz.

3. Hipóteses e Predições

Hipótese 1: A forma de exposição à luz modifica a expressão do ritmo circadiano de atividade motora dos sagüis em CE (12:12).

Predição 1: Na ausência da caixa-ninho, a maior duração da exposição luminosa aumentará a duração da fase ativa e a amplitude do ritmo circadiano de atividade motora em sagüis, como ocorre tipicamente em uma espécie diurna.

Predição 2: O efeito da incidência luminosa sobre a freqüência da atividade motora será diferente ao longo das fases circadianas, pois a sensibilidade do oscilador biológico ao efeito da luz muda ao longo do dia.

Predição 3: A exposição forçada à luz interferirá na relação de fase entre o ritmo circadiano de atividade e repouso e o ciclo CE.

Hipótese 2: A forma de exposição à luz influencia a expressão endógena do ritmo circadiano de atividade motora em CC.

Predição 1: A duração e os momentos de incidência luminosa poderão promover mudanças no período endógeno e na duração da fase ativa do ritmo circadiano de atividade motora em sagüis.

Hipótese 3: A auto-seleção e a exposição forçada à luz desencadeiam diferentes mecanismos de sincronização fótica do ritmo circadiano de atividade motora em sagüis.

Predição 1: Os mecanismos de arrastamento e mascaramento, que permitem a sincronização fótica, serão influenciados pela duração e pelos momentos da incidência luminosa, que, por sua vez, serão controlados pela forma de exposição à luz.

4. Metodologia

4.1. Sujeito experimental

Foram estudados quatro sagüis machos adultos (*Callithrix jacchus*) provenientes da colônia do Núcleo de Primatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, todos nascidos em condições de cativeiro (Xande–nº 865, nascido em 01/01/2001; Doko–nº 873, nascido em 27/01/2001; Alceu–nº 723, nascido em 14/01/1999; Boris–nº 939, nascido em 06/10/2002). No início do experimento a idade média dos animais foi de 4 anos (3–6 anos), portanto, todos foram considerados animais adultos (Figura 1).



Figura 1: Sagüi adulto “Boris”. Foto do interior da gaiola na sala experimental. (Fabiana Gonçalves)

A classificação etária dos animais utilizada no presente estudo seguiu o critério descrito por Abbott *et al.*, (2003). Estes autores definiram cinco faixas etárias para os sagüis a partir da congruência de informações sobre aspectos biológicos e comportamentais dessa espécie, como por exemplo, início da puberdade e maturação sexual (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação etária dos sagüis (*Callithrix jacchus*)

FAIXAS ETÁRIAS	TEMPO
Infante	0 a 3 meses
Juvenil	3 a 12 meses
Sub-adulto	13 a 18 meses
Adulto	1,5 a 8 anos
Idoso	> 8 anos

Fonte: (Abbott *et al.*, 2003)

Os critérios de inclusão dos animais estudados foram: sexo masculino, ausência de parentesco e inexistência de contato social prévio entre si. Atendendo a estes critérios, a escolha dos animais foi ao acaso. A primeira medida de controle está relacionada à influência que o ciclo ovariano pode ter na expressão do ritmo circadiano de atividade locomotora em fêmeas de sagüis (Camillo, 2000). Os outros critérios foram utilizados para evitar que o grau de parentesco ou que a existência prévia de interação social entre os animais pudessem, de algum modo, interferir nos resultados (Erkert e Schardt, 1991).

4.2. Condições de manutenção

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais construídas em malha de ferro, com dimensões de 74 x 60 x 89 cm. As gaiolas continham em seu interior uma caixa-ninho de madeira (30 x 25 x 21cm), que poderia ser removida facilmente (Figura 2), e foram equipadas com poleiros de madeira, comedouro da ração, comedouro para uvas passas e bebedouro de água. Além disso, sobre cada gaiola (cerca de 17 cm) foi instalado um sensor de movimento por infravermelho que capturou os deslocamentos e atividades motoras realizados pelos sagüis durante todas as etapas experimentais (Figuras 3 e 4).

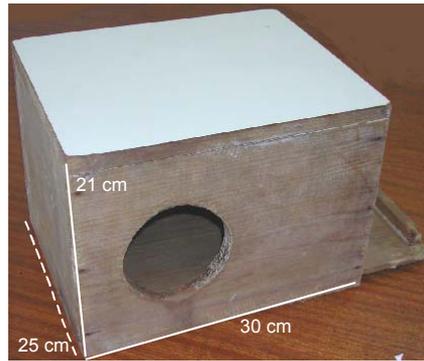


Figura 2: Foto da caixa-ninho utilizada. (Fabiana Gonçalves)

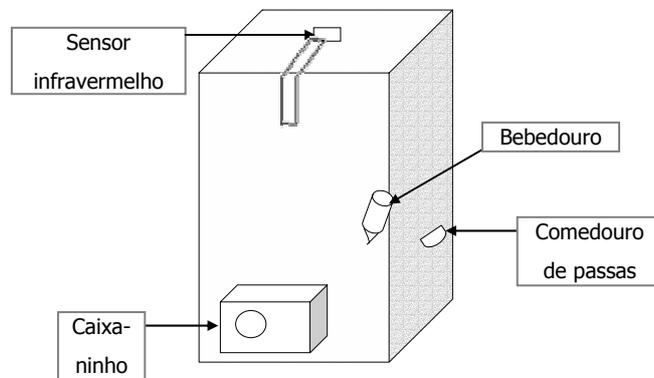


Figura 3: Representação da gaiola e os equipamentos instalados.



Figura 4: Foto da sala experimental. Observe que a gaiola está sem a caixa-ninho em seu interior. (Fabiana Gonçalves)

Os animais receberam uma vez ao dia papa à base de banana (aproximadamente 60ml), à qual foi adicionada três vezes por semana uma suplementação alimentar composta por Complexo B–EMS[®], Calcigenol–Aventis[®], Aderogil D₃–Aventis[®], Rarical–JANSSEN-CILAG[®] e Aminomix mini pet–VETNIL[®]. Com a papa, os animais receberam frutas tropicais. Além disso, ficou disponível ração para cães (Purina[®]–Deli Dog filhotes), uvas passas e água *ad libitum*.

O sistema de alimentação consistiu em duas entradas na sala ao dia. Uma para o fornecimento da alimentação matutina composta por papa e frutas, e uma segunda entrada na sala, após 12 h da primeira entrada, com o intuito de retirar os pratos com os resíduos alimentares e servir mais uma porção de frutas. Nas primeiras etapas experimentais (dia 1–77), a alimentação foi fornecida em horários aleatórios durante a fase de claro do ciclo CE (12:12) ou durante a fase correspondente ao dia subjetivo para o ciclo CC. A retirada dos pratos ocorreu durante a fase ativa do animal à exceção das últimas 2 h, pois segundo Erkert (1989) este seria o horário de maior susceptibilidade a distúrbios no ritmo circadiano de atividade. A aleatoriedade para o horário da alimentação foi uma medida adotada para evitar que a disponibilidade regular de alimento fosse utilizada como uma pista temporal ambiental (Lax, Zamora e Madrid, 1999).

Entretanto, em algumas etapas adotando este esquema de alimentação, os animais estavam com a alimentação restrita a apenas 4 h por dia, por isso, fez-se necessário adotar outro esquema, em que a alimentação ficou disponível por 12 h (dia 78–120). Esse sistema tinha horários regulares para o fornecimento e retirada do alimento, que não modificou o padrão rítmico da atividade locomotora como esperado.

As entradas na sala para o fornecimento da alimentação ou para a realização da limpeza semanal foram monitoradas por um sensor infravermelho instalado na porta. Assim, perturbações do ritmo de atividade motora, em virtude da entrada na sala experimental em horários inoportunos, puderam ser identificadas e, se preferível, retiradas da amostra.

Ao longo das etapas experimentais, os animais foram submetidos a um regime simétrico de iluminação, composto por 12 h de claro e 12 h de escuro (CE

12:12), em que as luzes acendiam às 2:00h e apagavam às 14:00h, e a condição de iluminação constante (CC). O acender e o apagar das luzes foram controlados automaticamente por um programador horário eletromecânico (TIMER). Na fase de claro do ciclo CE, a iluminação da sala foi realizada por 10 lâmpadas fluorescentes de 32 watts (~350 lux) e, na fase de escuro, a iluminação da sala foi fornecida por uma pequena lâmpada incandescente (~2 lux). A transição entre as condições de CE para CC foi realizada por meio do prolongamento da fase de claro. Na nova condição de iluminação, as luzes da sala permaneceram acesas com intensidade de ~350 lux. Os horários de iluminação durante o ciclo CE foram obtidos com precisão, pois estavam monitorados por um sensor.

A sala onde foi realizado o experimento tinha isolamento total para luz, evitando a passagem de luz entre os ambientes interno e externo, e isolamento parcial para o som (passível de silvos altos característicos da espécie estudada). Além disso, a temperatura da sala foi mantida numa média de 25,6°C ($\pm 0,3^\circ\text{C}$) e o ar da sala foi renovado diariamente por um exaustor. A umidade relativa do ar foi mantida numa média de 78,7 ($\pm 5\%$). Dentro da sala experimental estavam dispostas quatro gaiolas, onde os animais estavam alocados individualmente e puderam manter o contato visual, auditivo e olfativo entre si (Figura 5).

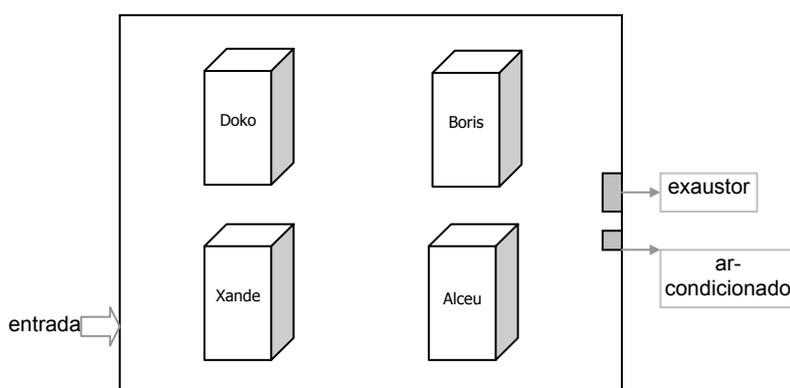


Figura 5: Representação esquemática da disposição das gaiolas dentro da sala experimental.

4.3. Delineamento da pesquisa

Antes da realização do experimento foi realizado um estudo piloto. O estudo piloto permitiu observar as mudanças no perfil da atividade motora em 4 sagüis adultos, induzidas pela presença ou ausência da caixa-ninho. No estudo piloto, os animais foram submetidos a CE (12:12 ~350:2 lux), com as luzes acendendo às 2:00h e apagando às 14:00h durante 15 dias com a caixa-ninho e, posteriormente, 15 dias sem a caixa-ninho. Estas etapas foram realizadas entre os meses de maio e junho de 2005.

A partir dos resultados obtidos neste estudo piloto, foi montado o protocolo experimental, no qual os animais foram submetidos ao ciclo de CE (12:12 ~350:2 lux) com as luzes acendendo às 2:00h e apagando às 14:00h. Além disso, os animais foram submetidos à condição de iluminação constante CC: ~350 lux. Sob o ciclo CE, os animais permaneceram 10 dias **com** a caixa-ninho e, posteriormente, 10 dias **sem** a caixa-ninho. Sob luz constante (CC: ~350 lux), os animais permaneceram 10 dias com a caixa-ninho, 50 dias sem a caixa-ninho e 30 dias após a reintrodução da caixa-ninho. O prolongamento desta última fase se fez necessário por ausência de expressão do ritmo em livre-curso (para melhor entender, *vide* Figura 6).

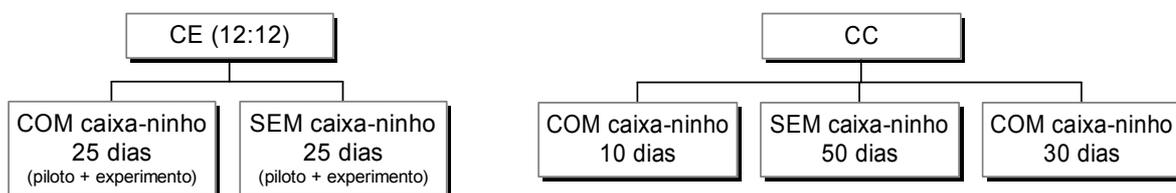


Figura 6: Representação das etapas experimentais.

4.4. Coleta dos dados

Os sensores de movimento por infravermelho instalados sobre as gaiolas permitiram o registro contínuo da atividade motora dos sagüis. Os sensores foram conectados a uma placa de aquisição de dados da National Instruments (NI PCI-6025E) que transmitiu os registros a um computador. Por meio do programa Aschoff (desenvolvido pelo Laboratório de Cronobiologia–UFRN), o computador contabilizou e armazenou os registros em intervalos de 5 min. Dessa forma, o programa gerou séries temporais que puderam ser analisadas com o programa EL TEMPS (Díez-Noguera, 1999).

4.4.1. Perfil da atividade motora

Para a análise temporal dos perfis diários da atividade locomotora foi necessário totalizar os registros brutos em intervalos de 15 minutos e posteriormente calcular a frequência média diária da atividade e 10% desta. O parâmetro utilizado para determinar o início e o término da atividade motora durante as etapas de CE (12:12) e CC foi adaptado a partir dos critérios estabelecidos por Glass, Tardif, Clementes e Mrosovsky (2001). O início da atividade foi demarcado pelo primeiro intervalo de 15 minutos com valores acima de 10% da média diária da atividade, sucedido por 30 minutos de atividade. Portanto, o início da atividade constou de 45 minutos de atividade continuada, sendo os primeiros 15 minutos com valores superiores ao índice mínimo estabelecido (10%). O critério para determinar o término da atividade motora foi o mesmo para o início, porém invertido. O fim da atividade foi definido pelos últimos 15 minutos com valores acima de 10% da média diária da atividade precedido por 30 minutos de atividade.

4.4.2. Duração da fase ativa (α) e diferenças de ângulo de fase (ψ)

A partir do estabelecimento do horário de início e término da atividade em CE e CC, a duração da fase ativa (α) foi facilmente obtida por meio de uma subtração simples.

Apenas sob CE (12:12), o horário de início e término da atividade foi comparado com o horário que as luzes acendiam e apagavam, respectivamente. Desse modo, foi analisada a diferença de ângulo de fase entre o início e o fim da atividade com o ciclo CE. Assim, duas diferenças de ângulos de fase foram calculadas e utilizadas na análise, uma para o início da atividade em relação ao acender das luzes (ψ_i) e a outra para o término da atividade em relação ao apagar das luzes (ψ_f).

4.5. Análise estatística

4.5.1. Ciclo CE (12:12)

As comparações em relação à auto-seleção (presença ou ausência da caixa-ninho) foram realizadas entre as etapas A e D. Cada etapa foi composta por 25 dias, sendo 15 dias do estudo piloto e 10 dias do experimento. A comparação dos perfis do ritmo circadiano de atividade motora dos sagüis foi realizada através da análise de variância de medidas repetidas. A duração da fase ativa (α) e as diferenças de ângulos de fase dos animais, nas duas condições experimentais, foram comparadas pelo teste $t_{(dependente)}$. A acrofase do ritmo circadiano de atividade motora, que corresponde ao momento em que se espera a maior frequência de atividade, foi obtida nas condições de presença e ausência da caixa-ninho pelo teste Cosinor e comparada a partir dos intervalos de confiança obtidos com um grau de confiança de 95%. O nível de significância adotado para todos os testes estatísticos foi $p < 0,05$ (Figura 7).

4.5.2. Iluminação constante (CC)

Sob esta condição, as comparações da duração da fase ativa (α) e do período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora (τ) foram realizadas entre as etapas B, E e F. A comparação da duração da fase ativa entre as etapas estudadas foi realizada pelo teste $t_{(dependente)}$ com nível de significância de $p < 0,05$. Por sua vez, o período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora, com e sem caixa-ninho, foi obtido pelo periodograma Lomb-Scargle (EL TEMPS) (Figura 7).

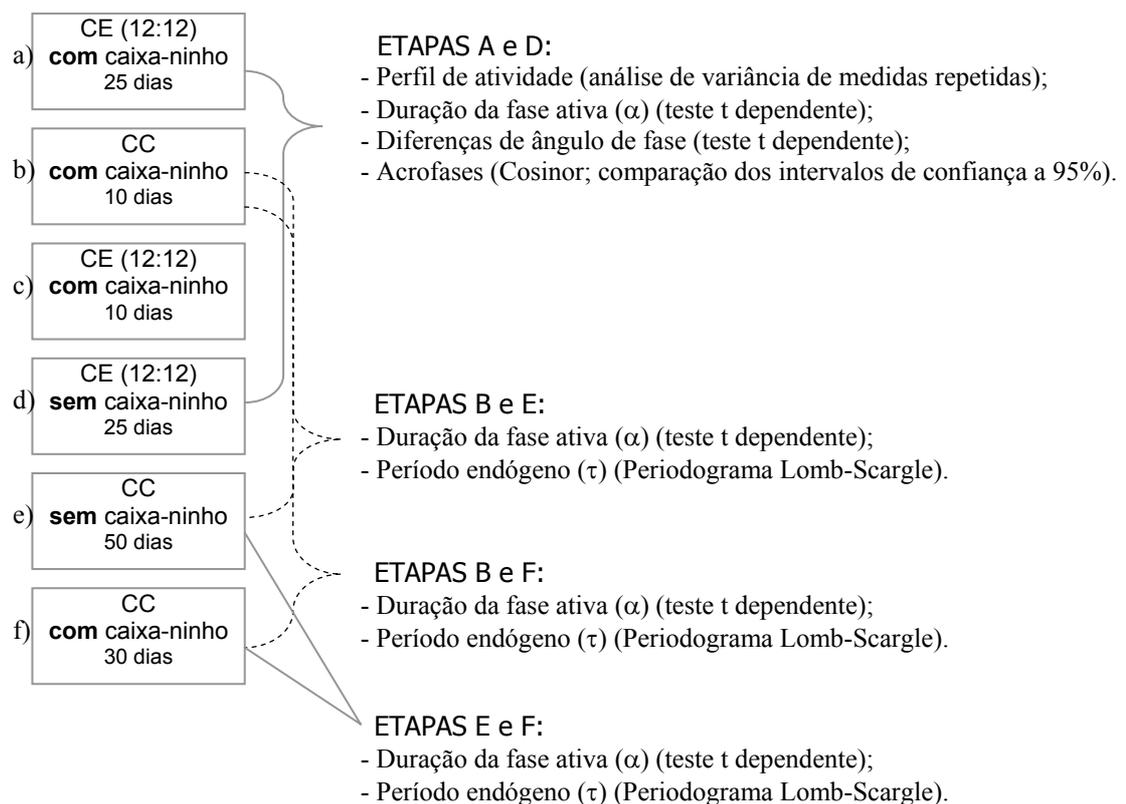


Figura 7. Resumo explicativo das análises realizadas entre as etapas experimentais.

5. Resultados

5.1. Perfil circadiano da atividade motora sob o ciclo de CE

Os animais expressaram padrões unimodais de atividade distintos em relação à possibilidade de auto-selecionar a exposição ao ciclo de iluminação (ANOVA; $F_{(1,23)}=72,23$; $p<0,01$). Nas primeiras horas da fase ativa, os perfis da atividade motora foram similares entre as duas condições estudadas, porém na ausência da caixa-ninho houve um aumento na frequência da atividade motora no final da fase ativa (ZT 12–14), próximo ao horário do apagar das luzes (Figuras 8, 16, 17, 18 e 19). Apesar de haver diferenças interindividuais no padrão circadiano de atividade motora, como mostram as Figuras 9 e 10, todos os animais apresentaram o mesmo padrão, com aumento na frequência de atividade nas últimas 2 h da fase ativa, quando estavam mantidos em gaiolas sem caixa-ninho (Figura 10).

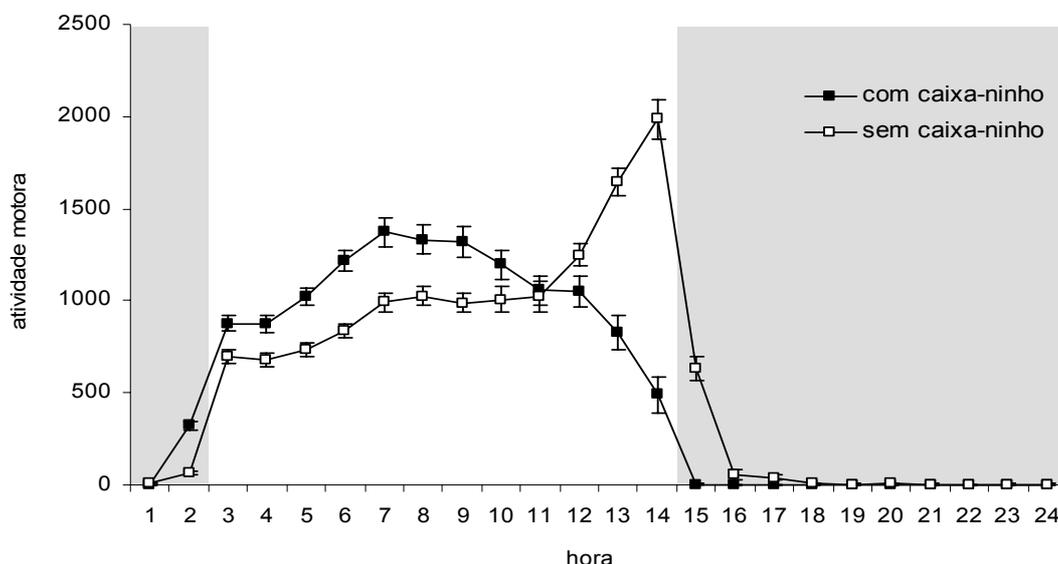


Figura 8. Perfil médio da atividade motora do sagüi na presença e ausência da caixa-ninho sob CE (12:12) (média ± ep_[100]). A fase de claro (2:00-14:00h) foi representada pela barra de cor branca e a fase de escuro pelas barras cinzas. (ANOVA _[medidas repetidas]; $F_{[1,23]} = 72,32$; $p < 0,01$).

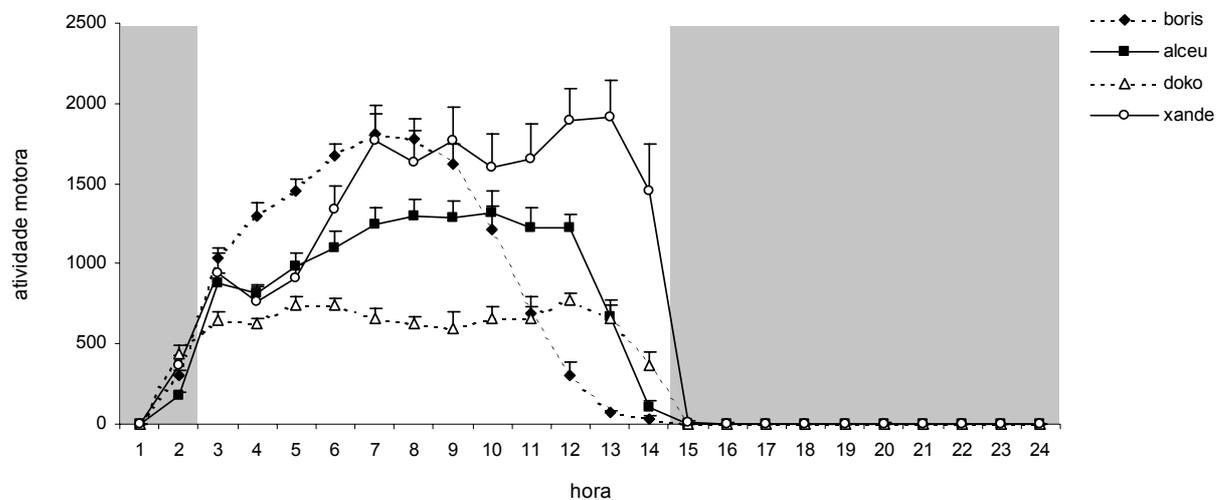


Figura 9. Frequência média diária da atividade motora dos animais na presença da caixa-ninho sob CE (12:12) (média \pm ep_[25]). (ANOVA _[medidas repetidas]; $F_{(3,23)} = 18,03$; $p < 0,01$).

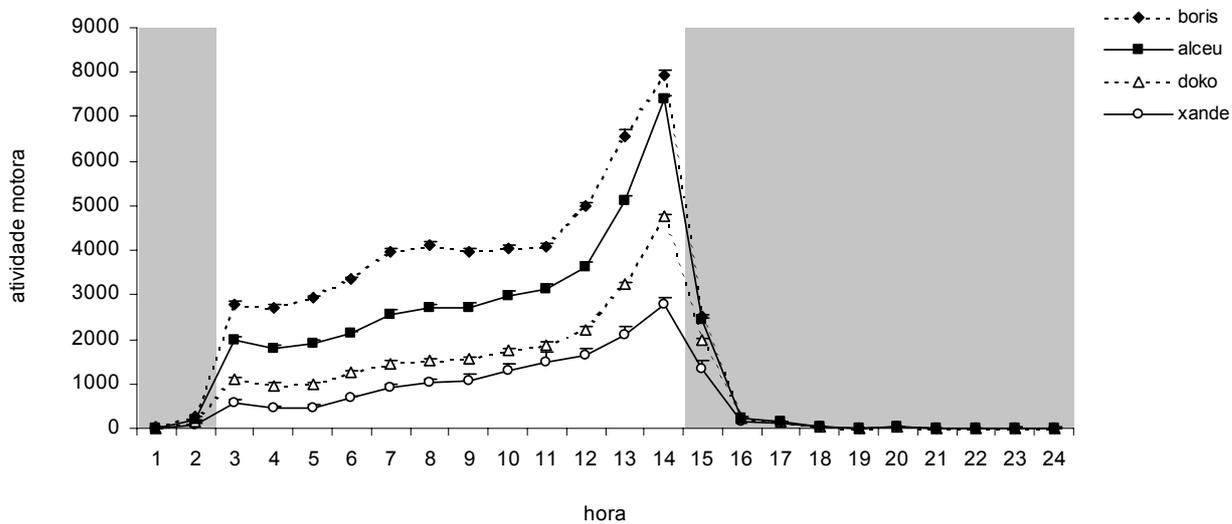


Figura 10. Frequência média diária da atividade motora dos animais na ausência da caixa-ninho sob CE (12:12) (média \pm ep_[25]). (ANOVA _[medidas repetidas]; $F_{(3,23)} = 24,98$; $p < 0,01$).

5.1.1. Duração da fase ativa (α)

No CE (12:12), todos os animais permaneceram mais tempo em atividade na ausência da caixa-ninho (teste $t_{[dependente]}$; $p < 0,05$). Nesta condição de exposição forçada à luz, a duração da fase ativa (α) foi em média $12,2 \pm 0,36$ h e na condição de auto-seleção à luz (presença da caixa-ninho), $11,04 \pm 0,58$ h. Na ausência da caixa-ninho, o aumento de aproximadamente 1 h na fase ativa foi decorrente do atraso de fase para o término da atividade, que poderia ocorrer simultaneamente ao apagar das luzes ou até mesmo após o início da fase de escuro (Figura 11).

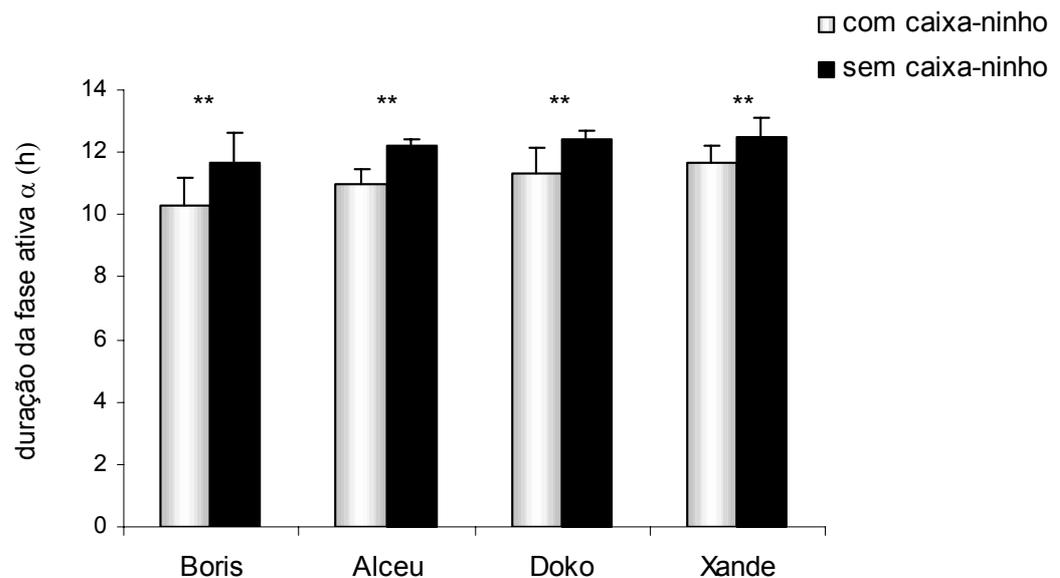


Figura 11. Duração da fase ativa (α) dos animais com e sem caixa-ninho em CE (12:12) (média \pm dp).

**Teste $t_{[dependente]}$ (Boris: $t_{[25]} = -6,85$; $p < 0,01$); (Alceu: $t_{[25]} = -14,98$; $p < 0,01$); (Doko: $t_{[25]} = -7,12$; $p < 0,01$); (Xande: $t_{[25]} = -7,73$; $p < 0,01$).

5.1.2. Diferença de ângulo de fase (ψ)

A relação de fase entre o ritmo circadiano de atividade motora e o ciclo CE (12:12) foi distinta para o início e para o término da fase ativa dos animais nas duas condições impostas: com e sem a caixa-ninho (teste $t_{[dependente]}$; $p < 0,05$).

Na presença da caixa-ninho, os animais iniciaram a atividade antes do acender das luzes (2:00 h), caracterizando uma diferença de ângulo de fase positiva entre o início da fase ativa e da fase de claro ($\psi_i = 7,5 \pm 3,55$ min). Entretanto, na ausência da caixa-ninho, esta diferença de ângulo de fase passou a ser em média negativa ($\psi_i = -1,05 \pm 2,46$ min), o que significa que os animais iniciaram a atividade após o acender das luzes. Apesar disso, dois animais, Boris e Doko, tiveram uma diferença de ângulo de fase positiva com valor muito próximo a zero, o que significa que a sua atividade iniciou poucos minutos antes do acender das luzes (Figura 12).

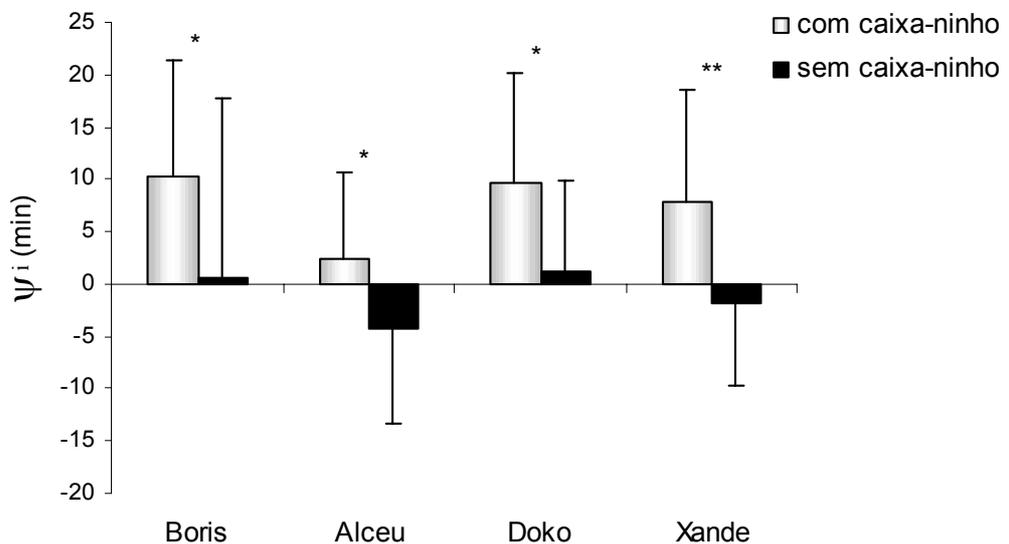


Figura 12. Diferença de ângulo de fase entre o início da atividade (ψ_i) e o início da fase de claro (2:00 h). Para os valores positivos (acima de zero), o início da atividade ocorre antes do acender das luzes, enquanto que para os valores negativos (abaixo de zero), o início da atividade ocorre depois que as luzes acendem.

Teste $t_{[dependente]}$ (*Boris: $t_{[25]} = 2,78$; $p < 0,05$); (*Alceu: $t_{[25]} = 3,38$; $p < 0,05$); (*Doko: $t_{[25]} = 3,64$; $p < 0,05$); (**Xande: $t_{[25]} = 3,94$; $p < 0,01$).

Em relação ao final da atividade dos animais, a diferença de ângulo de fase entre o término da fase ativa e da fase de claro (14:00 h) foi positiva com caixa-ninho e negativa sem a caixa-ninho. À exceção de Boris, que apresentou valores positivos nas duas condições, embora com uma redução da antecipação sem a caixa-ninho. De forma geral, pode-se dizer que quando os animais estavam com a caixa-ninho houve uma antecipação do final da atividade em relação ao apagar das luzes ($\psi_f = 66,6 \pm 35,81$ min). Em contrapartida, sem a caixa-ninho, o fim da atividade aconteceu durante ou após o apagar das luzes, tornando a diferença de ângulo de fase negativa ($\psi_f = -8,15 \pm 22,33$ min) (Figura 13).

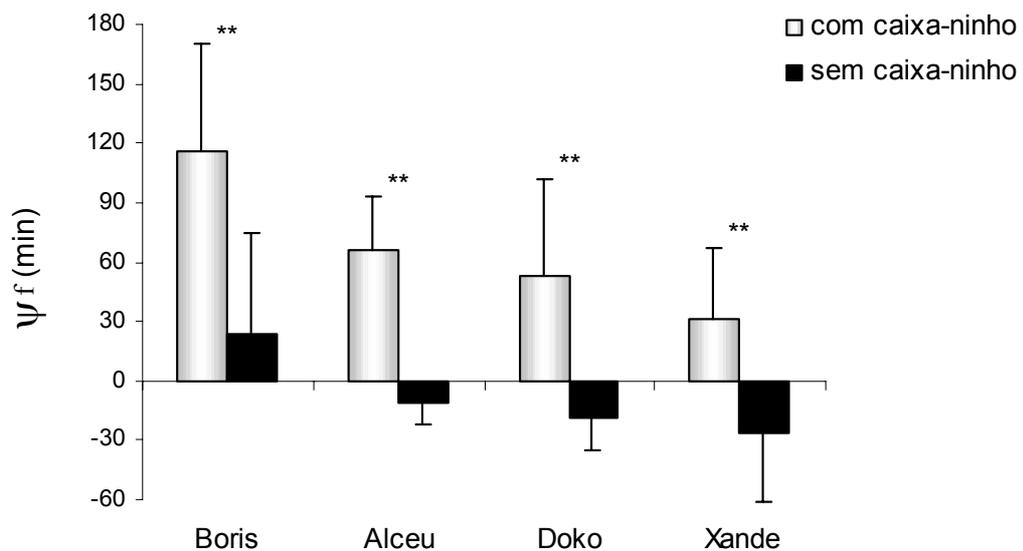


Figura 13. Diferença de ângulo de fase do fim da atividade (ψ_f) em relação ao fim da fase de claro (14:00 h). Para os valores positivos (acima de zero), o final da atividade ocorre antes do apagar das luzes, enquanto que para os valores negativos (abaixo de zero), o final da atividade ocorre depois que as luzes apagam.

**Teste $t_{[dependente]}$ (Boris: $t_{[25]} = 8,37$; $p < 0,01$); (Alceu: $t_{[25]} = 15,88$; $p < 0,01$); (Doko: $t_{[25]} = 8,66$; $p < 0,01$); (Xande: $t_{[25]} = 10,06$; $p < 0,01$).

5.1.3. Acrofase do ritmo circadiano de atividade motora

A relação de fase entre o ritmo circadiano de atividade motora e o ciclo claro e escuro (12:12) foi avaliada também por meio da análise da acrofase nas duas condições estudadas. Na presença da caixa-ninho, a acrofase do ritmo circadiano de atividade motora ocorreu em torno das $7,62 \pm 0,9$ h. Entretanto, na ausência da caixa-ninho, a acrofase ocorreu às $9,63 \pm 1,09$ h. Dessa forma, observou-se um retardo de aproximadamente 2 h na acrofase do ritmo circadiano de atividade motora quando os animais estavam sem a caixa-ninho (comparação dos intervalos de confiança a 95%) (Figura 14).

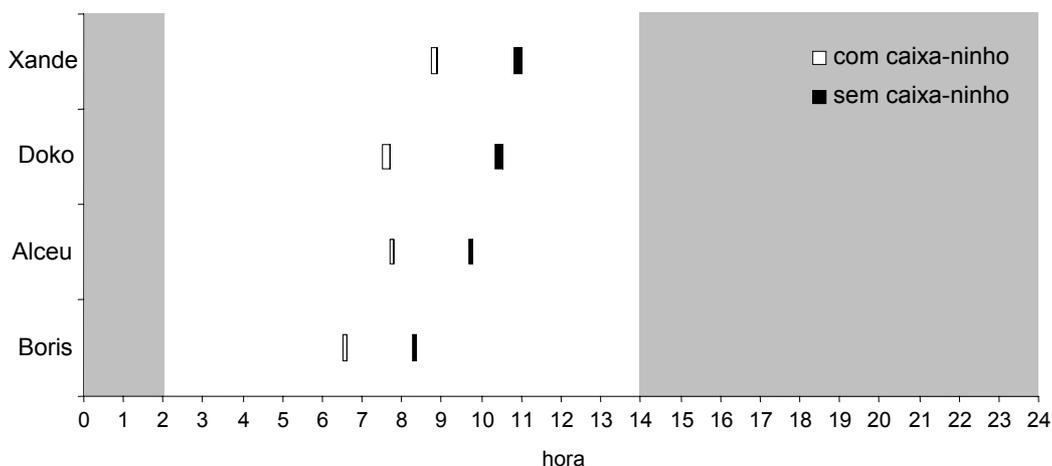


Figura 14. Acrofases do ritmo circadiano de atividade motora dos animais com e sem a caixa-ninho (intervalos de confiança). A fase de claro (2:00 - 14:00 h) foi representada pela barra de cor branca e a fase de escuro pelas barras cinzas. (Cosinor; $p < 0,05$).

5.2. Perfil circadiano da atividade motora sob iluminação constante (CC)

5.2.1. Período endógeno

Ao longo de todo o estudo, os animais foram submetidos a seis etapas experimentais (*vide* Figura 7). Em três dessas, os animais estiveram submetidos à condição de iluminação constante, duas com a caixa-ninho (etapas B e F) e uma sem caixa-ninho (etapa E).

Na etapa B, os animais foram mantidos por 10 dias em CC após um CE (12:12) **com a caixa-ninho**. Nesta etapa, todos os animais apresentaram o ritmo circadiano de atividade motora com período endógeno menor que 24 h, caracterizando o livre-curso ($\tau_{[4]}=23,77 \text{ h} \pm 0,01 \text{ h}$) (Figuras 15, 16, 17, 18 e 19; Tabela 1).

Na etapa E, os animais foram mantidos em CC após um CE (12:12) **sem a caixa-ninho**. Inicialmente, esta etapa deveria ter a duração de 10 dias, mas pela ausência do livre-curso para o ritmo circadiano de atividade motora em três dos quatro animais estudados, esta etapa foi estendida por 50 dias. Para analisar o período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora nesta condição, foi necessário subdividir esta etapa E em cinco décadas, sendo cada década correspondente a um intervalo de 10 dias consecutivos.

Na primeira década da etapa E, que representa os primeiros dias após a transição do ciclo CE para CC, todos os animais apresentaram um aumento no período endógeno, tornando-o próximo a 24 h ($\tau_{[4]}=24,07 \text{ h} \pm 0,15 \text{ h}$). Nas décadas seguintes, apenas um animal, Boris, apresentou o livre-curso característico da espécie. O período endógeno de Boris foi sempre menor que 24 h e diminuiu ao longo das décadas (Figuras 15 e 16; Tabela 1). Para os outros três animais, Alceu, Doko e Xande, o período endógeno continuou em torno de 24 h, com pequenas variações ao longo das décadas (Figuras 15, 17, 18 e 19; Tabela 1). Ao longo desta etapa, os animais que não apresentaram o livre-curso tiveram um atraso de fase gradual de aproximadamente 3 h no ritmo circadiano de atividade motora. A atividade motora que antes estava sincronizada ao ciclo

CE experimental, em que as luzes acendiam às 2:00 h e apagavam às 14:00 h, passou a estar concentrada entre 5:00 h e 17:00 h, horário correspondente ao ciclo CE ambiental externo, com periodicidade em torno de 24 h.

Na terceira e última etapa sob CC (etapa F), a caixa-ninho foi reintroduzida nas gaiolas após os 50 dias da etapa E. Na primeira década após a reintrodução da caixa-ninho, dos três animais que não apresentaram o livre-curso para o ritmo circadiano de atividade motora sem a caixa-ninho, dois apresentaram período endógeno menor que 24 h nessa nova condição. Dessa forma, na etapa F1, apenas um animal, Alceu, permaneceu com período endógeno próximo a 24 h (Figuras 15 e 17; Tabela 1), enquanto que Doko e Xande passaram a expressar o período em livre-curso ($\tau = 23,3$ h e $\tau = 23,4$ h, respectivamente) (Figuras 15, 18 e 19; Tabela 1). Boris permaneceu em livre-curso com o período endógeno um pouco maior do que na etapa E ($\tau = 23,3$ h) (Figuras 15 e 16; Tabela 1). Porém, o livre-curso de Xande não foi mantido nas décadas subseqüentes e ele voltou a ter periodicidade próxima a 24 h e apresentar a fase ativa concentrada no horário do ciclo CE ambiental externo. Assim, nas décadas F2 e F3, apenas Boris e Doko permaneceram com o período em livre-curso com pequenas variações, mas com tendência a redução no período endógeno, semelhante ao padrão expresso por Boris nas décadas da etapa E (Figura 15; Tabela 1).

Tabela 1: Período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora nas etapas e décadas de CC (Periodograma Lomb-Scargle). Etapa B (com caixa-ninho); Etapa E, composta por cinco décadas (sem caixa-ninho); Etapa F, composta por três décadas (com caixa-ninho).

ETAPAS	Xande	Doko	Alceu	Boris
B	23,8	23,7	23,8	23,9
E1	24,2	23,9	24,2	24,0
E2	23,8	24,2	24,0	23,9
E3	24,0	24,3	23,8	23,9
E4	24,0	24,0	24,0	23,6
E5	24,0	23,8	24,1	23,0
F1	23,4	23,3	24,0	23,3
F2	24,3	23,8	24,1	23,0
F3	23,8	22,7	23,8	23,2

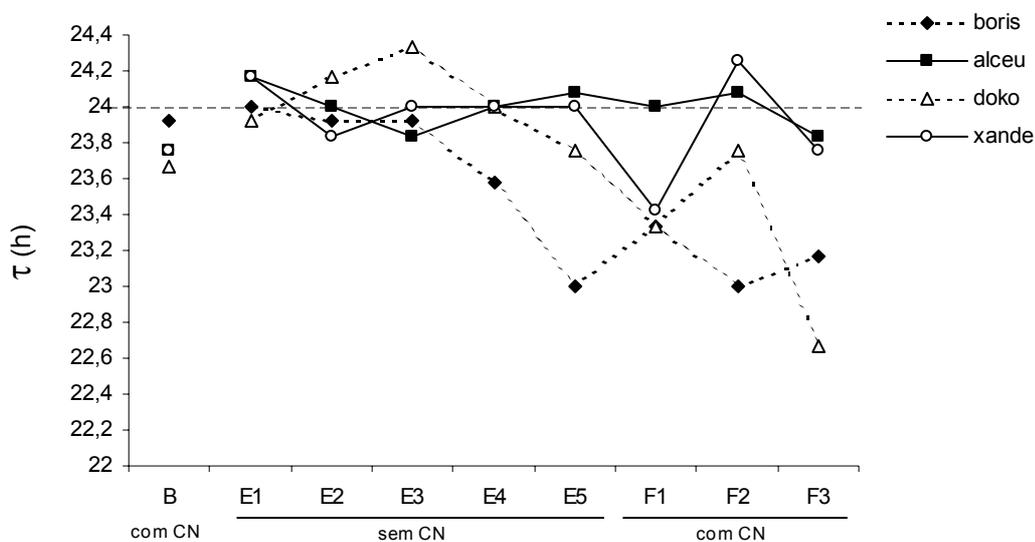


Figura 15: Período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora ao longo das etapas experimentais em CC (Periodograma Lomb-Scargle). As décadas utilizadas para subdividir as etapas E e F estão representadas no gráfico. A linha tracejada destaca o período de 24 h.

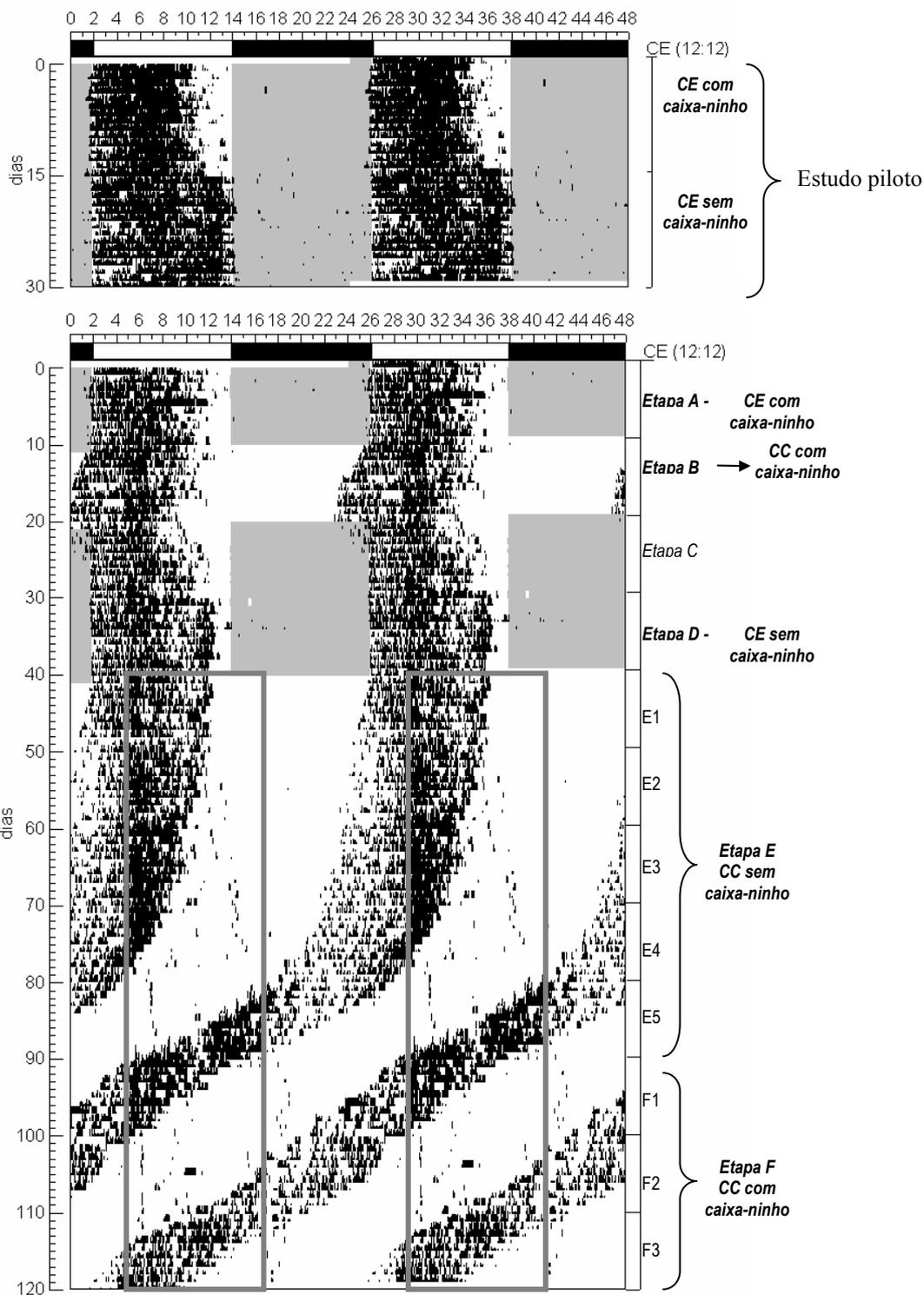


Figura 16: Actograma da frequência da atividade motora de Boris ao longo de todo o experimento. As barras cinzas representam as etapas de CE (12:12). A caixa cinza demarca aproximadamente o CE ambiental externo na época em que o estudo foi realizado (5:00-17:00 h [Fonte: aa.usno.navy.mil/data/docs/RS_OneYear.html]).

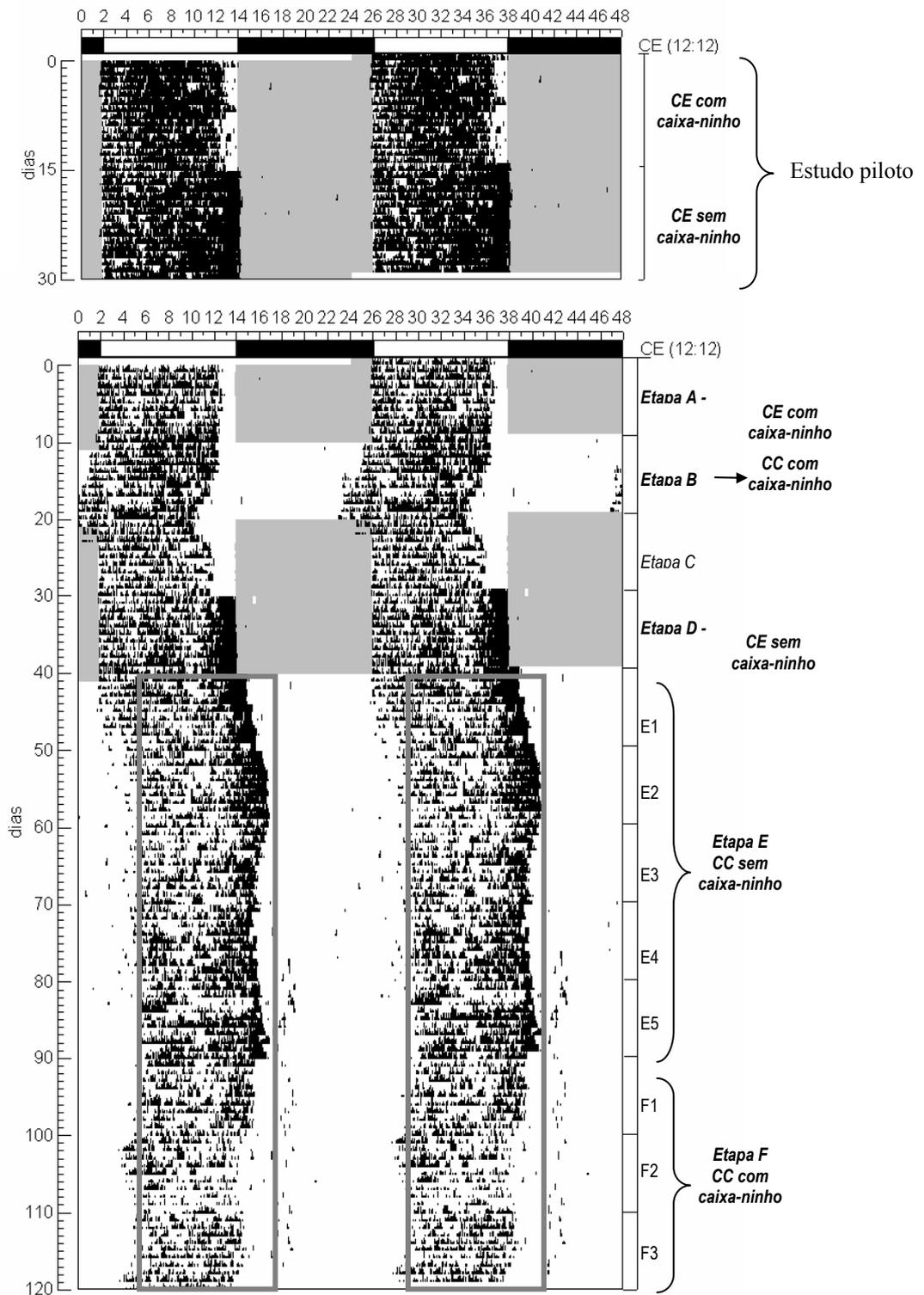


Figura 17: Actograma da frequência da atividade motora de Alceu ao longo de todo o experimento. As barras cinzas representam as etapas de CE (12:12). A caixa cinza demarca aproximadamente o CE ambiental externo na época em que o estudo foi realizado (5:00-17:00 h).

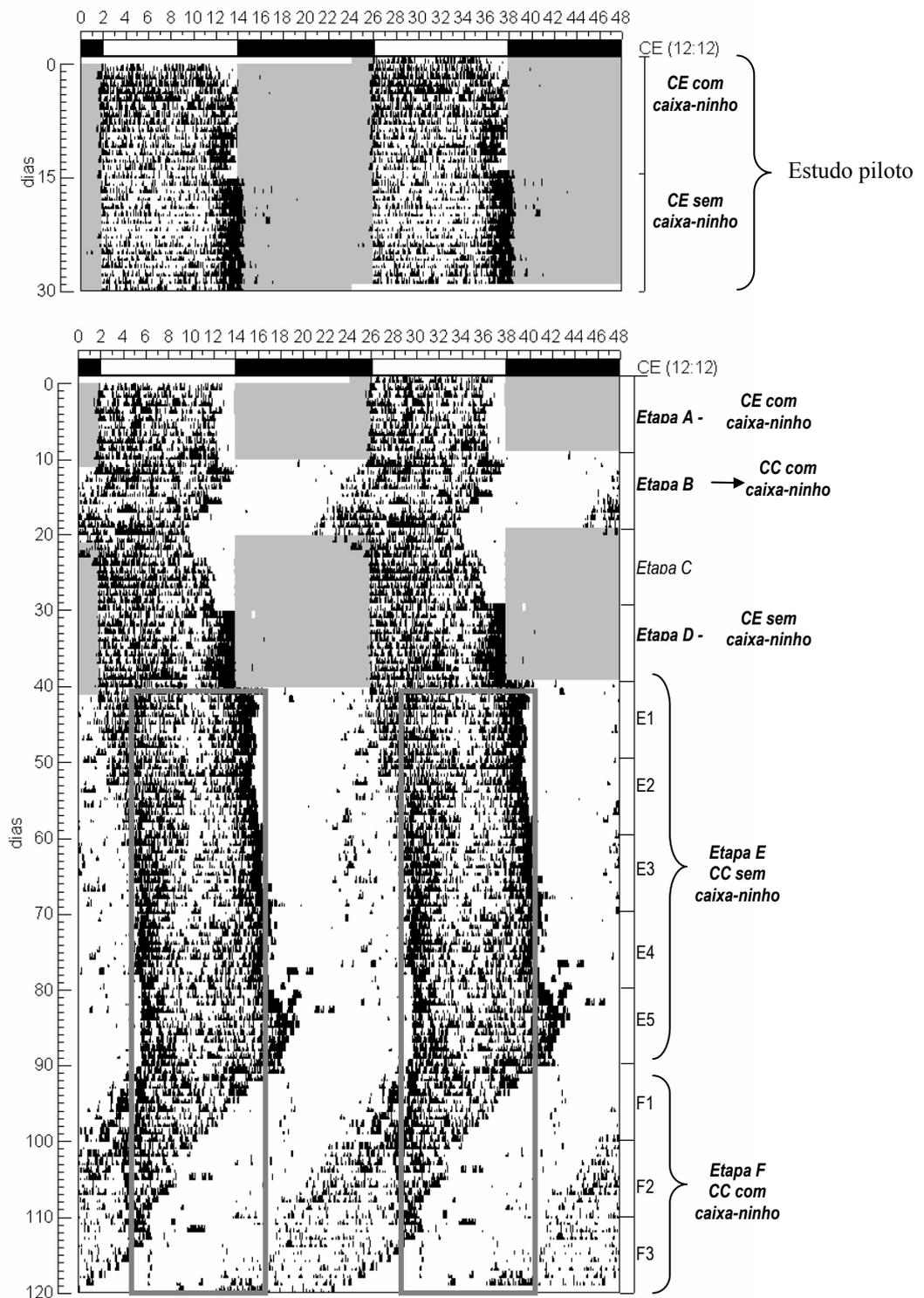


Figura 18: Actograma da frequência da atividade motora de Doko ao longo de todo o experimento. As barras cinzas representam as etapas de CE (12:12). A caixa cinza demarca aproximadamente o CE ambiental externo na época em que o estudo foi realizado (5:00-17:00 h).

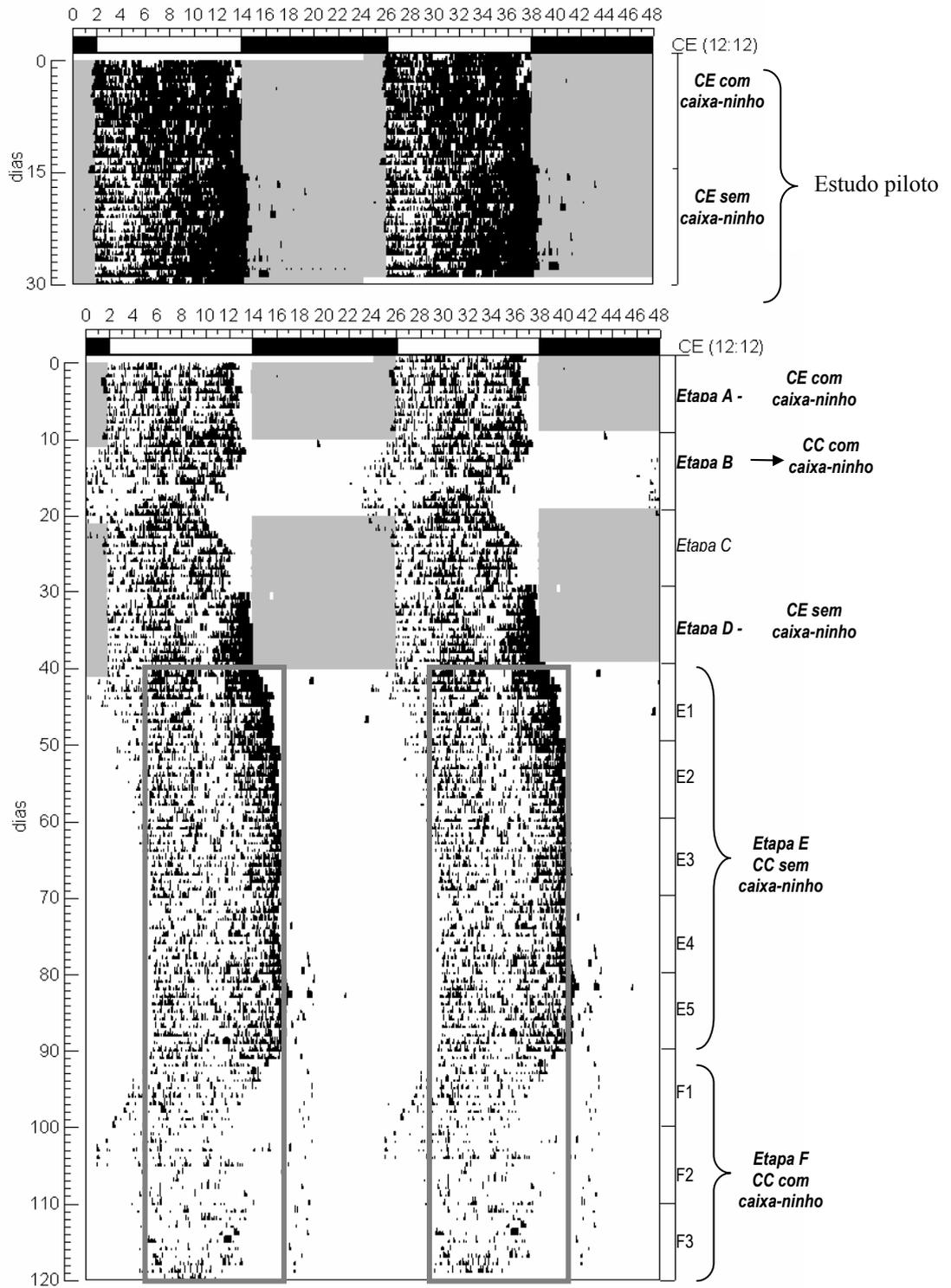


Figura 19: Actograma da frequência da atividade motora de Xande ao longo de todo o experimento. As barras cinzas representam as etapas de CE (12:12). A caixa cinza demarca aproximadamente o CE ambiental externo na época em que o estudo foi realizado (5:00-17:00 h).

5.2.2. Duração da fase ativa (α)

Sob a condição de iluminação constante (CC), a duração da fase ativa apresentou valores menores na presença da caixa-ninho (etapas B e F) em relação às etapas sem caixa-ninho (etapa E) (*vide* Tabela 2).

Após o ciclo CE (12:12), os animais permaneceram ativos em média $11,7 \pm 0,85$ h na etapa B (com caixa-ninho) e $13,0 \pm 1,83$ h na primeira década da etapa E (sem caixa-ninho) ($t_{[40]} = -6,42$; $p < 0,05$). Nas décadas subsequentes da etapa E, a duração da fase ativa foi reduzindo gradualmente, exceto na última década em que houve um pequeno aumento, possivelmente devido a mudança nos horários da alimentação (**E2**: $\alpha = 12,0 \pm 0,96$ h [$t_{E1:E2} = 4,14$; $p < 0,05$]; **E3**: $\alpha = 11,4 \pm 0,84$ h [$t_{E2:E3} = 3,45$; $p < 0,05$]; **E4**: $\alpha = 10,7 \pm 0,79$ h [$t_{E3:E4} = 3,80$; $p < 0,05$]; **E5**: $\alpha = 11,3 \pm 1,23$ h [$t_{E4:E5} = -2,76$; $p < 0,05$]; $n=40$) (Figura 20).

Entretanto, a análise individual dos animais revelou que Boris foi o único animal que não mostrou uma diferença significativa na duração da fase ativa entre B e E1 ($t_{[10]} = 0,48$; $p = 0,63$) (Figura 13; Tabela 2). Além disso, Boris também foi exceção em relação à redução apresentada no α ao longo da etapa E, sua fase ativa manteve uma duração estável ao longo das décadas ($t_{[10]}$; $p > 0,05$).

Com a reintrodução da caixa-ninho (etapa F), houve uma redução significativa na duração da fase ativa comparada à última década sem caixa-ninho (E5) ($t_{[40]} = 8,47$; $p < 0,05$) para todos os animais. Ao longo desta etapa, a duração da fase ativa reduziu na segunda década e tornou-se estável na última (**F1**: $\alpha = 9,88 \pm 1,0$ h [$t_{F1:F2} = 2,08$; $p < 0,05$]; **F2**: $\alpha = 9,37 \pm 0,88$ h [$t_{F2:F3} = -1,21$; $p=0,23$]; **F3**: $\alpha = 9,76 \pm 1,87$ h) (*vide* Figura 20; Tabela 2).

Tabela 2: Duração da fase ativa (α) do ritmo circadiano de atividade motora nas etapas e décadas em CC (média \pm dp). Etapa B (com caixa-ninho); Etapa E (cinco décadas sem caixa-ninho); Etapa F (três décadas com caixa-ninho). As comparações realizadas entre as etapas após a transição do CE para CC (B e E1) e após a reintrodução da caixa-ninho (F1) estão destacadas na tabela.

ETAPAS	Xande	Doko	Alceu	Boris
B	11,6 \pm 0,76	12,8 \pm 0,89	11,6 \pm 0,63	10,7 \pm 0,93
E1	13,2 \pm 1,18	14,9 \pm 0,98	13,4 \pm 0,31	10,5 \pm 0,71
E2	12,4 \pm 0,92	12,6 \pm 0,84	12,4 \pm 0,92	10,6 \pm 1,08
E3	11,3 \pm 0,42	12,3 \pm 0,66	11,7 \pm 0,59	10,3 \pm 0,47
E4	10,7 \pm 0,47	12,1 \pm 0,44	10,6 \pm 0,47	10,3 \pm 0,42
E5	11,3 \pm 0,25	13,0 \pm 0,68	10,9 \pm 0,40	10,2 \pm 1,22
F1	9,9 \pm 0,52	11,0 \pm 1,02	10,1 \pm 0,28	8,5 \pm 0,72
F2	8,6 \pm 1,39	10,6 \pm 1,54	9,5 \pm 0,55	8,7 \pm 0,74
F3	7,9 \pm 0,79	12,4 \pm 1,81	9,5 \pm 0,30	9,2 \pm 0,53

* teste t_[dependente]; p < 0,05.

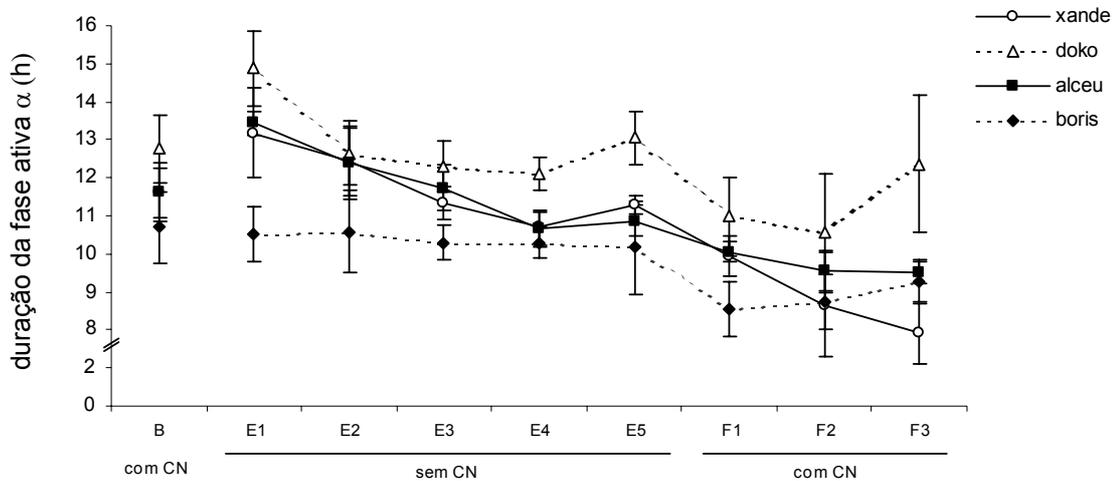


Figura 20: Duração da fase ativa (α) dos animais ao longo das etapas experimentais em CC (média \pm dp). As décadas utilizadas para subdividir as etapas E e F estão representadas no gráfico.

6. Discussão

O presente estudo é pioneiro ao investigar o efeito da auto-seleção à luz em uma espécie de primata diurno. Anteriormente, os estudos com este objetivo apresentavam justificativas contundentes para animais noturnos e/ou de hábitos fossoriais, tornando a utilização de uma toca uma medida experimental para simular as condições naturais desses animais.

Em condições naturais, os sagüis também podem adotar estratégias para selecionar a exposição à luz. A cobertura vegetal, existente em seu hábitat, pode formar diferentes estratos cuja intensidade luminosa é distribuída diferentemente. Desse modo, os sagüis podem auto-selecionar à exposição luminosa qualitativa (intensidade) e quantitativamente (duração) por meio do seu deslocamento entre os estratos vegetais.

Em nosso estudo a evidência de que a auto-seleção à luz tem efeito no ritmo circadiano de atividade motora não deixa dúvidas de que, mesmo sendo animais diurnos e com hábitos arborícolas, os sagüis que podem selecionar a forma de exposição luminosa exibem parâmetros rítmicos distintos. O que torna a utilização da caixa-ninho não mais um acessório metodológico à mera escolha do pesquisador, ao contrário, passa a ser um aparato imprescindível nas investigações que têm o ritmo circadiano de atividade motora como um elemento de expressão comportamental do sistema de temporização circadiano. Portanto, a seleção da exposição luminosa pode ser utilizada como uma estratégia comportamental importante para estabelecer a sincronização fótica das funções biológicas desses pequenos primatas.

Neste estudo, a auto-seleção à luz foi fornecida por meio da utilização da caixa-ninho, fabricada em material opaco, que impedia a passagem da luz. De acordo com a metodologia empregada, a caixa-ninho poderia ficar no interior da gaiola ou ser removida. Nas etapas em que a caixa-ninho esteve dentro da gaiola, os animais tiveram acesso a um ambiente escuro, mesmo que as luzes da sala estivessem acesas, ou seja, independentemente da fase do ciclo de iluminação, os animais tinham acesso a um ambiente isento de iluminação à livre-escolha. De

maneira contrária, nas etapas sem a caixa-ninho, os animais ficaram expostos continuamente à luz durante a fase de claro e, conseqüentemente, o ritmo circadiano de atividade motora expresso foi ajustado pelo *zeitgeber*, com as fases do ciclo de iluminação ambiental demarcando a forma de exposição à luz.

Durante as etapas em que os sagüis foram submetidos ao ciclo CE (12:12), o ritmo circadiano de atividade motora sincronizou a este ciclo, tendo a fase ativa alocada na fase de claro e o repouso na fase de escuro, como é esperado para esta espécie (Erkert, 1989; Menezes *et al.*, 1993, Moreira *et al.*, 1991). A atividade durante a fase de claro foi concentrada fora da caixa-ninho e consistiu em buscas de alimento, autocatção, marcação de cheiro e vocalizações, dentre outras. Por não fazer parte do escopo desse estudo, estes comportamentos não foram registrados, mas a partir de observações durante as visitas diárias para o fornecimento da alimentação aos animais foi possível descrevê-los. Esses comportamentos, por sua vez, são considerados característicos da espécie e são observados para sagüis de vida livre (Alonso e Langguth, 1989) ou cativos (Menezes *et al.*, 1993; Menezes *et al.*, 1996; Dias, 2001).

Na fase de escuro, caso houvesse a caixa-ninho, os animais realizavam seu episódio de repouso em seu interior. Porém, quando os animais não dispunham da caixa-ninho, o repouso foi caracterizado pelo deslocamento do animal para um canto da gaiola, onde ficaram quietos, sentados com a cabeça abaixada e com a cauda enrolada, como descrito no estudo de Dias (2001).

Os registros da atividade foram realizados continuamente através de um sensor infravermelho instalado sobre as gaiolas, o que permitiu registros apenas quando os animais se movimentavam fora da caixa-ninho. Infelizmente, este tipo de registro poderia induzir erros na interpretação dos nossos dados, caso o animal se encontrasse dentro da caixa-ninho em atividade. Entretanto, este tipo de registro encontra-se ancorado em duas premissas importantes: a primeira foi elaborada a partir do estudo realizado por Erkert (1989), que instalou microcâmeras dentro da caixa-ninho e observou que em seu interior, o sagüi não realiza atividade. A outra premissa está baseada no fato de que o sagüi permanece a maior parte do tempo da sua fase ativa fora da caixa-ninho, podendo

apresentar entradas eventuais e rápidas de caráter exploratório (Azevedo, comunicação pessoal). Portanto, o registro da atividade motora utilizado neste estudo é capaz de fornecer resultados que revelem a natureza da ritmicidade biológica dos sagüis.

Em relação às condições experimentais de auto-seleção ou de exposição forçada à luz, foram observadas diferenças quanto ao horário em que os animais iniciavam e terminavam a atividade. Quando submetidos ao ciclo CE (12:12) com a caixa-ninho, os animais iniciaram sua atividade cerca de 8 min antes do acender das luzes. Além disso, o término da atividade ocorreu em média 1 h antes da fase de escuro, num padrão semelhante ao evidenciado por Erkert (1989) e por Menezes e colaboradores (1996).

De forma distinta, sem a caixa-ninho, o início da atividade atrasou um pouco e ocorreu de forma simultânea ou posterior ao acender das luzes. Para o final da atividade, o atraso de fase foi mais pronunciado. Apesar da variabilidade intra-específica evidenciada neste estudo, o término da atividade geralmente coincidiu com o apagar das luzes ou ocorreu cerca de 8 min após. Através da visualização dos actogramas para o ritmo circadiano de atividade motora de sagüis mantidos sem a caixa-ninho em outros estudos (Silva, Albuquerque e Araujo, 2005; Mendes, 2004; Dias, 2001), é possível encontrar similaridades com os nossos resultados em relação à falta de antecipação do início da atividade e ao término tardio ou quase simultâneo ao início da fase de escuro.

As mudanças ocorridas nos horários de início e término da fase ativa se refletiram na duração da fase ativa (α). Na presença da auto-seleção à luz, os animais permaneceram ativos por $11,04 \pm 0,58$ h, enquanto que na exposição forçada à luz, $12,2 \pm 0,36$ h. A duração da fase ativa em CE (12:12), que em nosso estudo diferiu em relação à forma da exposição luminosa (facultativa ou forçada), foi condizente com os resultados descritos em estudos anteriores. No estudo em que os sagüis tiveram a opção de auto-seleção à luz e estiveram mantidos em condições de laboratório, a duração da fase ativa foi de $11,1 \pm 0,7$ h (Erkert, 1989). Em condições seminaturais, sob o ciclo CE natural, os animais mantidos com caixa-ninho podem apresentar um α de $11,6 \pm 0,47$ h (Menezes *et*

al., 1993) a $12,6 \pm 0,04$ h (Camillo, 1999). Nos estudos realizados em seu hábitat natural, os sagüis podem apresentar uma fase ativa com duração de $11,61 \pm 0,23$ h (Castro *et al.*, 2003) e de $12,1 \pm 0,31$ h (Gurgel, dados não publicados). Os resultados encontrados em condições laboratoriais com caixa-ninho são bastante similares aos nossos. Entretanto, nos estudos em condições seminaturais ou naturais, a duração da fase ativa varia numa faixa semelhante entre 11 a 12 h. Nestas condições, outros fatores que influenciam a duração da fase ativa, como por exemplo fotoperíodo, temperatura e precipitação pluviométrica (Bezerra, Moreira e Menezes, 1996), podem contribuir para as diferenças observadas entre os nossos resultados e os obtidos em condições seminatural e natural.

Em relação à acrofase, outro parâmetro utilizado para avaliar a relação de fase entre o ritmo circadiano de atividade motora e o ciclo CE em nosso estudo, houve distinções quanto à auto-seleção ou exposição forçada à luz. Acrofase é o momento em que se espera a maior frequência de atividade motora ao longo de todas as fases circadianas. Esta variável rítmica foi utilizada porque os animais apresentaram padrão unimodal para o ritmo circadiano de atividade motora. Apesar do padrão bimodal ser largamente evidenciado nos estudos realizados com sagüis (Menezes *et al.*, 1993; Menezes *et al.*, 1996; Dias, 2001; Camillo, 1999), os perfis unimodal e multimodal do ritmo de atividade motora são também observados nessa espécie (Erkert, 1989). Entretanto, a utilização de apenas uma acrofase, quando se tem o padrão bimodal ou multimodal para o ritmo de atividade, pode fornecer uma medida errônea para o momento de maior frequência de atividade expressa nos sagüis (Moreira, *et al.*, 1991; Dias, 2001). Com base nisso, pode-se dizer que o atraso de fase de aproximadamente 2 h verificado na acrofase, quando os animais estiveram sem a caixa-ninho, pode ser mais uma representação de que a auto-seleção à luz está influenciando a relação de fase do ritmo circadiano de atividade motora com o ciclo claro e escuro nestes animais.

Neste estudo, foi encontrada uma variabilidade intragrupo para a relação de fase entre o ritmo circadiano de atividade motora e o ciclo CE (ψ_i , ψ_f e acrofase), que pode estar relacionada a diferenças intra-específicas no ritmo

circadiano da atividade motora em sagüis (Erkert, 1989; Menezes *et al.*, 1996). A análise temporal da atividade circadiana dos sagüis aponta a existência de fases distintas para a alocação das atividades entre animais que pertençam ao mesmo nicho temporal, tal como evidenciado em roedores diurnos (*Octodon degus*) (Labyak, Lee e Goel, 1997).

Em humanos, estas diferenças de fase encontradas em um mesmo nicho temporal são utilizadas para classificar o cronotipo em três principais categorias: matutino, intermediário e vespertino (Horne e Östberg, 1979). Em sagüis, essa classificação dos cronotipos ainda não é possível, mas acredita-se que, em um futuro não muito distante, com o surgimento de novos estudos que registrem a atividade motora de sagüis e outros parâmetros fisiológicos seja possível criar um método para verificar a presença de cronotipos. Por meio da extrapolação do método de classificação dos cronotipos utilizada em humanos para estes primatas não-humanos, dos quatro sagüis estudados, Boris poderia ser classificado como matutino, Doko e Alceu como intermediários e Xande como vespertino. Todavia, sem a metodologia necessária, essa tentativa de classificá-los é considerada precoce.

Apesar de haver diferenças na expressão do perfil de atividade entre os quatro animais, todos apresentaram o mesmo padrão de prolongamento da fase ativa (α), atrasos para o início e término da atividade e atraso na acrofase do ritmo circadiano de atividade motora quando tiveram exposição forçada à luz (ausência da caixa-ninho).

Os sagüis com acesso à caixa-ninho provavelmente receberam a incidência da luz por menos tempo e em fases distintas de quando estavam sem a caixa-ninho. Mais do que a duração da fase de claro, as mudanças encontradas nas relações de fase do ritmo circadiano de atividade motora em relação ao ciclo CE parecem vinculadas aos momentos em que os animais estiveram mais expostos ao estímulo fótico.

Com caixa-ninho, os animais iniciaram a atividade aproximadamente 7 min antes do acender das luzes, enquanto que sem caixa-ninho este momento sofreu um pequeno atraso e passou a ocorrer cerca de 2 min após início da fase

de claro. Os poucos minutos a menos de incidência luminosa recebida pelos animais mantidos sem caixa-ninho fizeram com que houvesse pouca diferença na duração da exposição à luz neste horário entre as condições. Entretanto, no final da atividade foi encontrada a maior distinção para a duração da incidência luminosa. Com caixa-ninho, os animais terminaram a atividade bem mais cedo do que quando estiveram sem caixa-ninho, ou seja, com um ambiente escuro acessível, os animais se recolheram mais cedo e estiveram menos expostos à luz no final da sua fase ativa. Esse momento foi considerado por Erkert (1989) de grande vulnerabilidade do oscilador biológico à ação do estímulo luminoso em sagüis.

Para entender as fases de maior susceptibilidade ao estímulo fótico é necessário citar o modelo de controle não-paramétrico da luz (Pittendrigh, 1981). Neste modelo, os pulsos luminosos podem desencadear diferentes mudanças de fase abruptas no ritmo que é gerado pelo oscilador biológico, dependendo da fase circadiana que o atinge. Essas diferentes respostas do oscilador ao mesmo estímulo permitiram a formulação do modelo de dois osciladores (Pittendrigh e Daan, 1976). No modelo de dois osciladores é defendida a hipótese de que existem dois osciladores, um matutino, que estaria atrelado ao nascer do sol, e um vespertino, que estaria relacionado ao pôr-do-sol. Esses dois osciladores seriam os responsáveis pelos ajustes sazonais do ritmo de acordo com os fotoperíodos e reagiriam de forma distinta ao estímulo luminoso. O oscilador matutino estaria responsável pelo ajuste dos ritmos através de avanços de fase, enquanto que o oscilador vespertino, pelo ajuste através de atrasos de fase. No recente estudo de Jagota e colaboradores (2000), foi demonstrado que os dois osciladores biológicos poderiam ter bases morfofuncionais distintas, localizados em porções diferentes do NSQ, na região ventrolateral e na dorsomedial.

A partir da curva de resposta dependente da fase (CRF) para os sagüis, construída após a administração de pulsos de luz com duração de 1 h (1.100 lux), constatou-se momentos em que as mudanças de fase foram mais pronunciadas, em que os ajustes de fase provocados pela incidência luminosa podem ser realizados por meio dos avanços ou de atrasos de fase. Os maiores atrasos de fase

ocorrem próximo ao final da atividade, CT 12 (-90 min), em contrapartida, os maiores avanços de fase acontecem próximo ao início da atividade, CT 21 (+ 25 min) (Wechselberger e Erkert, 1994).

Sabendo disso, os nossos resultados poderiam ser explicados de duas formas: com caixa-ninho (1) os animais estariam expostos à luz por 2 min a mais durante o início da fase ativa do que sem caixa-ninho. Essa pequena diferença poderia contribuir para o avanço de fase, conseqüentemente, uma antecipação do início da atividade em relação ao acender das luzes; (2) os animais se recolheram cerca de 1 h antes do apagar das luzes e devido à ausência da incidência luminosa nesta fase, o atraso de fase não seria promovido. De modo inverso, sem caixa-ninho (1) os animais teriam uma menor exposição à luz no início da fase ativa, conseqüentemente, não sofreriam o avanço visualizado na condição com caixa-ninho; (2) a exposição prolongada à luz no final da atividade promoveria um atraso de fase. Embora essas explicações sejam discutidas para cada condição estudada, não precisam necessariamente ser tratadas como excludentes, ao contrário, os efeitos da exposição à luz, no início e no final da fase ativa, podem ter ações complementares.

As mudanças de fase observadas no ritmo circadiano de atividade motora, provavelmente devido aos pulsos de luz, que incidem em momentos vulneráveis do sistema de temporização circadiano, demonstram que um dos mecanismos da sincronização fótica, o arrastamento, está sendo influenciado pela exposição à luz de forma facultativa (com caixa-ninho) ou forçada (sem caixa-ninho).

Apesar da existência de justificativas sólidas para a utilização do modelo de toca com animais noturnos, que têm o hábito de passarem as horas do dia no interior de tocas e emergirem durante a noite ao solo para realizem sua atividade, existem poucos estudos que descrevem a influência da auto-seleção à luz sobre as funções fisiológicas e comportamentais.

Boulos e colaboradores (1996) consideraram o hábito fossorial de seu modelo experimental para investigar a sincronização fótica do ritmo circadiano de atividade motora. Seu estudo foi realizado com hamsters (*Mesocricetus auratus*), de modo que os animais estariam submetidos a ciclos CE com e sem

caixa-ninho. Neste estudo, na presença da caixa-ninho houve redução da fase ativa, atraso no início da fase ativa e avanço para o término da atividade. Os argumentos utilizados para explicar seus resultados foram baseados nos modelos de controle não-paramétrico da luz e do oscilador matutino e vespertino, os quais levam em consideração que os pulsos de luz estariam causando respostas de fase distintas nos osciladores biológicos.

No início da atividade do hamster, que coincide com o final da fase de claro, o oscilador vespertino estaria susceptível a um atraso de fase. Enquanto que no final da atividade, que coincide com o início da fase de claro, o oscilador matutino estaria susceptível ao avanço de fase. A falta de seleção dos momentos de exposição à luz, quando os animais estiveram sem a caixa-ninho, permitiu que a incidência luminosa nos horários vulneráveis pudesse provocar mudanças de fase. Sem caixa-ninho, os animais estiveram mais expostos à luz no final da fase ativa e menos expostos no início da fase ativa, o que resultou em um avanço de fase pronunciado e um atraso de fase discreto, respectivamente.

Neste estudo com hamsters, em que é visto tanto um avanço de fase, decorrente do pulso de luz no final da atividade, quanto um atraso de fase, decorrente do pulso de luz no início da atividade, o resultado final expresso para o ritmo de atividade seria obtido pela resultante de forças exercidas pelos osciladores matutino e vespertino. No caso dos hamsters, a resultante dos dois componentes foi o avanço de fase, demonstrando que no final da atividade a incidência luminosa teria uma influência mais forte.

Fazendo correlações com nossos resultados, podemos dizer que o final da atividade dos sagüis, como ocorre com o hamsters, é o momento de maior vulnerabilidade do oscilador biológico ao estímulo fótico. Da mesma forma que ocorreu com o sagüi, na ausência da caixa-ninho o hamster prolongou sua fase ativa (α) e, dessa forma, o animal recebeu mais luz no final da atividade. Todavia, como são espécies que apresentam nichos temporais opostos, o sagüi diurno e o hamster noturno, o final da atividade corresponderia ao oscilador vespertino e ao matutino, respectivamente. O oscilador vespertino (V) seria responsável pelos ajustes de fase por meio de atrasos de fase, enquanto que o

oscilador matutino (M), por meio de avanços de fase. Isto explicaria por que o hamster apresentou avanços de fase para o ritmo de atividade, enquanto que nesta mesma condição, o sagüi apresentou atrasos de fase (*vide* Figura 21).

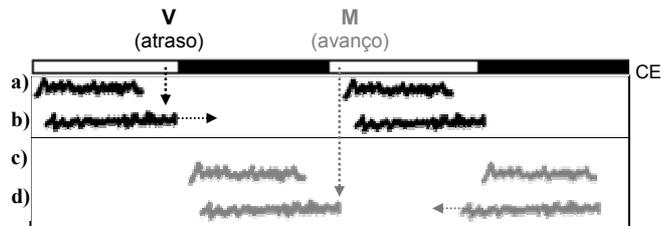


Figura 21: Representação esquemática do ritmo circadiano de atividade motora em relação ao ciclo CE (12:12) de duas espécies com nichos temporais distintos. A espécie diurna tem sua fase de atividade alocada na fase de claro (a, b), enquanto que a espécie noturna mantém sua atividade na fase de escuro (c, d). Sem a caixa-ninho, observa-se o prolongamento da fase ativa para a espécie diurna (b) e para a noturna (d). A incidência luminosa no final da atividade está destacada por setas tracejadas, que para a espécie diurna coincide com o crepúsculo vespertino (V–região de atraso), e para a espécie noturna o final da atividade está relacionado ao crepúsculo matutino (M–região de avanço).

Além da incidência luminosa sobre os osciladores biológicos ser capaz de desencadear mudanças de fase responsáveis pelo arrastamento, a auto-seleção à luz pode também exercer sua ação em um outro mecanismo da sincronização fótica, no mascaramento.

A análise temporal dos perfis de atividade, que expressa a frequência diária de atividade em relação às horas, demonstrou que a falta de auto-seleção à luz faz com que os animais fiquem expostos à luz por mais tempo e em momentos preteridos. Nesses momentos a incidência luminosa pode causar um

efeito direto no organismo, que pode ser visualizado pela resposta reativa do sistema de temporização à estimulação fótica. Segundo a descrição do mascaramento, em espécies diurnas, a luz provoca um aumento na frequência da atividade motora (mascaramento positivo), enquanto que o escuro provoca sua inibição (mascaramento negativo) (Mrosovsky, 1999).

Segundo Marques e Waterhouse (1999), o mecanismo de mascaramento seria também responsável pela sincronização fótica. No arrastamento em sagüis existem momentos de maior vulnerabilidade do sistema a sofrer os ajustes de fase, esses momentos seriam avaliados a partir da construção da curva de resposta dependente da fase (CRF) (Wechselberger e Erkert, 1994). Talvez esses mesmos momentos, que estão próximos à transição entre as fases de claro e escuro, possam ser sugeridos como os de maior vulnerabilidade também para o mascaramento. Por isso, pode-se esperar que como ocorre no arrastamento, em que os crepúsculos são considerados importantes para os ajustes da fotofase dos animais, estes também seriam os momentos de maior susceptibilidade do sistema para as respostas rápidas e reativas típicas do mascaramento.

A partir da análise dos perfis do ritmo circadiano de atividade durante a etapa sem a caixa-ninho, observou-se um aumento pronunciado na frequência da atividade motora principalmente no final da atividade, em torno do CT 11-12, demonstrando que a luz provoca mascaramento positivo do ritmo circadiano de atividade motora. O mascaramento ocorre principalmente em momentos que são considerados preteridos para a incidência luminosa, pois quando a caixa-ninho estava presente na gaiola, geralmente neste horário os animais já tinham se recolhido para realizar seu episódio de repouso. Dessa maneira, como os animais não puderam se esconder da luz, houve um efeito ativacional no sistema, característico do mascaramento.

O mesmo momento também pode ser alvo do mascaramento mediado pelo escuro (Mrosovsky, 1999). Devido ao prolongamento da fase ativa na condição sem caixa-ninho, observou-se que o final da atividade foi demarcado pelo apagar das luzes, o que pode estar relacionado ao efeito inibitório que o escuro pode exercer sobre o ritmo circadiano de atividade motora em espécies diurnas,

portanto, neste caso seria observado o mascaramento negativo do escuro em sagüi (Erkert, 1989).

No estudo realizado por Boulos e colaboradores (1996) a ação direta da luz também foi observada em hamsters, mas como se trata de uma espécie noturna, o mascaramento promovido pela luz e pelo escuro tem efeitos contrários aos do sagüi. Devido o prolongamento da fase ativa, o término da atividade foi súbito e em decorrência do acender das luzes, assim, a luz provocou a inibição da atividade (mascaramento negativo da luz) (Mrosovsky, 1999).

Mesmo que os mecanismos de arrastamento e de mascaramento possam ser individualizados de acordo com suas características próprias, a separação funcional entre eles não é uma tarefa considerada simples. Pois, em momentos avaliados neste estudo, principalmente no final da atividade, ficou claro que os dois mecanismos possam ter agido juntos. Ou seja, a ação direta do estímulo fótico, com efeito ativacional no sistema (mascaramento), poderia ocorrer simultaneamente à ação indireta da luz, que perpassa o oscilador biológico (arrastamento) (Challet e Pévet, 2003).

Daan e Aschoff (2001) descreveram três distinções entre os mecanismos de arrastamento e de mascaramento. No arrastamento, ao contrário do mascaramento, haveria a antecipação do ritmo em relação ao *zeitgeber*, a presença de ciclos transientes após uma mudança de fase e, principalmente, o livre-curso em condições constantes após o arrastamento iniciaria no momento determinado pelo *zeitgeber* da condição anterior. O deslocamento de fase observado nos sagüis no final da atividade, no primeiro dia em CC sem a caixa-ninho, pode sugerir que mesmo em CE os animais já estivessem com um deslocamento de fase devido à exposição forçada à luz no final da atividade, que não era visualizado devido aos limites impostos pelo CE. Apenas com a inexistência deste ciclo de iluminação, em CC, é que o deslocamento de fase poderia estar indicando a ação conjunta do arrastamento e do mascaramento no sistema de temporização circadiano em sagüis.

Como demonstrado, o arrastamento e o mascaramento do ritmo circadiano de atividade motora, decorrentes dos estímulos fóticos, podem ocorrer tanto em

uma espécie diurna como o sagüi, como em noturnas como o hamster. Entretanto, o nicho temporal estabelecido para cada espécie faz com que haja respostas distintas de acordo com os hábitos de cada animal, sendo o avanço ou o atraso de fase, como bem o aumento ou a inibição da atividade, efeitos relacionados à ecologia apresentada pelos animais.

Levando em consideração os nichos temporais, Refinetti (2004) avaliou o papel da toca sobre o ritmo circadiano de atividade motora em roedores fossoriais com hábitos diurnos (*Arvicanthis niloticus*) e noturnos (*Mus musculus*). Neste estudo, os animais foram submetidos a dois ciclos de iluminação com fotoperíodos diferentes, um longo (16C:8E) e um curto (8C:16E), com formas de exposição à luz distintas, auto-seleção e forçada. Os resultados evidenciaram que a expressão do ritmo de atividade foi fortemente influenciada pelo fotoperíodo, mas em relação à presença da caixa-ninho, as respostas foram discretas. As diferenças existentes em relação à caixa-ninho ocorreram quanto ao horário de início da atividade, que na presença da caixa-ninho foi antecipado em relação ao ciclo de iluminação apenas na espécie noturna. Porém, a análise visual do perfil de atividade da espécie diurna (*Arvicanthis niloticus*) revelou um aspecto que nos interessou: na ausência da caixa-ninho o animal apresentou um aumento na frequência de atividade no final da fase de claro (ZT 11-12). Como explicação o autor descreveu que a caixa-ninho fornece um ambiente confortável que desencoraja a atividade motora neste horário, e, conseqüentemente, a falta de exposição neste horário evitou o mascaramento. Esse resultado é importante, pois mostra que uma espécie diurna que tem exposição forçada à luz apresenta um aumento na frequência da atividade motora no final da sua fase ativa, padrão semelhante ao encontrado em sagüis.

Portanto, além da auto-seleção à luz interferir no mecanismo de arrastamento, é evidente sua influência também no mecanismo de mascaramento. O efeito da luz no oscilador biológico não exclui a sua ação direta no sistema, o que leva a crer que os ajustes preditivo e reativo estejam atuando juntos para a efetiva sincronização fótica dos animais (Marques e Waterhouse, 1999).

O modelo de toca foi aplicado inicialmente para as espécies noturnas, tendo em vista os hábitos que os animais tinham na natureza. Como os estudos laboratoriais poderiam ser conduzidos de forma alheia ao comportamento dessas espécies, os resultados encontrados não representariam a expressão do ritmo biológico encontrado no ambiente natural, mas algo relacionado à falha metodológica. Desta forma, o modelo de toca foi proposto para simular em laboratório condições que os animais noturnos e fossoriais apresentavam (Pratt e Godman, 1986). Em seu estudo, DeCoursey (1986) demonstrou que animais que vivem a maior parte do tempo enterrados em tocas, como os esquilos voadores (*Glaucomys volans*), podem executar suas atividades sem referência temporal ambiental, ficando em livre-curso. O livre-curso faz com que, em algum momento, o início da atividade desse animal coincida com a fase de claro. Quando isso acontece, o pulso de luz recebido pelo animal seria capaz de provocar atrasos de fase no ritmo circadiano de atividade motora, suficientes para alocar em seu nicho temporal propício.

No sagüi, como não é uma espécie noturna e nem fossorial, a utilização do modelo de toca pode estar relacionada a outros aspectos importantes. Na natureza, os sagüis podem estar expostos a diferentes intensidades luminosas durante um dia, desde o brilho intenso da incidência solar direta até um ambiente com menos luz formado pela cobertura de árvores frondosas. Desse modo, mesmo que esta espécie não utilize uma toca verdadeira para o seu alojamento, o sagüi pode utilizar outras estratégias para selecionar a intensidade da luz que recebe, e assim interferir na sincronização fótica de suas funções biológicas e comportamentais.

Em suma, pode-se dizer que os resultados obtidos são persuasivos quando mostram a influência da auto-seleção à luz sobre os mecanismos que medeiam a sincronização fótica em sagüi. Além disso, é evidente a sua importância no estabelecimento da relação de fase entre o ritmo circadiano de atividade motora e o ciclo CE e no controle da sua amplitude.

Em relação à expressão endógena do ritmo circadiano de atividade motora de sagüis, a condição de claro constante (CC) é considerada ideal, pois é propícia

para a realização das atividades e permite que estas sejam realizadas sem referência temporal, promovendo a expressão do período em livre-curso nesta espécie (Erkert, 1989).

Sob a condição de iluminação constante foi possível quantificar o período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora dos sagüis em três etapas distintas: duas com caixa-ninho (etapas B e F) e uma sem caixa-ninho (etapa E). No total, os animais permaneceram 90 dias não consecutivos sob a condição de iluminação constante.

Na primeira etapa de CC (etapa B), os animais permaneceram 10 dias sem a caixa-ninho após a sincronização ao CE (12:12). Nesta fase, todos os animais apresentaram um período espontâneo de em média $23,8 \pm 0,08$ h. O período em livre-curso expresso pelos animais neste estudo mostra correspondência com os resultados encontrados em estudos realizados anteriormente, em que os animais são submetidos ao CC na presença da caixa-ninho (Erkert, Nagel e Stephani, 1986; Erkert, 1989; Glass *et al.*, 2001). Nesse sentido, a literatura evidencia que o período endógeno dos sagüis é menor que 24 h após a estabilização em CC, mas pode variar de acordo com algumas diferenças metodológicas empregadas. Erkert, Nagel e Stephani (1986) encontraram um período endógeno médio de $23,5 \pm 0,2$ h. No estudo de Erkert (1989) o período endógeno relatado foi de $23,2 \pm 0,3$ h e, para Glass e colaboradores (2001), de $23,3 \pm 0,4$ h.

A segunda etapa CC (etapa E) foi realizada após um CE (12:12) sem a caixa-ninho. Inicialmente se esperava que todos os animais apresentassem o livre-curso, mas apenas um dos quatro animais expressou o período espontâneo menor que 24 h. Boris foi o único que apresentou o período em livre-curso quando submetido ao CC sem caixa-ninho ($\tau = 23,9$ h). Devido à ausência da expressão do livre-curso nos outros animais, esta etapa foi prolongada por 50 dias, para que observássemos as mudanças ocorridas ao longo do tempo no período endógeno de Alceu, Doko e Xande. Porém, mesmo com o passar dos dias sob CC, estes animais continuaram a expressar o ritmo de atividade com periodicidade em torno de 24 h. Apenas Boris permaneceu com o período em livre-curso, que foi reduzindo gradualmente ao longo das décadas.

Segundo Erkert (1989), após uma etapa de CE, o sagüi pode levar cerca de 40-70 dias para estabilizar o período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora em CC. Neste estudo, o período endógeno de 11 sagüis foi avaliado sob intensidades luminosas que variaram de 0,1 a 500 lux e cada etapa poderia ter a duração de 20 a 210 dias. Seus dados revelaram que a intensidade luminosa não influencia a expressão endógena do ritmo circadiano de atividade motora, mas que o tempo que os animais são mantidos em CC interfere. A periodicidade não se torna estável antes da terceira década, indicando que os *aftereffects*, decorrentes do CE, podem persistir em média 20-40 dias. Os períodos endógenos nas primeiras décadas são significativamente maiores do que nas últimas décadas. Tal constatação explicaria apenas as mudanças observadas no período endógeno de Boris, pois foi o único animal que apresentou o período em livre-curso na ausência da caixa-ninho.

Enquanto Boris exibia o livre-curso e a redução do período endógeno ao longo das décadas sem caixa-ninho, os outros três animais, Alceu, Doko e Xande, tiveram seus períodos próximos a 24 h. Nestes, a fase ativa que estava alocada entre 2:00 e 14:00h, horários correspondentes ao início e fim da fase de claro na etapa anterior, passou a apresentar um atraso de fase gradual de 3 h, ficando concentrada entre 5:00 e 17:00h, horário aproximado da fase de claro do ambiente externo na época em que o estudo foi realizado. Assim, mesmo que os animais estivessem sob condição de iluminação constante com temperatura e umidade estáveis, o CE externo pode ter atuado indiretamente como uma pista temporal aos animais da sala. A ação indireta da luz poderia advir dos animais presentes no Núcleo de Primatologia (aproximadamente 170 animais) sincronizados ao ciclo CE ambiental, que poderiam estar fornecendo as pistas temporais capazes de sincronizar os animais dentro da sala.

Os animais pertencentes ao Núcleo possuem atividades comportamentais distribuídas regularmente na fase de claro do ciclo CE ambiental, como foi descrito para a atividade motora (Menezes *et al.*, 1993) e para a realização de comportamentos como a catação (Azevedo *et al.*, 1996) em estudos anteriores realizados pelo nosso laboratório. Devido à regularidade das atividades

desempenhadas pelos animais presentes na parte externa do Núcleo, é possível que estes animais funcionassem como um *zeitgeber* capaz de sincronizar os demais que estavam dentro da sala experimental.

A sincronização social em sagüis foi estudada por meio da utilização das pistas consideradas não-fóticas (Erkert e Schardt, 1991; Glass *et al.*, 2001). No entanto, a denominação de estímulo não-fótico é abrangente e engloba uma gama de fatores com naturezas muito distintas. Dentro da categoria de estímulos não-fóticos, há vários fatores que podem sincronizar o oscilador biológico. Acredita-se que estas pistas de características diferentes possam sincronizar os ritmos biológicos por serem recorrentes e periódicas (Mistlberger e Skene, 2004).

A interação social é um tipo de *zeitgeber* não-fótico em várias espécies. Entretanto, a sincronização dos ritmos biológicos, a partir das interações entre co-específicos, pode ser esperada em espécies que desenvolveram padrões sociais. Em sagüis, Erkert e Schardt (1991) demonstraram que as interações sociais influenciam a ritmicidade expressa por esses animais. Acredita-se que a capacidade do sistema de temporização circadiano de responder às interações sociais seja um forte componente adaptativo para esta espécie, mas que seu efeito sincronizador seja fraco e subjugado aos efeitos do ciclo claro e escuro (Erkert, Nagel e Stephani, 1986).

Erkert e Schardt (1991) demonstraram que a sincronização social em sagüis pode ocorrer sob condição de iluminação constante através de pistas auditivas e olfativas. Nesse estudo, enquanto uns animais estavam em claro constante, outros presentes na mesma sala estavam submetidos ao ciclo claro e escuro. Os animais que estavam sob condições constantes foram sincronizados pelos que estavam mantidos em CE, possivelmente através de pistas olfativas e auditivas recorrentes e regulares.

Portanto, é contundente afirmar que os sagüis possam ter utilizado tanto estímulos auditivos quanto olfativos como pistas temporais rítmicas. Apesar disso, a partir das características físicas desses estímulos, descarta-se o papel das pistas olfativas, mesmo que não totalmente, como o meio de sincronização entre os animais da Colônia e os da sala. Pois, a presença do exaustor na sala

experimental permitia a passagem do ar de dentro da sala para fora e dificilmente o contrário. Assim, o odor dos animais presentes na parte externa do núcleo não poderia penetrar na sala. Além disso, o exaustor foi ligado em horários aleatórios sem qualquer regularidade temporal. Por isso, aponta-se as pistas auditivas como capazes de levar à sincronização do ritmo de atividade dos animais que estavam mantidos em condições laboratoriais constantes.

A comunicação auditiva dos animais do Núcleo com os da sala foi possível porque o isolamento acústico da sala experimental foi insuficiente para bloquear a passagem de algumas vocalizações emitidas pelos sagüis. Desse modo, o isolamento acústico parcial não evitou que os silvos longos pudessem penetrar na sala e sincronizar os animais.

A análise dos períodos endógenos de Alceu, Doko e Xande mostra que os animais sincronizaram gradualmente o ritmo circadiano de atividade motora, possivelmente através das pistas auditivas fornecidas pelos animais do Núcleo. A observação de ciclos transientes até a completa sincronização sinaliza o mecanismo de arrastamento das funções comportamentais por estes estímulos (Daan e Aschoff, 2001). Contudo, o período endógeno desses animais apresentou pequenas variações em torno de 24 h ao longo das décadas em CC sem caixa-ninho, o que leva a crer que as pistas sociais possam ter atuado como *zeitgeber* fraco (Erkert, Nagel e Stephani, 1986), e que na verdade estariam promovendo um mecanismo de coordenação relativa.

A variabilidade intra-específica é um fator que deve ser levado em consideração neste estudo, pois entre quatro sagüis, apenas um apresentou o período em livre-curso na etapa E, enquanto que os outros sincronizaram indiretamente ao ciclo CE externo, possivelmente por meio da comunicação auditiva mantida com os animais da Colônia, demonstrando que o funcionamento do sistema de temporização, bem como a utilização de pistas ambientais, possam ter características inerentes a cada animal.

Existem algumas características que podem ser sugeridas como causadoras das respostas diferenciais entre os animais. Boris, o único que teve seu período espontâneo expresso, poderia apresentar dificuldades de captar os

estímulos ambientais, dentre estes os fóticos. Isso é possível porque no estudo realizado por Silva, Albuquerque e Araujo (2003) constatou-se a existência de que sagüis com deficiência visual apresentam variáveis rítmicas, como o período endógeno e a duração da fase ativa, diferentes dos animais com visão normal. Embora não tenhamos realizado testes especializados para detectar tal deficiência em Boris, sua duração da fase ativa em muito se assemelha ao observado em animais cegos no estudo descrito anteriormente, no qual se argumenta que os animais com deficiência visual teriam um menor α devido à dificuldade em desempenhar as atividades, e isto causaria diferenças no período endógeno expresso pelos animais deficitários.

Porém, mesmo que a análise dos resultados forneça argumentos a favor da revisão do conceito que as pistas sociais são um *zeitgeber* fraco em sagüis, é importante ressaltar que, no nosso caso, esta pista estava sendo fornecida por mais de 150 emissores. Assim, com tantos emissores existentes, a sua ação pode ter sido potencializada o suficiente para atuar como agente arrastador no ritmo circadiano de atividade motora em três animais (Alceu, Doko e Xande) e exercer modulação em um. Esta modulação, a qual denominamos de mascaramento, foi notada a partir na visualização do actograma de Boris durante a etapa E, na qual observou-se uma maior frequência da atividade motora quando a fase ativa de Boris coincidiu como a fase ativa dos animais da parte externa do Núcleo (Figura 16).

Na última etapa em CC (etapa F), em que a caixa-ninho foi reintroduzida na gaiola, o período em livre-curso foi apresentado por Boris ($\tau = 23,3h$) e por dois animais que estavam sincronizados antes à Colônia, Doko ($\tau = 23,4h$) e Xande ($\tau = 23,3h$). Alceu foi o único animal que não teve seu período endógeno expresso ($\tau = 24,1 h$) em F1. Porém, o livre-curso de Xande não foi mantido nas décadas subseqüentes. Em F2 e F3, Xande voltou a ter periodicidade próxima a 24 h com fase ativa concentrada no horário do ciclo CE ambiental externo, semelhante a Alceu. Enquanto que Boris e Doko permaneceram em livre-curso. Como a etapa F teve a duração de 30 dias, ou três décadas, as mudanças ocorridas no período em livre-curso influenciadas pela duração do CC não

puderam ser bem avaliadas, mas nota-se a tendência de sua redução com o decorrer das décadas, como foi verificada ao longo das cinco décadas da etapa E para Boris e como foi constatado por Erkert (1989).

Como base na análise dos períodos endógenos expressos pelos animais após a reintrodução da caixa-ninho, pode-se apontar algumas explicações possíveis. A caixa-ninho é um aparato que propicia a auto-seleção à luz, permitindo que os animais estejam submetidos a um ciclo de CE optativo mesmo que a condição experimental seja CC. Porém, na ausência da caixa-ninho isto não é possível, pois os animais estariam submetidos a uma iluminação ininterrupta, que poderia causar efeitos distintos nos osciladores biológicos.

Um dos efeitos da ação contínua da luz seria o desacoplamento dos osciladores biológicos. No modelo multioscilar, usado para explicar a presença de diversos osciladores no sistema de temporização circadiano, considera-se que a expressão do ritmo biológico dependa da sincronização interna (ou da ordem temporal interna) entre os vários ritmos endógenos (Brandstaetter, 2004). As evidências experimentais que denunciam o desacoplamento entre os osciladores, **a dessincronização interna** (Aschoff *et al.*, 1967; Wever, 1975; Moore-Ede e Sulzman, 1981; Aschoff, 1988; Weinert, Sturm e Waterhouse, 2002; Nagano *et al.*, 2003), **a bipartição** (Pittendrigh, 1960; Pickard e Turek, 1982; de la Iglesia *et al.*, 2002) e **a dissociação** (Campuzano *et al.*, 1998; Welsh *et al.*, 1995; Schwartz *et al.*, 2000; Nakamura *et al.*, 2001; de la Iglesia *et al.*, 2004), foram consideradas como o resultado da falta de acoplamento entre osciladores que podem estar localizados em tecidos periféricos, nos núcleos supraquiasmáticos ou até mesmo em subpopulações de cada NSQ, respectivamente. Dessa maneira, o sistema circadiano é considerado um sistema multioscilar cujos osciladores podem ter diferentes graus de acoplamento dependendo das condições de iluminação impostas (Cambras e Díez-Noguera, 1991).

Nos sagüis, o efeito da iluminação constante sobre o acoplamento dos osciladores biológicos, que controlam o ritmo circadiano de atividade motora, foi evidenciado a partir da constatação do fenômeno de bipartição ou *splitting*

(Schardt, Wilhelm e Erkert, 1989). Neste estudo, um sagüi macho de 4 anos e uma fêmea de 8 anos foram mantidos em CC (200-470 lux). Após 40 e 75 dias nesta condição, o macho e a fêmea, respectivamente, apresentaram a bipartição do ritmo circadiano de atividade motora. Para o macho, o período em livre-curso antes da bipartição foi de 23,3 h; próximo ao 40º dia em CC, o animal começou a expressar um outro componente da atividade. Finalmente, após a bipartição estabelecida, os dois componentes do ritmo circadiano de atividade motora se apresentaram em antifase com períodos endógenos iguais de 24,6 h. Os autores atribuíram a causa da bipartição à iluminação concedida aos animais durante o experimento. A intensidade luminosa baixa poderia ter causado o desacoplamento dos osciladores desta espécie diurna.

No nosso estudo, a ausência da caixa-ninho, conseqüentemente, a ação contínua da luz, poderia ter induzido um outro modo de desacoplamento. O desacoplamento entre as subunidades do NSQ. A porção ventrolateral, que recebe as aferências do NSQ e responsável pela sincronização por fatores externos, e a porção dorsomedial, responsável em gerar o ritmo endógeno em sagüis (Moore, 1993), poderiam estar com a força de acoplamento enfraquecida por causa da exposição forçada à luz. Se a condição experimental (sem caixa-ninho) fez com que estas duas porções estivessem desacopladas, a expressão do ritmo sincronizado ou do ritmo em livre-curso poderia estar enfraquecida. Esta explicação parece contundente, pois nas etapas B e F1 (com caixa-ninho), 100% e 75% dos animais apresentaram o livre-curso, respectivamente. Enquanto que sem a caixa-ninho, apenas 25% dos animais apresentou livre-curso e os 75% restante esteve com uma sincronização parcial (ou coordenação relativa) por pistas auditivas. Ou seja, sem a caixa-ninho, nem a expressão endógena e nem a sincronização por pistas externas seriam realizadas efetivamente.

Outra tentativa de explicar os dados baseia-se no fato de que a caixa-ninho poderia atenuar as pistas auditivas emitidas pelos animais presentes na área externa do Núcleo, e por isso, na presença da caixa-ninho, os animais ouviriam um som menos forte e este tornaria menos eficiente para sincronizá-los. Apesar

de lógica, esta explicação esbarra na limitação metodológica deste estudo e necessita de mais investigações a fim de esclarecer as dúvidas presentes.

Em relação à duração da fase ativa (α) dos sagüis em CC, pode-se constatar que este parâmetro do ritmo circadiano de atividade motora sofre mudanças na medida em que o período endógeno está variando. O estabelecimento da duração da fase ativa está diretamente relacionado às modificações ocorridas no período endógeno, pois até que o animal estabilize seu período endógeno após ser submetido à transição entre etapas experimentais, seu α estará sendo alterado conjuntamente, como descreve Boulos e colaboradores (1996) em seu estudo. Por isso, ao falarmos da ação dos *aftereffects* sobre o período endógeno dos sagüis (Erkert, 1989), o seu efeito na duração da fase ativa deve estar embutido.

A auto-seleção ou a exposição forçada à luz, mesmo em CC, foram fatores que influenciaram a duração da fase ativa. Nas etapas em que os animais estiveram com a caixa-ninho (etapas B e F), a duração da fase ativa foi menor, enquanto que sem a caixa-ninho (etapa E), a fase ativa foi maior. A extensão da fase ativa nas etapas em que houve exposição forçada à luz repete o padrão encontrado quando os animais estiveram submetidos ao ciclo CE (12:12).

Como descritas anteriormente, as etapas de CC não tiveram a mesma duração. A etapa B teve apenas 10 dias, a etapa E composta por 50 dias e a etapa F por 30 dias. Dessa forma, a falta de estabilidade do período endógeno antes de 30-50 dias (Erkert, 1989), pode ter causado a variabilidade encontrada na duração da fase ativa. Apesar disso, os valores de α em livre-curso com caixa-ninho encontrados neste estudo estão de acordo com o $\alpha_{cc} = 11,3 \pm 0,4$ h encontrado por Erkert (1989), e com o $\alpha_{cc} = 10,6 \pm 0,8$ h por Pálková, Sigmund e Erkert (1999). No entanto, na condição sem caixa-ninho a comparação do α em livre-curso não pode ser realizado com resultados anteriores, pois não há literatura existente.

Para saber a duração da fase ativa é necessário estabelecer os horários de início e término da atividade dos animais. Estes horários são controlados por osciladores biológicos distintos, como descrito no modelo de dois osciladores

(Pittendrigh e Daan, 1976). O início da atividade dos sagüis é controlado pelo oscilador matutino, enquanto que o término da fase ativa, pelo oscilador vespertino. Dessa maneira, devido às mudanças ocorridas no α_{cc} observadas nas etapas com iluminação constante, é possível que o funcionamento dos osciladores matutino e vespertino tenha sido afetado pela forma da exposição à luz. Em outras palavras, pode-se dizer que a auto-seleção à luz ou a exposição forçada tenha promovido a incidência luminosa com duração e em momentos diferentes, que poderiam ajustar os osciladores de maneira diferente.

Com base numa análise global dos resultados obtidos sob a condição de CE, pode-se dizer que a exposição forçada à luz prolongou a fase ativa e, conseqüentemente, promoveu uma maior exposição à luz. As mudanças de relação de fase entre o ritmo circadiano de atividade motora e o ciclo CE devem-se em grande parte ao fato de que nesta condição os animais estavam recebendo uma maior incidência luminosa, principalmente no final da atividade, que resultaria em atrasos de fase, relacionados ao mecanismo de arrastamento, e um aumento na amplitude, associado ao mascaramento fótico. Quando submetidos à condição de iluminação constante (CC), sem caixa-ninho, os animais estiveram expostos à luz por mais tempo e em momentos preteridos que foram capazes de provocar mudanças no período em livre-curso e na duração da fase ativa.

Uma limitação encontrada neste trabalho foi o número de animais estudados. Um grupo formado por apenas quatro animais fez com que a variabilidade inerente ao sagüi tornasse os resultados difíceis de serem agrupados e discutidos, o que demonstra a necessidade da realização de estudos com objetivos similares com um maior número de representantes, para que a variabilidade intra-específica nem dificulte e nem reduza a visualização das respostas provocadas pelas condições experimentais avaliadas. Além disso, outras manipulações como mudanças de fase poderiam ser incluídas na abordagem experimental para melhor caracterização dos efeitos da auto-seleção à luz sobre o sistema de temporização circadiano. Como não bastasse, fatores como sexo e idade poderiam tornar o tema em questão ainda mais abrangente.

Sobre o pioneirismo citado no início desta seção, pode-se dizer que este fato não apenas carregará consigo a importância por ter evidenciado que a utilização da caixa-ninho em sagüis influencia fortemente o controle da ritmicidade da atividade motora, mas também por ter trazido um tema que nunca fora antes estudado em primata não-humano. Todavia, justamente pelo ineditismo, a limitação é inevitável. Por isso, além da relevância atual do presente estudo, espera-se que ocorra a sua superação com o advento de novos estudos.

O modelo da caixa-ninho, baseado no princípio da auto-seleção e da exposição forçada à luz, pode contribuir para o reconhecimento que a ação conjunta dos dois mecanismos, arrastamento e mascaramento, propicia a sincronização fótica do ritmo circadiano de atividade motora de forma mais efetiva. Pois a expressão do ritmo biológico neste caso contaria com o caráter antecipatório promovido pelo arrastamento, somada à resposta reativa provocada pelo mascaramento. Por isso, a evidência da ação conjunta dos mecanismos para os ajustes da ritmicidade biológica em sagüis, sugere que a interação desses mecanismos seja uma estratégia vantajosa para a sobrevivência da espécie.

Além disso, nos estudos laboratoriais que avaliam os mecanismos da sincronização fótica em primatas diurnos, sugere-se que a utilização da caixa-ninho seja adotada a fim de permitir a expressão do ritmo circadiano de atividade motora com maior correspondência ao sistema de temporização circadiano. Pois, sob a condição de CC com exposição forçada à luz, os resultados obtidos foram diferentes dos esperados, mostrando que a variabilidade nas respostas encontradas pode indicar que esta condição de manutenção seja considerada imprópria para esta espécie, e que não corresponda ao que ocorre em seu hábitat natural.

7. Conclusões

Diante dos resultados obtidos, é possível concluir que:

1. A maior exposição luminosa sob o ciclo CE (12:12) e CC, propiciada pela condição de exposição forçada à luz, prolonga a duração da fase ativa (α) em sagüis;
2. A exposição forçada à luz em CE, principalmente no final da fase ativa (CT 11-12), provoca atrasos de fase e aumenta a amplitude do perfil do ritmo circadiano de atividade motora dos sagüis;
3. A forma de exposição à luz em CC influencia a expressão do período endógeno do ritmo circadiano de atividade motora em sagüis;
4. Embora a exposição forçada à luz induza uma resposta de mascaramento mais acentuada, o mecanismo de arrastamento também é afetado. Por isso, nas duas formas de exposição à luz, os mecanismos de arrastamento e de mascaramento podem ter ações complementares no controle da sincronização fótica em sagüis.

8. Referências bibliográficas

- Abbott, D. H.; Barnett, D. K.; Colman, R. J.; Yamamoto, M. E. & Schultz-Darken, N. J. (2003). Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. *Comparative Medicine*, 53(4), 339-350.
- Alonso, C. & Langguth, A. (1989). Ecologia e comportamento de *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichidae) numa ilha de floresta atlântica. *Revista Nordestina de Biologia*, 6 (2), 105-137.
- Araujo, J. F. & Marques, N. (2003). In: Marques, N. & Menna-Barreto, L. S. (Orgs.). *Cronobiologia: princípios e aplicações*. (pp.99-117). São Paulo, Edusp.
- Aschoff, J. & von Goetz, C. (1988). Masking of circadian activity rhythms in hamsters by darkness. *Journal of Comparative Physiology A.*, 162, 559-562.
- Aschoff, J. & von Goetz, C. (1989). Masking of circadian activity rhythms in canaries by light and dark. *Journal of Biological Rhythms*, 4, 29-38.
- Aschoff, J.; Gerecke, U. & Wever, R. (1967). Desynchronization of human circadian rhythms. *Journal Physiology*, 17, 450.
- Aschoff, J. (1960). Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harbor Symposia On Quantitative Biology*, 25, 11-28.
- Aschoff, J.; (1963). Comparative physiology. Diurnal activity. *Ann. Rev. Physiology*, 25, 581-600.
- Aschoff, J. (1988). Free running and entrainment circadian rhythms. In: Handbook of Behavioral Neurobiology. In: Aschoff, J. (Ed.), *Biological Rhythms*. (pp. 99-117), New York: Plenum.
- Aschoff, J. (1999). Masking and parametric effects of high-frequency light-dark cycles. *Japanese Journal of Physiology*, 49, 11-18.
- Azevedo, C.V.M.; Menezes, A.A.L.; Queiroz, J.W. & Moreira, L.F.S. (1996). Circadian and ultradian periodicities of grooming behavior in family groups of common marmosets (*Callithrix jacchus*) in captivity. *Biological Rhythms Research*, 27, 374-385.

- Balsalobre, A.; Brown, S.A.; Marcacci, L.; Tronche, F.; Kellendonk, C.; Reichardt, H.M.; Schütz, G. & Schibler, U. (2000). Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science*, 289, 2344-2347.
- Balsalobre, A. (2002). Clock genes in mammalian peripheral tissues. *Cell Tissue Research*, 309, 193-199.
- Bastos, J. R. G. C. (2005). *Dissociação do ritmo circadiano da atividade motora de ratos sob ciclo de claro-escuro simétrico de 22 horas em condições seminaturais*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Bezerra, L.B.; Moreira, L.F.S. & Menezes, A.A.L. (1996). Influência do fotoperíodo sobre a atividade do sagüi (*Callithrix jacchus*). *VI Encontro Científico do Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia*. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Boulos, Z.; Macchi, M.; Houpt, T. A. & Terman, M. (1996). Photic entrainment in hamsters: effects of simulated twilights and nest box availability. *Journal of Biological Rhythms*, 11(3), 216-233.
- Brainard, G. C. & Hanifin, J. P. (2005). Photons, clocks, and consciousness. *Journal Biological Rhythms*, 20(4), 314-325.
- Brandstaetter, R. (2004). Circadian lessons from peripheral clocks: Is the time of the mammalian pacemaker up? *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 101(16), 5699-5700.
- Bünning, E. (1967). *The physiological clock*. 2ed. New York, Springer-Verlang.
- Cambras, T. & Díez Noguera, A. (1991). Evolution of rat motor-activity circadian-rhythm under 3 different light patterns. *Physiology & Behavior*, 49 (1), 63-68.
- Camillo, C. S. (1999). *Padrão diário da atividade locomotora de uma fêmea de sagüi (Callithrix jacchus) em cativeiro, durante a gestação e após o parto*. Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Camillo, C. S.; Azevedo, C. V. M.; Cunha, M. K. M.; Xavier, C. A.; Bezerra, L. B.; Macêdo, J. P. S.; Queiroz, J. W.; Menezes, A. A. L.; Moreira, L. F. S. & Marques, N. (2000). Distribuição diária da atividade locomotora e da catação em uma fêmea reprodutora de *Callithrix jacchus* durante a gestação e após o parto. *A Primatologia no Brasil*, 7, 49-63.

- Campuzano, A.; Vilaplana, J.; Cambras, T. & Díez-Noguera, A. (1998). Dissociation of the rat motor activity rhythm under T cycles shorter than 24 hours. *Physiology and Behavior*, 63 (2), 171-176.
- Campuzano, A.; Vilaplana, J.; Cambras, T. & Díez-Noguera, A. (1999). The role of wheel running in the coupling of two simultaneous circadian rhythms of motor activity in the rat. *Biological Rhythm Research*, 30 (3), 497-507.
- Challet, E. & Pévet, P. (2003). Interactions between photic and nonphotic stimuli to synchronize the master circadian clock in mammals. *Frontiers in Bioscience*, 8, 246-257.
- Castro, C.S.S.; Menezes, A.L. & Moreira, L.F.S. (2003). Locomotor activity rhythm in free-ranging common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Biological Rhythm Research*, 34 (1), 23-30.
- Cipolla-Neto, J.; Marques, N. & Menna-Barreto, L.S. (1988). *Introdução ao estudo da cronobiologia*. São Paulo, Ed. Ícone, 270p.
- Clarke, J. M. (1994). The common marmoset (*Callithrix jacchus*). *ANZCCART News*, 7(2), 1-8.
- Daan, S. & Aschoff, J. (2001). The entrainment of circadian systems. In Takahashi, Turek e Moore (Org.), *Handbook of Behavioral Neurobiology* (pp.7-43). New York, Academic/Plenum Publishers.
- Daan, S.; Albrecht, U.; van der Horst, G.T.J.; Illnerová, H.; Roennenberg, T.; Wehr, T.A.; Schwartz, W.J. (2001). Assembling a clock for all seasons there M and E oscillators in the genes? *Journal of Biological Rhythms*, 10 (2), 105-116.
- Damiola, F.; Minh, N.; Preitner, N.; Kornmann, B.; Fleury-Olela, F. & Schibler, U. (2000). Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes & Development*, 14, 2950-2961.
- DeCoursey, P.J. (1986). Light-sampling behavior in photoentrainment of a rodent circadian rhythm. *Journal of Comparative Physiology A*, 159, 161-169.
- DeCoursey, P.J. & Krulas, J.R. (1998). Behavior of SCN-lesioned chipmunks in natural habitat: A pilot study. *Journal of Biological Rhythms*, 13 (3), 229-244.
- DeCoursey, P. J.; Walker, J. K. & Smith; S. A. (2000). A circadian pacemaker in free-living chipmunks: essential for survival? *Journal of Comparative Physiology A*, 186 (2), 169-180.

- de la Iglesia, H.; Cambras, T.; Schwartz, W.J.; Díez-Noguera, A. (2004). Forced desynchronization of dual circadian oscillators within the rat suprachiasmatic nucleus. *Current Biology*, 14, 796-800.
- de la Iglesia, H; Meyer, J; Carpino Jr, A.C.; Schwartz, W.J. (2002). Antiphase oscillation of the left and right suprachiasmatic nuclei. *Science*, 290, 799-801.
- Dias, R. M. S. L. (2001). *Distribuição diária da autocatção em Callithrix jacchus, sob diferentes níveis de iluminação*. Dissertação de Mestrado da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Erkert, H. G. & Gröber, J. (1986). Direct modulation of activity and body temperature of owl monkeys (*Aotus lemurinus griseimembra*) by low light intensities. *Folia Primatologica*, 47, 171-188.
- Erkert, H. G. (1989). Characteristics of the circadian activity rhythm in common marmosets (*Callithrix j. jacchus*). *American Journal of Primatology*, 17, 271-286.
- Erkert, H. G.; Nagel, B. & Stephani, I. (1986). Light and social effects on the free-running circadian activity rhythm in common marmosets (*Callithrix jacchus*; Primates): social masking, pseudo-splitting, and relative coordination. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 18, 443-452.
- Erkert, H.G & Schardt, U. (1991). Social entrainment of circadian activity rhythms in common marmosets, *Callithrix j. jacchus* (Primates). *Ethology*, 87, 189-202.
- Folkard, S. (1989). The pragmatic approach to masking. *Chronobiology International*, 6 (1), 55-64.
- Glass, J. D.; Tardif, S. D.; Clements, R. & Mrosovsky, N. (2001). Photic and nonphotic circadian phase resetting in a diurnal primate, the common marmoset. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*, 280, 191-197.
- Groot, M. H. M. & Rusak, B. (2002). Entrainment impaired, masking spared: an apparent genetic abnormality that prevents circadian rhythm entrainment to 24-h lighting cycles in California mice. *Neuroscience Letters*, 327, 203-207.
- Guerin, M. V. & Matthews, C. D. (1990). Plasma melatonin exhibits a diurnal secretion in the common marmoset (*Callithrix jacchus*): Relationship to the rest-activity cycle. *Journal of Pineal Research*, 8, 237-244.

- Halberg, F. (1960). Temporal coordination of physiologic function. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 25, 289-310.
- Halberg, F. (1969). Chronobiology. *Ann. Rev. Physiol.*, 31, 675-723.
- Horne, J. A. & Östberg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology*, 4, 97-110.
- Hurd, M. W. & Ralph, M. R. (1998). The significance of circadian organization for longevity in the golden hamster. *Journal of Biological Rhythms*, 13 (5), 430-436.
- Jagota, A.; de la Iglesia, H. e Schwartz, W.J. (2000). Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus *in vitro*. *Nature*, 3 (4), 372-376.
- Labyak, S.E.; Lee, T.M. & Goel, N. (1997). Rhythm chronotypes in a diurnal rodent, *Octodon degus*. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 273 (3), 1058-1066.
- Lavie, P. (1989). Ultradian rhythms in arousal—the problem of masking. *Chronobiology International*, 6 (1), 21-28.
- Lax, P.; Zamora, S. & Madrid, J.A. (1999). Food-entrained feeding and locomotor circadian rhythms in rats under different lighting conditions. *Chronobiology International*, 16(3), 281-291.
- Marques, M. D. & Waterhouse, J. M. (1994). Masking and the evolution of circadian rhythmicity. *Chronobiology International*, 11(3), 146-155.
- Marques, M. D.; Golombek, D & Moreno, C. (2003). Adaptação temporal. In: Marques, N. & Menna-Barreto, L.S. (Orgs.), *Cronobiologia: princípios e aplicações*. (pp.55-98). São Paulo, Edusp.
- Marques, M.D. (2002). Ritmos biológicos y ciclos ambientales: sincronización. In: Golombek, D.A. (Org), *Cronobiología Humana-Ritmos y relojes biológicos en la saude en la enfermedad*. (pp.85-92). Argentina, Universidad Nacional de Quilmes.
- Mendes, A. L. B. (2004). *Influência de pistas sociais sobre a ressincronização do ritmo circadiano de atividade motora de sagüis (Callithrix jacchus) ao ciclo claro-escuro*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

- Meijer, J.H. & Rietveld, W.J. (1989). Neurophysiology of the suprachiasmatic circadian pacemaker in rodents. *Physiological Reviews*, 69 (3), 671-707.
- Menezes, A. A. L.; Moreira, L. F. & Menna-Barreto, L. (1996). Ontogeny of the locomotor activity rhythm in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Biological Rhythm Research*, 27(3), 319-328.
- Menezes, A. A. L.; Moreira, L. F. S.; Azevedo, C. V. M.; Costa, S. F. & Castro, C. S. S. (1993). Behavioral rhythms in the captive common marmoset (*Callithrix jacchus*) under natural environment conditions. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 26, 741-745.
- Menna-Barreto, L. (2003). O tempo na vida. In: Marques, N. & Menna-Barreto, L.S. (Orgs.). *Cronobiologia: princípios e aplicações*. (pp.25-29). São Paulo, Edusp.
- Mistlberger, R. E. & Skene, D. J. (2004). Social influences on mammalian circadian rhythms: animal and human studies. *Biological Reviews*, 79, 533-556.
- Moore, R. Y. (1993). Organization of the primate circadian system. *Journal of Biological Rhythms*, 8, S3-S9.
- Moore, R. Y. (1999). Circadian Timing. In: Zigmond, M. J.; Bloom, F. E.; Landis, S. C.; Roberts, J. L. & Squire, L. R. (Eds) *Fundamental Neuroscience*, (pp. 1189-1206). San Diego, Academic Press.
- Moore-Ede, M.C. & Sulzman, F.M. (1981). Internal temporal order. In: Aschoff, F. (Org.), *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Biological Rhythms (pp.215-241). New York, Plenum Press.
- Moreira, L. F. S.; Sousa, M. B. C.; Menezes, A. A. L.; Azevedo, C. V.; Mota, M. T. S.; Costa, S. F. & Castro, C. S. S. (1991). Ritmo da atividade motora do sagüi comum (*Callithrix jacchus*). *A Primatologia no Brasil*, 3, 25-33.
- Mrosovsky, N. (1999). Masking: history, definitions and measurement. *Chronobiology International*, 16(4), 415-429.
- Mrosovsky, N.; Foster, R. G. & Salmon, P. A. (1999). Thresholds for masking responses to light in three strains of retinally degenerate mice. *Journal Comparative Physiology A*, 184, 423-428.
- Mrosovsky, N.; Lucas, R. J. & Foster, R. G. (2001). Persistence of masking responses to light in mice lacking rods e cones. *Journal of Biological Rhythms*, 16 (6), 585-587.

- Mrosovsky, N.; Salmon, P. A.; Foster, R. G. & McCall, M. A. (2000). Responses to light after retinal degeneration. *Vision Research*, 40, 575-578.
- Nagano, M.; Adachi, A.; Nakahama, K.; Nakamura, T.; Tamada, M.; Meyer-Bernstein, E.; Sehgal, A. & Shigeyoshi, Y. (2003). An abrupt shift in the day/night cycle causes desynchrony in the mammalian circadian center. *The Journal of Neuroscience*, 23 (14), 6141-6151.
- Nakamura, W.; Honma, S.; Shirakawa, T. & Honma, K. (2001). Regional pacemakers composed of multiple oscillator neurons in the rat suprachiasmatic nucleus. *European Journal of Neuroscience*, 14, 666-674.
- Pálková, M.; Sigmund, L. & Erkert, H. G. (1999). Effect of ambient temperature on the circadian activity rhythm in common marmosets, *Callithrix j. jacchus* (Primates). *Chronobiology International*, 16(2), 149-161.
- Petry, H.; Riehl, I. & Zucker, H. (1987). Spontanaktivität und fressverhalten von weissbüschelläffchen (*Callithrix jacchus*). *Z. Versuchstierkd*, 29, 197-207.
- Pickard, G.E. & Turek, F.W. (1982). Splitting of the circadian-rhythm of activity is abolished by unilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei. *Science*, 215, 1119-1121.
- Pittendrigh, C.S. (1960). Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. Cold Spring Harbor Symp. *Quant. Bio.*, 25, 159-184.
- Pittendrigh, C.S.; Daan, A. (1976). A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. *Journal Comparative Physiology A*, 106, 333-355.
- Pittendrigh, C. S. (1981). Circadian systems: Entrainment. In: Handbook of Behavioral Neurobiology. In: Aschoff, J. (Ed.), *Biological Rhythms*. (Vol. 4, pp. 95-124), New York: Plenum Press.
- Pratt, B.L. & Godman, B.D. (1986). Activity rhythms and photoperiodism of syrian hamsters in a simulated burrow system. *Physiology and Behavior*, 36, 83-89.
- Ralph, M. R.; Foster, R. G.; Davis, F. C. & Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science*, 247, 975-978.
- Redlin, U. & Mrosovsky, N. (1999a). Masking by light in hamsters with SCN lesions. *Journal Comparative Physiology A*, 184, 439-448.
- Redlin, U. & Mrosovsky, N. (1999b). Masking of locomotor activity in hamsters. *Journal Comparative Physiology A*, 184, 429-437.

- Refinetti, R. (2004). Daily activity pattern of a nocturnal and a diurnal rodent in a seminatural environment. *Physiology & Behavior*, 82, 285-294.
- Roenneberg, T.; Daan, S. & Merrow, M. (2000). The art of entrainment. *Journal of Biological Rhythms*, 18 (3), 183-194.
- Rusak, B. (1977). The role of the suprachiasmatic nuclei in the generation of circadian rhythms in the golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 118 (2), 145-164.
- Sakamoto, K.; Nagase, T; Fukui, H.; Horikawa, K.; Okada, T.; Tanaka, H.; Sato, K.; Miyake, Y.; Ohara, O.; Kako, K. & Ishida, N. (1998). Multitissue Circadian Expression of Rat period Homolog (rPer2) mRNA Is Governed by the Mammalian Circadian Clock, the Suprachiasmatic Nucleus in the Brain. *Journal of Biological Chemistry*, 273 (42), 27039-27042.
- Schwartz, W.J.; Carpino, A., de la Iglesia, H.O.; Baler, R., Klein, D.C., Nakabeppu, Y. & Aronin, N. (2000). Differential regulation of fos family genes in the ventrolateral and dorsomedial subdivisions of the rat suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience*, 98 (3), 535-547.
- Schardt, U.; Wilhelm, I. & Erkert, H. G. (1989). Splitting of the circadian activity rhythm in common marmosets (*Callithrix j. jacchus*; Primates). *Experientia*, 45, 1112-1115.
- Silva, M. M. A.; Albuquerque, A. M. & Araujo, J. F. (2005). Light-dark cycle synchronization of circadian rhythm in blind primates. *Journal of Circadian Rhythms*, 3(10), 1-5.
- Stephan, F. K.; Swann, J. M.; Sisk, C. L. (1979). Entrainment of circadian rhythms by feeding schedules in rats with suprachiasmatic lesions. *Behavioral Neural Biology*, 25, 545-554.
- Stokkan, K.A.; Yamazaki, S.; Tei, H.; Sakaki, Y. & Menaker, M. (2001). Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science*, 291, 490-493.
- Turek, F. W. & Takahashi, J. S. (2001). Introduction to circadian rhythms. In Takahashi, Turek e Moore (Org.), *Handbook of Behavioral Neurobiology* (pp.3-5). New York, Academic/Plenum Publishers.
- Wechselberger, E. & Erkert, H. G. (1994). Characteristics of the light-induced phase response of circadian activity rhythms in common marmosets, *Callithrix j. jacchus* [Primates-Cebidae]. *Chronobiology International*, 11(3), 275-284.

- Weinert, D.; Sturm, J. & Waterhouse, J. (2002). Different behavior of the circadian rhythms of activity and body temperature during resynchronization following an advance of the LD cycle. *Biological Rhythm Research*, 33 (2), 187-198.
- Werdenich, D. & Huber, L. (2002). Social factors determine cooperation in marmosets. *Animal Behaviour*, 64, 771-781.
- Welsh, D.K.; Logothetis, D.E.; Meister, M.; Reppert, S.M. (1995). Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 14, 697-706.
- Wever, R.A. (1975). The circadian multi-oscillator system of man. *Int. J. Chronobiology*, 3, 19-55.
- Wever, R.A. (1979). *The circadian system of man: Results of experiments under temporal isolation*. Springer, New York, 1979.
- Yamamoto, M. E. (1993). From dependency to maturity: The behavioral ontogeny of Callithrichidae. In. Rylands, A. B. (Org.), *Marmosets and tamarins. Systematics, behavior and ecology* (pp.235-254). Oxford, Oxford University Press.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)