

MÁRCIO VINÍCIUS REGO

**PERFIL HORMONAL ANUAL DE MACHOS E FÊMEAS
ADULTOS DE SAGÜIS (*Callithrix jacchus*)**

NATAL, RN

2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

MÁRCIO VINÍCIUS REGO

**PERFIL HORMONAL ANUAL DE MACHOS E FÊMEAS
ADULTOS DE SAGÜIS (*Callithrix jacchus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Psicobiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Psicobiologia.

NATAL, RN

2008

Divisão de Serviços Técnicos
Catalogação da Publicação na Fonte. UFRN / Biblioteca Central Zila Mamede

Rego, Márcio Vinícius.

Perfil hormonal anual de machos e fêmeas adultos de Sagüis (*Callithrix jacchus*) / Márcio Vinícius Rego. – Natal, RN, 2008.

55 f.

Orientadora: Maria Teresa da Silva Mota.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia.

1. Comportamento animal – Dissertação. 2. Sagüi (*Callithrix jacchus*) - Hormônios – Dissertação. 3. Sagüi (*Callithrix jacchus*) – Prolactina e cortisol - Dissertação. I. Mota, Maria Teresa da Silva. II. Título.

RN/UF/BCZM

CDU 591.5(043.3)

Título: **PERFIL HORMONAL ANUAL DE MACHOS E FÊMEAS
ADULTOS DE SAGÜIS (*Callithrix jacchus*)**

Autor: **Márcio Vinícius Rego**

Data da Defesa: **31 de março de 2008**

Banca Examinadora

Prof^a. Christina da Silva Camillo
Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do
Rio Grande do Norte

Prof. Alexandre Augusto de Lara Menezes
Universidade Federal do Rio Grande do Norte, RN

Prof^a. Maria Teresa da Silva Mota
Universidade Federal do Rio Grande do Norte, RN

RESUMO

Muitas variáveis biológicas e comportamentais dos animais se expressam sob a forma de ritmos biológicos, determinadas pelo Sistema de Temporização Circadiana, que as sincronizam com o ambiente a partir de estímulos externos, como a luz. Uma delas é o perfil de secreção da maioria dos hormônios circulantes regulado pelo eixo Hipotálamo-Hipofisário, que controla funções essenciais para a sobrevivência e a reprodução dos organismos. O sagüi, *Callithrix jacchus*, uma das espécies mais estudadas quanto à sua fisiologia endócrina, é um sujeito adequado para a avaliação do perfil plasmático de prolactina e cortisol de machos e fêmeas adultos nascidos em cativeiro ao longo do ano. Três machos e duas fêmeas adultas foram alojados individualmente e submetidos às condições ambientais naturais durante dois anos. Amostras de sangue foram usadas para dosar os níveis circulantes de ambos os hormônios pelos métodos Radioimunoensaio (RIA) e Imunoenzimático (ELISA), respectivamente. A análise ao longo do ano dos valores plasmáticos de ambos os hormônios foi realizada pelo teste de ANOVA para Medidas Repetidas, pela correlação de Spearman, e pelos testes de Friedman e t de *Student*. Os níveis de prolactina no plasma se mostraram mais elevados durante os meses nos quais há uma maior ocorrência de nascimentos de filhotes na colônia, servindo possivelmente para modular a expressão do comportamento de cuidado parental em ambos os sexos. O cortisol plasmático mostrou uma elevação em antecipação à estação com maior natalidade, podendo estar associada com a preparação do indivíduo para participação no cuidado aos filhotes, e também com o estabelecimento de laço afetivo entre os parceiros reprodutivos. Assim, o presente estudo mostra que, apesar das variações observadas no ambiente no qual os animais vivem, os níveis plasmáticos de prolactina e cortisol oscilam pouco ao longo do ano.

Palavras-chave: 1. Comportamento animal. 2. Sagüi (*Callithrix jacchus*) - Hormônios. 3. Sagüi (*Callithrix jacchus*) - Prolactina e Cortisol.

ABSTRACT

Many behavioral and biological variables of animals are expressed in the form of biological rhythms, down by the Circadian Timing System, that synchronize them with the environment from external stimuli such as light. One of them is the secretion profile of most circulating hormones regulated by the hypothalamus-pituitary axis, which controls functions essential for the survival and reproduction of organisms. The sagüi, *Callithrix jacchus*, one of the most studied species about their endocrine physiology, is an appropriate subject for evaluating the profile of plasma prolactin and cortisol of adult males and females born in captivity throughout the year. Three male and two adult females were housed individually and subjected to natural environmental conditions over two years. Blood samples were used to measure the circulating levels of both hormones by the methods radioimmunoassay (RIA) and immunoassay (ELISA), respectively. The analysis during the year of the plasmatic values of both hormones test was performed by ANOVA for repeated measures, the correlation of Spearman, and the tests of Friedman and Student's t-test. The levels of prolactin in plasma were higher during the months in which there is a greater incidence of births of baby in the colony, possibly serving for modulating the expression of the behavior of parental care in both sexes. The plasma cortisol showed a lift in anticipation of the station with the highest birth rate and may be associated with the preparation of individual participation in caring for the baby, and also with the establishment of emotional bond between reproductive partners. Thus, this study shows that, despite the variations observed in the environment in which the animals live, plasma levels of prolactin and cortisol vary little throughout the year.

Keywords: 1. Animal behaviour. 2. Sagui (*Callithrix jacchus*) - Hormones. 3. Sagui (*Callithrix jacchus*) - Prolactin and Cortisol.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1. 1. Ritmos biológicos	1
1. 2. Sazonalidade	4
1. 3. Oscilações rítmicas da função endócrina e suas implicações	5
1. 3. 1. O eixo hipotálamo-adenohipófise	5
1. 3. 1. 1. Prolactina	8
1. 3. 1. 2. Cortisol	9
1. 4. Caracterização da espécie estudada	11
2. OBJETIVO.....	13
3. HIPÓTESES E PREDIÇÕES	14
4. MATERIAL E MÉTODO	16
4.1. Animais.....	17
4.2. Procedimento experimental.....	17
4. 2. 1. Coleta de sangue	17
4. 2. 2. Dosagem hormonal.....	20
4. 2. 2. 1. Ensaio da prolactina plasmática	20
4. 2. 2. 2. Ensaio do cortisol plasmático	22
4. 2. 2. 3. Ensaio do cortisol fecal.....	23
4.3. Análise estatística.....	25
5. RESULTADOS	27
5.1. Variáveis Ambientais	27
5.2. Prolactina plasmática.....	29
5.3. Cortisol plasmático	34
5.4. Cortisol fecal	35
6. DISCUSSÃO	37
7. CONCLUSÃO.....	42
8. REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

1. 1. Ritmos Biológicos

Diversas variáveis fisiológicas e comportamentais dos organismos se apresentam de forma recorrente no tempo, a intervalos regulares, caracterizando-se como ritmos. Em sendo verificados na matéria viva, eles são denominados *ritmos biológicos*. Um ritmo é definido a partir de alguns parâmetros fundamentais: a) *período*, que é o intervalo de tempo necessário para que um ciclo seu se complete; b) *frequência*, que é o número de vezes com que ele se expressa em um dado intervalo de tempo; c) *amplitude*, que diz respeito à magnitude de variação dos valores que a variável biológica rítmica pode assumir e d) *fase*, que representa um certo momento no ciclo, como as fases de atividade e de repouso num ciclo diário de qualquer organismo (Becker *et al.*, 2001).

A ritmicidade foi verificada em todos os grupos de eucariotos e também em alguns de procariotos (Menna-Barreto, 1997), sendo a recorrência determinada pelo *Sistema de Temporização Circadiana* (STC) (Moore-Ede *et al.*, 1982), um conjunto de estruturas que funcionam de forma oscilatória e que, daí, permite aos organismos medirem o avanço do tempo. A partir disso, eles podem ajustar a ocorrência de processos internos para que aconteçam de forma sincronizada com os momentos nos quais o ambiente externo se apresente mais favorável à sua expressão (Marques *et al.*, 1997). Isso possibilita aos organismos antecipar condições ambientais futuras previsíveis, como as fases de claro e escuro diárias e as estações do ano; economizando recursos e maximizando a eficiência desses processos (Araújo e Marques, 1997).

O STC é composto por múltiplos osciladores, sendo o núcleo supraquiasmático (NSQ) o principal (Diez-Noguera, 1994). O NSQ é uma estrutura hipotalâmica composta por um par de núcleos, sendo cada um deles localizado em um dos hemisférios cerebrais. Essa estrutura recebe estímulos ambientais de naturezas diversas através de uma série de aferências, sendo as

principais os tratos retino-hipotalâmico (TRH) e geniculado-hipotalâmico (TGH), que veiculam impulsos nervosos relativos a informações de natureza fótica e não-fótica, respectivamente (Moga e Moore, 1997). A atividade do NSQ, rítmica desde o estágio fetal (Weaver and Reppert, 1989; Welch *et al.*, 1995), é regulada pela interação das informações que chegam a ele. Essa estrutura hipotalâmica se projeta para diversas regiões encefálicas, como o prosencéfalo basal, o tálamo e outras regiões hipotalâmicas (Watts, 1991; Leak e Moore, 2001), as quais regulam diferentes funções do organismo, como o metabolismo e a reprodução (Akil *et al.*, 1999; Frohman *et al.*, 1999). Assim, as informações ambientais que chegam ao oscilador principal regulam a atividade dessa estrutura que, por sua vez, coordena a daquelas que recebem suas aferências, resultando na sincronização dos processos internos ao meio ambiente (Menna-Barreto, 1997).

Apesar de sua relação com o ambiente, os ritmos são evidentes na ausência de pistas ambientais cíclicas. Em experimentos nos quais os organismos são submetidos a condições ambientais constantes, o período que cada um de seus ritmos exibe é atribuído somente ao seu componente endógeno. Nessas condições, os organismos, bem como o período verificado em cada ritmo biológico, são ditos em *livre-curso*. Apesar da origem endógena, os ritmos biológicos podem sofrer influência de fatores exógenos rítmicos (Moore, 1997). Estes podem alterar tanto a frequência de expressão dos ritmos, fazendo com que a variável biológica passe a se expressar em períodos iguais ao do fator exógeno; quanto a fase, fazendo com que a expressão do ritmo ocorra em coincidência com uma determinada fase do ciclo do fator ambiental. Também as alterações podem ocorrer na amplitude de oscilação, podendo os valores assumidos pela variável biológica em questão ser maiores ou menores de acordo com a fase do ciclo do fator exógeno. O processo de sincronização de um ritmo biológico com um estímulo externo é denominado arrastamento, sendo esse estímulo chamado de arrastador, sincronizador ou *zeitgeber* (Aschoff, 1951 *apud* Marques *et al.*, 1997). Como exemplo desse processo, se pode citar a elevação nos níveis de

corticosterona próximo ao início das fases diárias de escuro e de atividade em ratos, as quais coincidem temporalmente (Kwak *et al.*, 1993).

Diversos fatores ambientais ocorrem sob a forma de ciclos, se constituindo, assim, em potenciais sincronizadores. Como exemplos, há os ciclos de temperatura ambiental, de disponibilidade de alimento e de água e o ciclo diário de *claro-escuro*. Este, por ser a fonte ambiental de variação temporal mais regular, é a mais utilizada como sincronizador. Em consequência disso, a luminosidade ambiental influencia, dentre diversos outros processos biológicos, o ritmo anual de hibernação e de reprodução de muitos vertebrados (Schmidt-Nielsen, 1996).

No arrastamento fótico, em mamíferos, a luz é captada por células da retina (Hattar *et al.*, 2002), sendo, em consequência, gerados potenciais nervosos que seguem, via TRH, para o NSQ. Este envia sinais para a glândula pineal, no Epitálamo, os quais atuam na regulação da secreção de melatonina (Moore, 1997). Como consequência disso, o ritmo de liberação desse hormônio apresenta uma estreita relação com as variações de luminosidade ambiental, ocorrendo níveis mais elevados durante a fase diária de escuro (Goldman, 1999). Na corrente sangüínea, a melatonina atua sobre diversas estruturas, dentre as quais se incluem a porção anterior da hipófise, o núcleo paraventricular do hipotálamo e o próprio NSQ (Williams, 1989; de Reviere *et al.*, 1991). Neste, o sinal gerado pela melatonina é processado, e então utilizado para o arrastamento dos ritmos circadianos (Goldman, 1999). Deste modo, este hormônio fornece informação temporal para diversos sistemas fisiológicos (Arendt, 2005).

Os ritmos biológicos são classificados com base em seus períodos, dos quais o período de 24 horas, um dia, é utilizado como referência. Assim, eles são classificados em *circadianos*, estreitamente relacionados ao ciclo diário de claro/escuro, que apresentam períodos em torno de um dia (24 ± 4 h), com uma ocorrência diária, como o ciclo diário de sono/vigília; *ultradianos*, que apresentam períodos menores que 20 h, com mais de uma ocorrência diária, como o ritmo de disparo neuronal, e *infradianos*, que apresentam períodos

maiores que 28 h, com menos de uma ocorrência diária, como o ciclo menstrual em humanos, que é de aproximadamente 28 dias (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Como visto, há períodos de ritmos biológicos que vão de frações de segundos a várias horas (Araújo e Marques, 1997). Desses ritmos, alguns se inter-relacionam com outros de períodos distintos, modulando-os e tendo a expressão modulada por eles. Isso permite a ocorrência de ajustes na fase, na amplitude e/ou na frequência. Nesse sentido, Van Cauter e Refetoff (1989) citam o ritmo circadiano de horário de início do sono como modulador da fase da ritmicidade ultradiana da secreção do hormônio do crescimento (GH), ocorrendo maiores concentrações do hormônio durante o início da fase de sono.

1. 2. Sazonalidade

Dentre os ritmos biológicos com diferentes períodos, as oscilações sazonais, infradianas, desempenham um papel adaptativo importantíssimo para inúmeros organismos. Isso pode ser verificado pelo fato da maioria dos mamíferos de zonas temperadas e alguns de zonas tropicais exibirem alterações sazonais evidentes em sua atividade reprodutiva, de modo que o nascimento de filhotes e sua amamentação ocorrem na estação de maior abundância de recursos ambientais vitais ao desenvolvimento da prole gerada (Goldman, 1999). Um outro exemplo diz respeito ao comportamento de migração apresentado por alguns grupos de peixes, aves e mamíferos. Esses animais, em antecipação à chegada das estações do ano de condições ambientais desfavoráveis, se deslocam para regiões que apresentam nesta época condições favoráveis à sua atividade reprodutiva. Também o comportamento de hibernação observado em diversas espécies de aves e mamíferos se configura como um ritmo sazonal (Geiser, 1988; Kortner e Geiser, 2000). Nesse processo, os animais acumulam reservas energéticas durante a estação com maior disponibilidade de recursos alimentares em antecipação ao inverno, quando essa disponibilidade diminui drasticamente e

a temperatura ambiental é demasiado baixa. Esses animais diminuem significativamente sua atividade diária e utilizam os recursos energéticos previamente armazenados (Nelson, 2000).

Na base da geração dos ritmos biológicos sazonais, muitos mamíferos utilizam o ciclo anual de mudanças no comprimento da fase de claro do dia (fotofase) para regular a ocorrência e a duração de seus processos fisiológicos e comportamentais (Goldman, 1999). É por meio da medição fotoperiódica do avanço do tempo que ocorrem variações sazonais na duração da fase de níveis elevados de melatonina e, a partir disso, nos níveis de diversos outros hormônios.

1. 3. Oscilações Rítmicas da Função Endócrina e Suas Implicações

Dentre os diversos ritmos biológicos de animais adultos, uma variável fisiológica com oscilações marcantes e implicações relevantes na biologia dos organismos é o perfil de síntese e liberação hormonal, sobretudo para os hormônios produzidos e liberados pelo eixo Hipotálamo-Adenohipófise. Este é o principal responsável pela regulação neuroendócrina de diversas funções críticas para a geração e manutenção da vida tais como o desenvolvimento e crescimento corporal, o metabolismo basal e a reprodução.

1. 3. 1. O Eixo Hipotálamo-Adenohipófise

O componente superior na hierarquia funcional do eixo é o Hipotálamo. Este é uma estrutura-chave para o funcionamento integrado dos diferentes sistemas que compõem o organismo, sendo capaz de regular processos essenciais para a manutenção da homeostase, como a regulação do equilíbrio hídrico e eletrolítico, a temperatura corporal, os comportamentos de comer e beber, dentre outros (Lent, 2001). O hipotálamo tem sua atividade regulada pela integração de

informações que recebe por vias distintas, como sinais químicos advindos da corrente sanguínea, como os níveis de Ca^{+2} ; das vísceras, como as distensões nas paredes gastrointestinais; do sistema límbico, relacionado a experiências com conteúdo emocional; do sistema somático, como as distensões na musculatura estriada esquelética e de órgãos sensoriais especiais, como estímulos visuais (Akil *et al.*, 1999), como mostra a Figura 1. Desse modo, tanto estímulos do meio interno quanto do meio externo são importantes na regulação da síntese e da secreção dos hormônios hipofisotróficos produzidos por núcleos hipotalâmicos diversos. Esses hormônios são lançados no sistema porta hipotalâmico-hipofisário, uma rede de capilares fenestrados que desembocam na porção anterior da glândula hipófise, a adenohipófise. Nesta, esses hormônios atuam sobre grupos celulares específicos, estimulando ou inibindo a secreção de hormônios hipofisários (Guyton e Hall, 2002). Estes são lançados na corrente sanguínea e atuam sobre glândulas, como a tireóide, regulando o metabolismo basal, ou sobre tecidos periféricos, como os ossos, promovendo seu crescimento. Os hormônios hipofisários desempenham uma função trófica sobre seus tecidos-alvo, sendo capazes de alterar o seu metabolismo, estimulando, no caso de glândulas, a secreção de seus hormônios. Cada um desses hormônios, além de desempenhar funções específicas sobre seus tecidos-alvo, atuam na regulação do funcionamento do eixo por meio de alças de retroalimentação.

A secreção hipotalâmica e, em consequência, a hipofisária ocorrem de forma pulsátil, revelando ritmos ultradianos (Akil *et al.*, 1999). Estes ritmos ocorrem organizados temporalmente com outros de periodicidade circadiana e infradiana nessas mesmas funções, caracterizando a ocorrência de intermodulação de frequências no funcionamento dos eixos de regulação neuroendócrina do organismo. Esses diferentes eixos regulam funções biológicas distintas. Cada um deles recebe uma denominação própria de acordo com os núcleos do hipotálamo e as células da adenohipófise envolvidos, bem como o tipo e o destino dos hormônios secretados por cada uma dessas estruturas. Diferentes hormônios atuam na regulação de funções distintas, dentre eles, se

incluem a prolactina e o cortisol, cujos níveis plasmáticos oscilam, revelando a ocorrência de ritmicidade na função endócrina (Akil *et al.*, 1999; Frohman *et al.*, 1999).

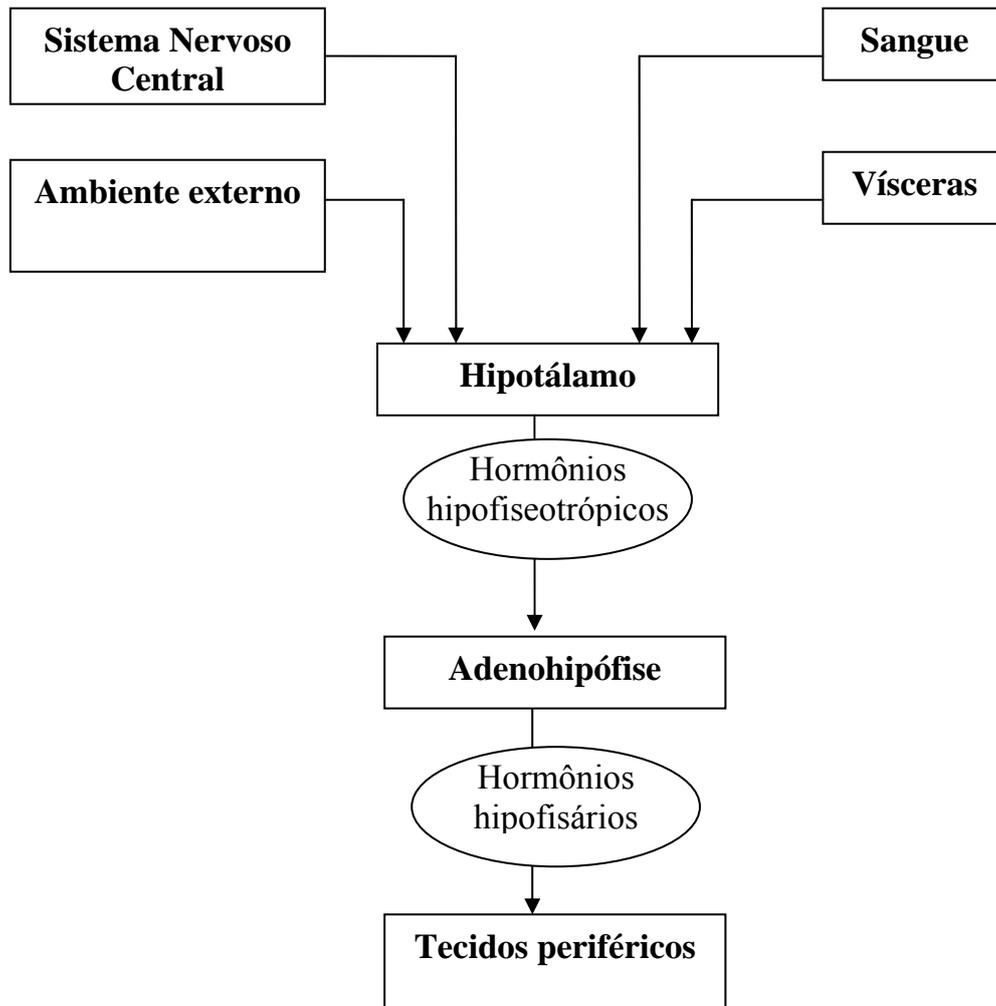


Figura 1. Eixo Hipotálamo-Hipófise e seus componentes principais.

1. 3. 1. 1. Prolactina

A prolactina é um hormônio de natureza peptídica produzido pelos lactótrofos da adenohipófise (Schmidt-Nielsen, 1996). A sua secreção é regulada pelo peptídeo vasointestinal (VIP) produzido no NSQ e pela dopamina do núcleo arqueado, que funcionam como fatores de liberação e de inibição, respectivamente (Frohman *et al.*, 1999). Um fator adicional que pode causar aumentos nos níveis de prolactina é a elevação dos níveis de cortisol que ocorre em situações de estresse agudo (Castro e Matt, 1997; Ziegler *et al.*, 1996b).

Apesar de seu conhecido papel no processo de lactação, pela estimulação do desenvolvimento das glândulas mamárias, o início e a manutenção da secreção de leite em fêmeas de mamíferos, a prolactina tem mais de 300 ações biológicas descritas (Bole-Feysot *et al.*, 1998). Dentre estas, se inclui a regulação do sistema imune, do metabolismo e do balanço hídrico e de eletrólitos, além da influência sobre o crescimento corporal e a metamorfose em anfíbios (Freeman *et al.*, 2000). Em mamíferos, a prolactina mantém o corpo lúteo durante a gravidez, aumentando o número de receptores para hormônio luteinizante (LH), e, em consequência, aumentando a síntese de progesterona necessária à manutenção da gestação (Niswender *et al.*, 2000). Durante esse estágio, a elevação dos níveis de prolactina é associada, na maioria das espécies de primatas, a uma redução na receptividade reprodutiva (Freeman *et al.*, 2000), apesar disso não ocorrer em *Callithrix jacchus* (McNeilly *et al.*, 1981). Outra correlação durante a gravidez é da prolactina com a ocorrência de comportamento materno (Freeman *et al.*, 2000). Além disso, esse hormônio também tem sido relacionado com o comportamento de cuidado à prole apresentado pelos machos de várias espécies de aves (Goldsmith, 1982; Angelier *et al.*, 2006), roedores (Gubernick e Nelson, 1989; Reburn e Wynne-Edwards, 1999) e primatas não-humanos, como *Saguinus oedipus* (Ziegler *et al.*, 1996b; Ziegler *et al.*, 2004) e *Callithrix jacchus* (Dixson e George, 1982; Mota e Sousa, 2000; Mota *et al.*, 2006), ambos da família Callitrichidae. Em *C. jacchus*, foi verificada uma associação de níveis elevados

de prolactina em pais e ajudantes não reprodutivos de ambos os sexos com o nascimento dos filhotes (Mota *et al.*, 2006).

O padrão de secreção de prolactina ocorre sob a forma de ritmos com componentes ultradianos e circadianos (Mattheij e Swarts, 1978; Kiem *et al.*, 1987). Em humanos, o ritmo circadiano se caracteriza por níveis mais elevados durante o sono e mais baixos próximo ao despertar (Sassin *et al.*, 1973). Para evidenciar a ocorrência de intermodulação de frequências na secreção deste hormônio, seu pico diário em fêmeas é mais elevado durante a fase luteal do que na folicular do ciclo ovariano (Tennekoon e Lenton, 1985). A secreção de prolactina mostra também um componente sazonal (Duncan e Goldman, 1984; Concannon *et al.*, 1999), regulando, na maioria dos mamíferos fotoperiódicos, a queda e o crescimento da pelagem de acordo com a estação do ano. Como consequência, durante o inverno é presente a pelagem longa e durante o verão, a pelagem curta (Duncan e Goldman, 1984). Em geral, as espécies apresentam diferenças inter-sexuais nos níveis médios de prolactina, com os machos apresentando níveis mais baixos do que as fêmeas (Frohman *et al.*, 1999).

1.3.1.2. Cortisol

De natureza esteróide, o cortisol é secretado pelo córtex da glândula adrenal. Essa glândula o libera a partir da ação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), secretado pelos corticotropos da adenohipófise em decorrência da ação do hormônio liberador de corticotropina (CRH) pelo núcleo paraventricular do hipotálamo (Akil *et al.*, 1999). A principal ação desse hormônio é verificada durante a resposta do organismo a situações de estresse (Sapolsky, 2001), onde tem seus níveis plasmáticos elevados, causando aumento no nível de glicose circulante, a qual pode ser utilizada como fonte energética em diversos processos fisiológicos relacionados à resposta a estressores. Além disso, este hormônio é importante em situações nas quais não há estressores, nas quais atua preparando

o organismo para a fase diária de atividade (Akil *et al.*, 1999), elevando ou diminuindo a glicemia em antecipação às fases diárias de atividade e repouso, respectivamente.

Além da relação com o estresse, o cortisol parece ser envolvido com padrões comportamentais essenciais ao sucesso reprodutivo e à sobrevivência de filhotes, como o cuidado parental. Pais humanos apresentam níveis elevados de cortisol pouco antes do parto em associação ao estabelecimento de laços sociais e afetivos com suas parceiras (Levine *et al.*, 1997) e progênes (Storey *et al.*, 2000). Entre as mães, a elevação de cortisol está relacionada à maior atratividade materna por seus filhos (Fleming *et al.*, 1997). Esta relação do cortisol com laços afetivos com filhotes também é vista em primatas não-humanos (Ziegler *et al.*, 1996b, 2004), incluindo *Callithrix jacchus* (Mota *et al.*, 2006), apesar do cuidado maternal ser correlacionado negativamente com as concentrações de cortisol pós-parto em primatas não-humanos, como gorilas, *Gorilla gorilla* (Bahr *et al.*, 1998) e macacos japoneses, *Macaca fuscata* (Bardi *et al.*, 2003).

Um fator que pode modular os níveis médios de cortisol reside nas interações sociais vividas pelos indivíduos. Entre as fêmeas de *Saguinus oedipus* (Ziegler *et al.*, 1995) e *Callithrix jacchus* (Saltzman *et al.*, 1998), as subordinadas têm níveis médios de cortisol mais baixos que as dominantes; o que, contudo, parece não ocorrer com os machos desta espécie (Raminelli *et al.*, 2001). Nos primatas da família Callitrichidae, os níveis de cortisol apresentam diferenças inter-sexuais, com níveis mais elevados em fêmeas que em machos (Johnson *et al.*, 1996).

O cortisol tem um padrão de secreção rítmico, com periodicidade circadiana. Neste, as elevações e quedas são verificadas pouco antes das fases de atividade e repouso, respectivamente (Van Cauter, 1989; Van Cauter *et al.*, 1992), que podem ou não ocorrer em coincidência com as fases diárias de claro ou escuro, dependendo da espécie. Em calitriquídeos, por exemplo, as concentrações mais elevadas são verificadas no começo da manhã, declinando ao longo do dia (Cross e Rogers, 2004). Como consequência desse ritmo circadiano,

situações de estresse em horários distintos do dia podem causar respostas de magnitudes diferentes com relação à elevação dos níveis de cortisol (Akil *et al.*, 1999). Além das oscilações circadianas, elevações nos níveis de cortisol foram verificadas durante o período periovulatório, demonstrando um padrão infradiano em calitriquídeos (Ziegler *et al.*, 1995). Também há oscilações sazonais em outros mamíferos, como ursos panda, nas quais são relacionadas a variações na função reprodutiva em diferentes estações, visto que níveis elevados de cortisol inibem esta função (Owen *et al.*, 2005).

1. 4. Caracterização da espécie estudada

Dentre os mamíferos, a espécie *Callithrix jacchus* se destaca como um sujeito experimental adequado para o estudo de ritmicidade na função endócrina, uma vez que há uma extensa bibliografia disponível sobre sua endocrinologia, como também pelo seu pequeno porte e por sua alta adaptabilidade ao cativeiro.

O sagüi, *Callithrix jacchus*, é um primata neotropical originário da região leste do Brasil (Hearn, 1983) que pertence à família Callitrichidae, composta pelos gêneros *Callithrix*, *Cebuella*, *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico* e *Mico* (Rylands *et al.*, 2000). Esses animais vivem em grupos de até trinta indivíduos (Hearn, 1983), nos quais geralmente só um par - dominante - reproduz e exhibe uma ligação afiliativa estreita que não se estende aos demais indivíduos do grupo social (Epple, 1975; Anzenberger, 1992). Cada parceiro que compõe o par dominante inibe ativamente a reprodução nos demais membros co-sexuais (Abbott, 1984), com os machos subordinados não exibindo comportamentos sexuais (Abbott, 1984) e as fêmeas tendo sua ovulação inibida (Abbott, 1984; Saltzman *et al.*, 2000).

As fêmeas reprodutoras produzem normalmente proles gemelares em cada gestação (Wolfe *et al.*, 1975), podendo a fêmea reprodutora se mostrar sexualmente receptiva já nas primeiras semanas do pós-parto, enquanto ainda está a amamentar sua prole (Lockehaydon e Chalmers, 1983; Ziegler *et al.*,

1990). Nessa condição, a fêmea pode engravidar enquanto amamenta e cuida da prole recém-nascida, o que torna o cuidado à prole um processo energeticamente custoso. Como consequência disso, se desenvolveu neste grupo de primatas o cuidado cooperativo, com outros membros do grupo social, aparentados ou não, auxiliando nessa atividade (Yamamoto, 1993; Solomon e French, 1997).

A reprodução dessa espécie parece apresentar um padrão sazonal, visto que foi verificada na colônia onde foi realizado o presente estudo, uma maior taxa de natalidade entre os meses de novembro e março (Souza *et al.*, 1999). Em adição, vários estudos sugerem uma base fisiológica para comportamentos essenciais ao sucesso reprodutivo e à sobrevivência de filhotes, como o cuidado parental, relacionado a variações nos níveis de prolactina (Lukas *et al.*, 1998) e cortisol (Mota *et al.*, 2006). Assim, se pode esperar que variações anuais nesses comportamentos sejam moduladas por oscilações de frequência semelhante nos níveis desses hormônios. Como essas oscilações são associadas a variações ambientais cíclicas, torna-se bastante provável uma sincronização entre as oscilações da prolactina e do cortisol, as estações de acasalamento e a produção de prole em épocas mais favoráveis do ano.

2. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivos:

- a) Avaliar o perfil plasmático anual dos hormônios prolactina e cortisol regulados pelo eixo hipotálamo-hipofisário em animais adultos da espécie *Callithrix jacchus* vivendo em cativeiro;
- b) Investigar oscilações nos perfis plasmáticos anuais de prolactina e cortisol conforme variações anuais nos parâmetros ambientais de temperatura do ar, precipitação e duração da fase de claro do dia (fotofase);
- c) Investigar a influência do sexo nas concentrações plasmáticas de prolactina e cortisol ao longo do ano.

3. HIPÓTESES E PREDIÇÕES

Hipótese 1

Os padrões de secreção de prolactina e cortisol apresentarão variação anual determinada pela variação da duração da fotofase ao longo dos meses do ano.

Predições

Os níveis plasmáticos de prolactina de machos e fêmeas se elevarão em antecipação aos meses de maior ocorrência de nascimento de filhotes, sendo relacionados à iniciação do comportamento de cuidado parental.

Os níveis plasmáticos de cortisol de machos e fêmeas aumentarão antes da época do ano de maior natalidade em associação ao fortalecimento do laço afetivo entre os membros do par reprodutor.

Hipótese 2

Os padrões de secreção de prolactina e cortisol serão modulados por diferenças na temperatura do ar, na precipitação e na duração da fotofase, verificadas entre as estações chuvosas e secas.

Predição

Tendo em vista o papel importante da prolactina e do cortisol na fisiologia reprodutiva em sagüi, os perfis de secreção desses hormônios apresentarão

elevações próximas às estações chuvosas, quando ocorrem os maiores índices de natalidade em cativeiro.

Hipótese 3

O padrão de liberação anual dos hormônios prolactina e cortisol será diferente para machos e fêmeas adultos.

Predição

Fêmeas apresentarão níveis mais elevados de prolactina e cortisol do que os machos, em associação à biologia reprodutiva e à organização social da família Callithichidae.

4. MATERIAL E MÉTODO

4. 1. Animais

Foram utilizados 3 machos e 2 fêmeas adultos de *Callithrix jacchus*, pertencentes ao Núcleo de Primatologia do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brasil (5°47'42'' S e 35°12'34'' W). Nenhum dos animais possuía experiência em cuidar de filhotes.

Cada animal foi mantido isolado e habitava uma gaiola-viveiro medindo 2 m x 1 m x 2 m, contendo uma prancha horizontal de madeira, galhos de árvores e uma caixa-ninho (Figura 2). Durante a etapa de coleta de dados, os animais estiveram submetidos a condições naturais de temperatura, umidade e luminosidade, uma vez que as partes posterior e superior das gaiolas eram compostas por uma tela de arame. A alimentação diária era oferecida em duas refeições, sendo a primeira servida entre 8:00 e 9:00 h da manhã e constituída de uma papa protéica (banana, farinha láctea, leite em pó, extrato de soja, germen e fibra de trigo, pão, ovo, açúcar, suplementos de vitaminas A, B e D, cálcio, aminoácidos e achocolatado em pó). Na segunda refeição, servida entre 13:00 e 14:00 h, os animais receberam uma salada de frutas tropicais, composta de mamão, banana, manga, e outras frutas da época. Além disso, foi oferecido um reforço alimentar diário, composto por um ou mais dos seguintes itens a cada dia: granola, leite com Sustagen, passas, sementes de girassol, ovos cozidos e frango cozido desfiado e servido por volta de 10:30 h, que tinha como objetivo melhorar a condição nutricional dos animais experimentais, visto que o procedimento experimental de coleta de sangue poderia influenciar seu bem-estar. A água foi oferecida *ad libitum*.

4. 2. Procedimento Experimental

4. 2. 1. Coleta de Sangue

As coletas de sangue (Figura 3) foram realizadas entre abril de 2005 e agosto de 2007, ocorrendo cada uma na última semana de cada mês. Para minimizar a influência da ritmicidade circadiana nos níveis dos hormônios avaliados, as coletas de sangue foram realizadas após as 10:00 h. Durante a coleta, o animal foi imobilizado em um contensor (Hearn, 1983) e o volume de sangue de 0.5 mL foi coletado por punção da veia femural. Após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos a 10 °C, sendo o plasma pipetado e estocado a -20 °C. Visto que o procedimento de coleta de amostra de sangue pode se constituir em um fator estressor (Ziegler *et al.*, 1996b), algumas medidas foram tomadas para minimizar o efeito do procedimento sobre a resposta fisiológica dos animais. Primeiro, os animais foram habituados à condição experimental antes do início da coleta de dados pela manipulação do animal em 6 sessões, quando foram capturados pelo tratador e colocados no contensor, mas sem a coleta de amostra de sangue. Segundo, o tempo transcorrido entre a captura e a realização da coleta foi, no máximo, 3 minutos. Além disso, foi feita uma comparação dos níveis de cortisol dos animais utilizados nesse estudo (Grupo Experimental) com outros que habitavam a mesma colônia, mas que não estavam sendo submetidos a manipulações (Grupo Controle). Ambos os grupos foram compostos por 3 fêmeas e 3 machos. As coletas de fezes foram realizadas entre 23 de janeiro e 08 de março de 2007, às terças e quintas-feiras entre 6:30 e 7:00 h, totalizando 45 dias, 3 quinzenas.

A análise dos níveis plasmáticos de prolactina foi realizada através do Método de Radioimunoensaio (RIA) no Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. A dosagem do cortisol foi realizada no Laboratório de Medidas Hormonais do Departamento de Fisiologia da UFRN pelo Método Imunoenzimático (ELISA).



Figura 2. Vistas externa (A) e interna (B) do gaiolão no qual os animais estiveram alojados no Núcleo de Primatologia da UFRN, mostrando os portões das gaiolas individuais e (C) vista interna de uma gaiola individual.



Figura 3. A. Contensor para imobilização dos animais durante o processo de coleta de amostras de sangue; B. Animal imobilizado e o pesquisador puncionado a veia femural para obtenção da amostras de sangue.

4. 2. 2. Dosagem Hormonal

4. 2. 2. 1. Ensaio da Prolactina Plasmática - Método do Radioensaio (RIA)

a) Iodinação

Na execução do procedimento, devem ser pesados 20 µg de hormônio frio (antígeno), que será diluído em 200 µL de tampão Fosfato a 0.05 M e pH 7.4. Devem então ser preparadas alíquotas de 2.5 µg/25 µL e a uma delas adicionados 50 µL de tampão Fosfato 0.5 M e 0.5 mCi (*milicurie*) de I¹²⁵. Em seguida, devem ser adicionados 10 µL de Cloramina T, dando início à reação de iodinação. Decorridos 45 segundos, devem ser adicionados 25 µL de Metabissulfito de Sódio, interrompendo, assim, a reação. A partir disso, deve se seguir a adição de 100 µL da solução de transferência composta por Iodeto de Potássio, Sacarose e tampão 0.05 M.

b) Purificação do hormônio

O volume do tubo de iodinação deve ser transferido para uma coluna de gel Sephadex 75 para que ocorra a separação do iodo livre do hormônio marcado (I¹²⁵, utilizado para a detecção da prolactina no ensaio).

c) Preparação dos padrões (AFP-5532A): Diluição Seriada

O padrão deve ser armazenado em 200 ng/mL. A preparação dos padrões de prolactina deve ser realizada por diluição seriada de P1 a P9, cuja maior concentração foi 200 ng/mL (P10). Ao P10 deve ser adicionado 0.5 mL, sendo misturado por agitação. Dessa solução, 0.5 mL deve ser transferido para o tubo

contendo P9 e daí sucessivamente até o P1 (esses tubos devem já conter 0.5 mL de tampão albuminado bovino a 1%).

d) Anticorpo

Uma solução de 1 mL de anticorpo de coelho (AFP-291891) com diluição de 1:10 em 2% de soro de coelho normal em tampão Fosfato salino deve ser preparada. Devem, então, ser feitas, dessa solução, alíquotas de 100 μ L, as quais serão armazenadas para uso posterior. Para a realização deste ensaio esse volume deve ser diluído mais 200 vezes.

e) Ensaio

A dosagem de prolactina foi realizada pelo método Radioimunoensaio (RIA) de duplo anticorpo. A curva padrão a ser construída deve utilizar a prolactina das amostras diluída em tampão Fosfato-Albumina a 1% nas concentrações já descritas. O volume de 100 mL da amostra desconhecida (o padrão também deve ser submetido a esse processo) deve ser incubado com 100 μ L de anticorpo e 100 μ L de hormônio marcado e, após mistura por agitação, a solução deve ser incubada por 24h à temperatura ambiente. No dia seguinte devem ser adicionados 100 μ L de anticorpo inespecífico (produzido em cabras pelo professor Dr. Celso Rodrigues Franci, do Departamento de Fisiologia, da USP de Ribeirão Preto) para que ocorra a precipitação da reação de Imunoensaio. O material deve passar por agitação e ser incubado por 2h. A partir disso, deve ser centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante deve então ser retirado e o precipitado levado a um cintilador Cobra-Packard.

O ensaio de prolactina foi validado para o plasma de sagüi pela determinação do paralelismo, com diluição serial de um *pool* de plasma (n = 8) paralelas à curva-padrão, sem diferença na inclinação ($p > 0.05$).

4. 2. 2. 2. Ensaio do Cortisol Plasmático - Método Imunoenzimático (ELISA)

A metodologia empregada seguiu o protocolo experimental desenvolvido por Munro & Stabenfeldt (1984) para dosagens de esteróides no sangue. As curvas-padrão do hormônio foram preparadas a partir de cristais de hormônios obtidos da Sigma Chemical Co. Para a preparação das curvas foram utilizadas diferentes concentrações dos padrões, os quais incluíram aquelas provavelmente existentes nas amostras. As concentrações para obtenção da curva foram: 3,6 – 10,0 – 31,6 – 100,0 – 316,2 – 1000,0 pg/poço.

Para a determinação do cortisol ELISA, as placas para microtitulação de fundo plano (Nunc) para realização do ELISA foram previamente sensibilizadas com o anticorpo específico, segundo a metodologia descrita por Munro & Stabenfeldt (1984).

Após a retirada das amostras do refrigerador e agitação no vórtex por 5 minutos, transferiu-se 100µL do hormônio para um tubo de ensaio e procedeu-se a análise conforme os seguintes passos:

a) Os tubos de ensaio com as alíquotas de cada amostra foram transferidos para um banho-maria com fluxo de ar a 40 °C, para secagem total do volume inicial;

b) A seguir foram adicionados aos resíduos 300µL da enzima conjugada ao hormônio sintético diluída em tampão fosfato na concentração de cortisol – 1:16.000;

c) Os tubos foram agitados e seus conteúdos transportados para tubos de plásticos menores (1,6mL de capacidade);

d) Utilizando-se uma pipeta multi-canal (T-12; Eppendorf) foram pipetados 100µL desse material para as placas (Nunc) que continham o anticorpo específico para cada hormônio. Foram preenchidas todas as cavidades das placas com exceção das denominadas A1 a D1, C2 e C11 e de C3 a C10 para os quais foram pipetadas, respectivamente, apenas a solução tampão (NSB), o tampão

contendo a enzima conjugada (B0) e as soluções padrão segundo as diluições já referidas;

e) A seguir as placas foram cobertas com filme adesivo e incubadas durante 2 horas em câmara de umidade;

f) Após este tempo, as placas foram retiradas da câmara e lavadas com uma solução de NaCl a 1,5M e Tween 20 a 0,5%;

g) Após este procedimento, foi adicionado a cada cavidade da placa 100µL do substrato, constituído de uma solução preparada a partir de 25mL de tampão citrato a 10% (ácido cítrico anidro C₆H₈O₇ – SIGMA), 250 µL de ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenthiazone-6-sulfonic acid / SIGMA) e 80 µL de peróxido de hidrogênio a 15% (H₂O₂);

h) As placas foram incubadas por mais 30 - 40 minutos em câmara úmida e em seguida foram adicionados 100 µL de uma solução ácida para interromper a reação. Esta solução foi preparada a partir de 5,048 mL de ácido fluorídrico e 1,2 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 5N qsp , sendo esta solução completada com água destilada até compor o volume de 500 mL;

i) A leitura da densidade foi feita utilizando-se uma leitora de placas de ELISA da Asys Hitech, modelo Experto Plus, com filtro de 405nm.

4. 2. 2. 3. Ensaio do Cortisol Fecal - Método Imunoenzimático (ELISA)

a) Hidrólise

Os esteróides foram separados a partir de 0,1 g de fezes, pela adição de 2,5 mL de etanol e 2,5 mL de água, em tubos plásticos de 15 mL. Esse procedimento tem com objetivo separar os hormônios esteróides que estão na forma livre e que são solúveis em água pela presença de conjugação simples (Ziegler *et al.*, 1996a). Em seguida, este material foi agitado por 5 min e, posteriormente, centrifugado

por 10 min a 3000 rpm. Depois, foi o material foi decantado em tubos de vidro de aproximadamente 7 mL, no qual ficam estocados a 20 °C.

b) Solvólise

O procedimento de solvólise tem como finalidade separar dos esteróides que estavam sob dupla ou tripla conjugação (sulfatos e glucoróidios). Neste etapa se utilizou o volume de 500 µl de amostra hidrolisada, cujo volume foi pipetado em tubos de vidros de extração (pitex/15 mL), aos quais foram adicionados seqüencialmente 100 µl de solução de NaCl (saturada), 50 µl de H₂SO₄ e 4 mL de acetato de etila (solvente). Em seguida, os tubos foram incubados durante a noite em banho-maria a 40 °C. Na manhã seguinte, foram adicionados mais 4 mL de acetato de etila às amostras, que foram ao vórtex por 5 min e à centrifugação por 3 min a 1000 rpm. Após este procedimento, a fase contendo o esteróide (fase superior) foi pipetada e transferida para tubos de extração. O acetato de etila foi neutralizado pela lavagem com água (2,5 mL), após o que as amostras foram novamente levadas ao vórtex por 5 min e centrifugadas por 3 min. Após esse passo, novamente a fase superior foi transferida para tubos de vidro 12 x 75 mm, e levados para secar com fluxo de ar incubados à 40 °C. Após secagem, o volume das amostras foi ressuspensa com 500 µl de etanol e estocadas em geladeira.

O método de dosagem usado foi originalmente desenvolvido por Munro e Stabenfeldt (1984) para determinação de esteróides plasmáticos e adaptado por Ziegler *et al.* (1996a) – para dosagem de esteróides fecais. As curvas-padrão do hormônio foram preparadas a partir de cristais de hormônios obtidos da Sigma Chemical Co, pela utilização de diferentes concentrações dos padrões, os quais incluíram aquelas provavelmente existentes nas amostras. As concentrações para obtenção da curva foram: 3,6 – 10,0 – 31,6 – 100,0 – 316,2 – 1000,0 pg/poço.

Para a determinação do cortisol, as placas para microtitulação de fundo plano (Nunc) para realização do ELISA foram previamente sensibilizadas com o anticorpo específico, segundo a metodologia descrita por Munro e Stabenfeldt

(1991). Após ser retirada do freezer, cada amostra foi agitada por 10 segundos no vórtex, tendo, em seguida, transferidos 100 μ L de seu volume para um tubo de ensaio. A partir daí, foi feita a quantificação como descrita no estudo de Souza e Ziegler (1998).

4. 3. Análise Estatística

Tendo em vista que os valores obtidos para os níveis hormonais plasmáticos de prolactina e cortisol ao longos dos meses não apresentaram distribuição normal, foi realizada a transformação para logaritmo (\log_{10}) para sua normalização.

A análise estatística dos níveis plasmáticos de prolactina e cortisol foi realizada para três condições: (1) Geral - avaliação dos perfis hormonais de todos os animais utilizados no estudo, fêmeas (2) e machos (3). Com o objetivo de comparar os níveis hormonais dos animais experimentais ao longo do ano, sendo este dividido em quatro estações como proposto por de Souza *et al.* (1999): *Chuvosa 1* (março, abril e maio), *Chuvosa 2* (junho, julho e agosto), *Seca 1* (setembro, outubro e novembro) e *Seca 2* (dezembro, janeiro e fevereiro). A avaliação das concentrações plasmáticas dos hormônios entre as quatro estações foi realizada através da ANOVA para Medidas Repetidas, tendo sido utilizados para tal os dados referentes aos dois anos de observação. Além disso, foi realizada uma comparação das curvas hormonais entre os sexos através do teste *t* de *Student* para grupos independentes.

Tendo em vista que as coletas de amostras de sangue foram realizadas sob diferentes condições ambientais, no que diz respeito à temperatura do ar, precipitação e duração da fotofase, essas variáveis foram correlacionadas com os valores das medidas hormonais através do teste de correlação de Spearman. Foi também avaliada a ocorrência de variação anual nesses parâmetros através do

teste de Friedman. Os valores dessas variáveis foram obtidos junto a Estação de Observação Climática da UFRN.

Finalmente, com o objetivo de avaliar uma possível influência do procedimento experimental (coleta de sangue) nos níveis circulantes dos hormônios investigados, foram coletadas amostras de fezes dos animais experimentais e animais que habitavam a colônia de criação para uma avaliação dos níveis de cortisol fecal. As coletas de fezes foram realizadas por quarenta e cinco dias (entre 23/01 e 08/03/2007). A comparação dos valores de cortisol foi realizada pelo teste-*t* de *Student* para grupos independentes.

5. RESULTADOS

5. 1. Variáveis Ambientais

A curva da temperatura ao longo das quatro estações do ano mostrou valores mais elevados para as estações Seca 1, Seca 2 e Chuvosa 1, sendo os mais baixos verificados na estação Chuvosa 2, conforme ilustra a Figura 4. Foi verificada diferença significativa entre as estações ($F = 63,527, p \leq 0,05$). Os valores de temperatura foram diferentes entre a estação Seca 1 e as estações Seca 2 ($Z = 4,782, p \leq 0,05$), Chuvosa 1 ($Z = 4,349, p \leq 0,05$) e Chuvosa 2 ($Z = 3,650, p \leq 0,05$). Também houve diferença significativa entre Seca 2 e Chuvosa 2 ($Z = 4,782, p \leq 0,05$) e entre Chuvosa 1 e Chuvosa 2 ($Z = 4,622, p \leq 0,05$).

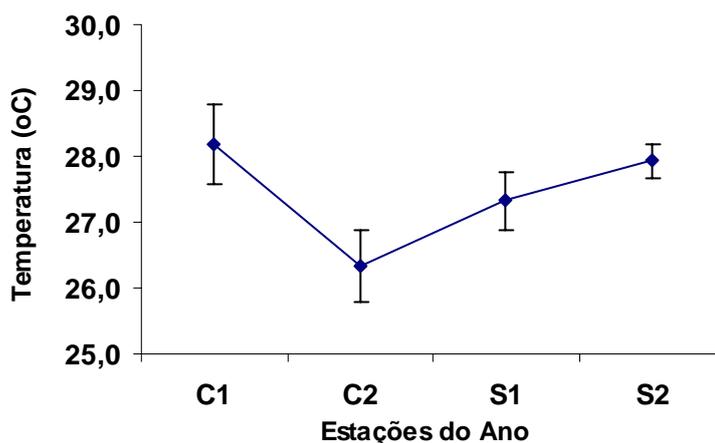


Figura 4. Valores médios de temperatura (\pm DP) por estação ao longo do ano (estações: C1: Chuvosa 1; C2: Chuvosa 2; S1: Seca 1; S2: Seca 2).

Quanto à precipitação, a Figura 5 ilustra valores mais elevados dessa variável durante as estações úmidas, Chuvosa 1 e Chuvosa 2, comparado às demais estações do ano. A comparação entre as estações mostrou diferença significativa ao longo do ano ($F = 73,000, p \leq 0,05$), particularmente entre as estações Seca 1 e Chuvosa 1 ($Z = 4,782, p \leq 0,05$) e Seca 1 e Chuvosa 2 ($Z = 4,782, p \leq 0,05$), e também entre a Seca 2 com as duas estações com maiores

níveis de umidade (Chuvosa 1: $Z = 4,782$, $p \leq 0,05$; Chuvosa 2: $Z = 4,782$, $p \leq 0,05$).

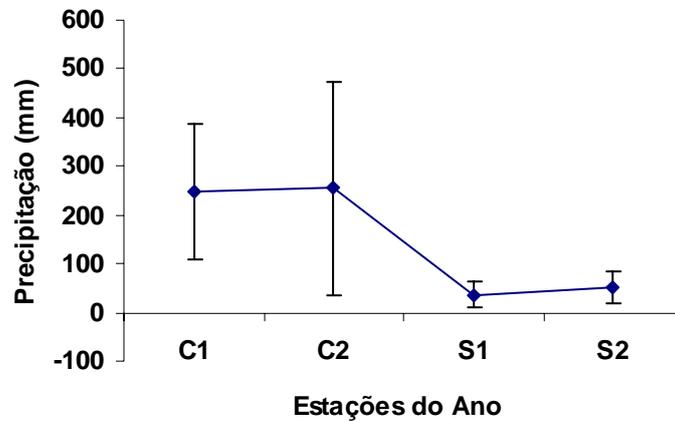


Figura 5. Valores médios de precipitação (\pm DP) por estação registrados ao longo do ano.

A fotofase, por sua vez, foi medida pelo número de horas em que a luz do sol incidiu sobre a superfície terrestre. A Figura 6 mostra que a duração da fotofase foi mais elevada para as estações não-chuvosas, sobretudo a estação Seca 2. A análise estatística mostrou diferenças significativas entre as estações ($F = 58,000$, $p \leq 0,05$). Estas diferenças foram encontradas entre a estação Seca 1 e Seca 2 ($Z = 3,650$, $p \leq 0,05$), Chuvosa 1 ($Z = 3,650$, $p \leq 0,05$) e Chuvosa 2 ($Z=4,782$, $p \leq 0,05$); entre Seca 2 e Chuvosa 1 ($Z=4,782$, $p \leq 0,05$), Chuvosa 2 ($Z=4,782$, $p \leq 0,05$); também entre Chuvosa 1 e Chuvosa 2 ($Z=3,650$; $p \leq 0,05$).

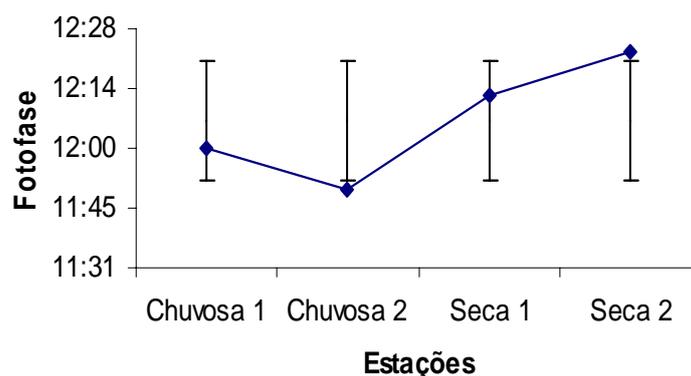


Figura 6. Duração média da fotofase (\pm DP) por estação ao longo do ano.

5. 2. Prolactina Plasmática

A comparação dos níveis circulantes de prolactina entre as quatro estações do ano para todos os animais utilizados não mostrou diferença significativa ($F = 1,700$, $p \geq 0,05$). A análise de cada sexo isoladamente também não mostrou diferença entre as estações nessa variável para as fêmeas ($F = 0,615$, $p \geq 0,05$) e os machos ($F = 1,175$, $p \geq 0,05$).

Como pode ser observado na Figura 7A, embora a variação não tenha sido estatisticamente significativa, os níveis plasmáticos desse hormônio apresentaram-se mais elevados durante as estações chuvosas. Essa elevação se mostrou mais evidente na estação Chuvosa 1. Esse padrão de elevação pode ser verificado na Tabela 1 pelos níveis mensais de prolactina dos animais nas três condições investigadas.

Quanto à comparação das concentrações circulantes de prolactina entre os sexos, não foi verificada diferença significativa, contudo os machos apresentaram níveis mais elevados que as fêmeas em todas as estações climáticas (Chuvosa 1: $t = 0,984$, $p \geq 0,05$; Chuvosa 2: $t = 0,925$, $p \geq 0,05$; Seca 1: $t = 0,871$, $p \geq 0,05$; Seca 2: $t = 0,529$, $p \geq 0,05$) (Figura 7B).

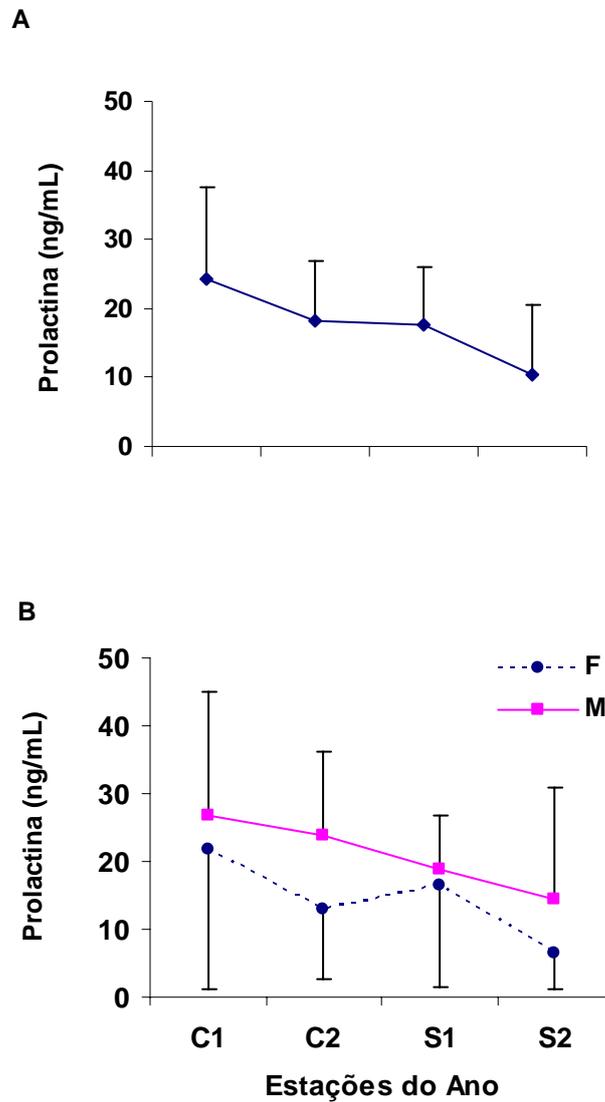


Figura 7. Níveis plasmáticos médios de prolactina (\pm EP) para todos os animais usados no estudo (A) e comparação dos perfis hormonais de machos (M) e fêmeas (F) adultos de sagüi ao longo das 4 estações climáticas.

Tendo em vista que as amostras de sangue foram obtidas em diferentes momentos do ano, a esperada influência das mudanças ambientais de precipitação, duração da fotofase e temperatura sobre as variações plasmáticas de prolactina não foi evidenciada pelo teste de correlação (Anexo 1).

Tabela 1. Níveis médios plasmáticos mensais de prolactina e cortisol dos animais utilizados no estudo ao longo dos meses do ano.

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	Média	Desvio-padrão
GERAL	Seca 2		Chuvosa 1			Chuvosa 2			Seca 1			Seca 2		
Prolactina	6,95	21,97	19,18	29,77	20,42	14,7	26,87	16,45	20,01	16,9	5,7	4,97	16,99	7,92
Cortisol	924,21	759,78	1117,97	704,68	1014,21	1058,45	1197,56	870,02	997,67	860,35	640,63	1041,4	932,24	170,4
FÊMEAS	Seca 2		Chuvosa 1			Chuvosa 2			Seca 1			Seca 2		
Prolactina	11,13	3,24	14,78	22,94	27,26	15,54	11,57	11,31	28,73	18,48	2,38	4,97	14,36	8,78
Cortisol	1095,7	902,73	1368,72	646,51	1272,52	1259,72	1084,17	999,31	838,86	689,55	596,92	1552,98	1025,64	303,17
MACHOS	Seca 2		Chuvosa 1			Chuvosa 2			Seca 1			Seca 2		
Prolactina	4,17	34,46	22,11	34,33	15,86	14,14	37,07	19,88	14,19	15,84	7,91	4,98	18,74	11,35
Cortisol	809,89	664,48	950,81	743,45	842	924,27	1273,16	783,83	1103,54	974,21	669,76	700,34	869,98	184,97

5.3. Cortisol Plasmático

A análise dos níveis de cortisol de todos os animais utilizados não revelou diferença significativa para esse hormônio quando comparados seus níveis ao longo do ano ($F = 1,486, p \geq 0,05$). Isso se repetiu quando se procedeu a comparação para as fêmeas ($F = 2,380, p \geq 0,05$) e para os machos ($F = 0,917, p \geq 0,05$). Contudo, como mostrado na Figura 8A, os animais apresentaram elevações nos níveis de cortisol plasmático durante as estações úmidas, sobretudo na Chuvosa 2 comparado as demais estações. As variações mensais nos níveis de cortisol são mostradas na Tabela 1.

A comparação entre os sexos, com exceção aos resultados para a estação Seca 2 ($t = -2,352, p \leq 0,05$), não revelou diferenças significativas nesse hormônio ao longo do ano (Chuvosa1: $t = -1,295, p \geq 0,05$; Chuvosa 2: $t = -0,966, p \geq 0,05$; Seca 1: $t = 0,597, p \geq 0,05$), como ilustrado na Figura 8B. As fêmeas apresentaram níveis mais elevados que os machos na maioria das estações do ano.

Quando analisadas em conjunto as variações do cortisol e as alterações nas variáveis ambientais consideradas ao longo do ano, a análise estatística, conforme ilustra a tabela constante no Anexo 1, não revela correlações significativas entre os níveis do hormônio e nenhuma das variáveis avaliadas.

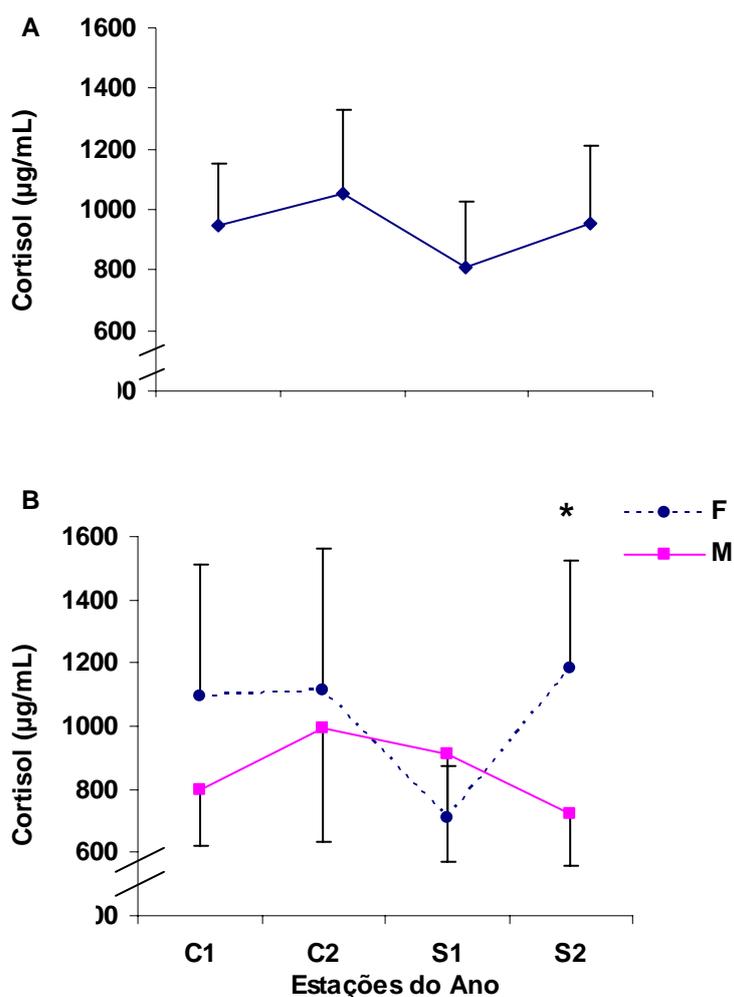


Figura 8. Níveis plasmáticos médios de cortisol (\pm DP) para todos os animais usados no estudo (A) e a comparação dos perfis hormonais (B) de machos (M) e fêmeas (F) adultos de sagüi nas estações climáticas.

5. 4. Cortisol Fecal

A avaliação da influência da condição experimental sobre os níveis fecais de cortisol dos grupos Experimental e Controle (Figura 9A) não mostrou diferença significativa para os valores do hormônio ($t = 0,755$, $p \geq 0,05$). Esse resultado se repetiu quando da comparação entre os grupos realizadas para cada sexo isoladamente (fêmeas: $t = 0,565$, $p \geq 0,05$; machos: $t = 0,538$, $p \geq 0,05$), conforme ilustra a Figura 9B e 9C. Todavia, o grupo Controle apresentou níveis

mais elevados do hormônio quando considerados todos os animais utilizados ou apenas as fêmeas.

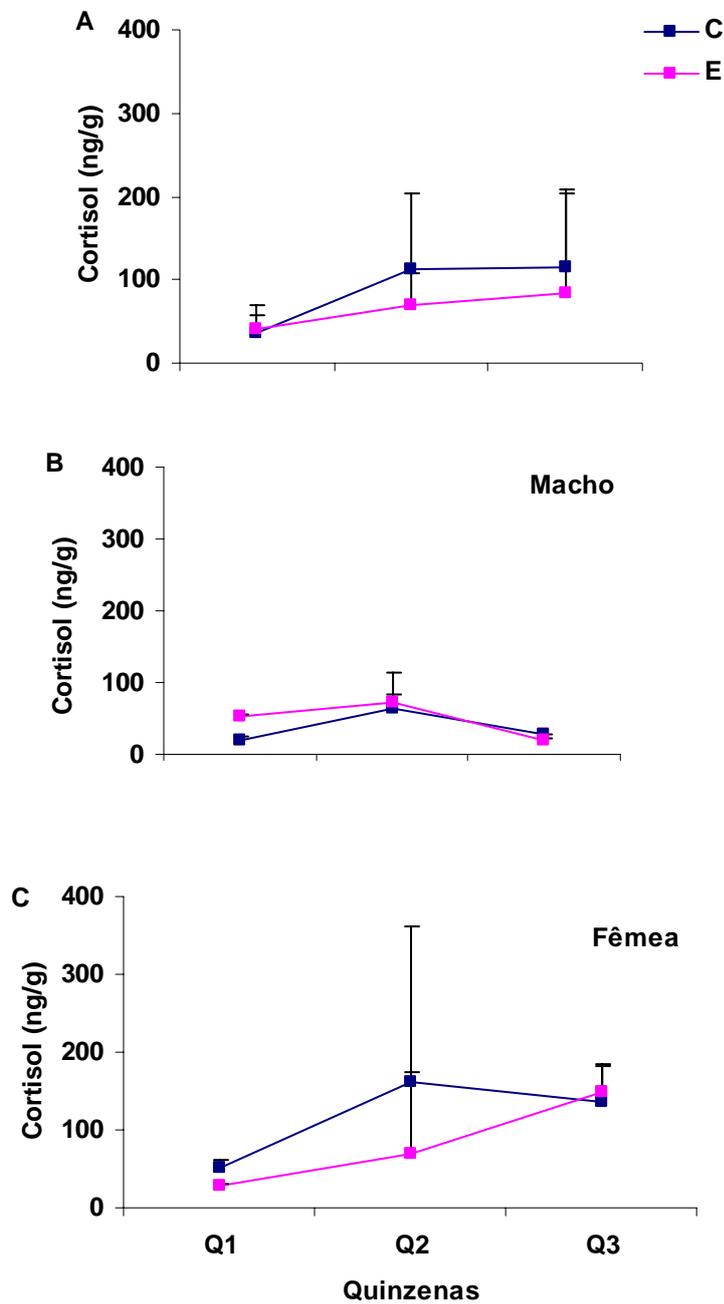


Figura 9. Comparação dos níveis médios fecais (\pm DP) de cortisol entre os grupos controle e experimental (A), entre os machos (B) e fêmeas (C) de ambos os grupos.

6. DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente estudo ilustram que, em machos e fêmeas adultos de *Callithrix jacchus*, apesar de pequenas oscilações nos níveis plasmáticos de prolactina e cortisol serem verificadas, esses hormônios não apresentam um padrão sazonal de liberação, a despeito das variações observadas no seu ambiente externo no que diz respeito à temperatura do ar, a precipitação e a duração da fotofase. Tendo em vista a importância biológica dos hormônios investigados para *Callithrix jacchus*, serão discutidas a seguir possíveis justificativas para os resultados obtidos.

Em adição à sazonalidade reprodutiva de *Callithrix jacchus* identificada por Souza *et al.* (1999) no Núcleo de Primatologia da UFRN, a ocorrência deste tipo de padrão em cativeiro para calitriquídeos foi verificada por Ziegler e Stein em *C. jacchus* (1981) e por McGrew e Webster em *Saguinus oedipus* (1995), reforçando a idéia de uma modulação do ambiente sobre a biologia desses animais. É importante salientar que o ajuste da fisiologia reprodutiva às variações de parâmetros ambientais determinantes da disponibilidade de alimento, como a incidência de chuvas, permite aos animais que vivem na natureza maiores chances de fornecer suprimento nutricional adequado para suas proles após o nascimento (Nelson, 2000). Nesse sentido, animais de cativeiro, apesar de submetidos as condições ambientais constantes por gerações, continuam a apresentar uma relação temporal entre o número de descendentes produzidos e ciclos de fatores ambientais. A manutenção da relação parece ser importante para a sobrevivência e a produção de descendência, reforçando o valor adaptativo dessa associação ao longo do processo evolutivo.

No que diz respeito à prolactina, foi verificada uma elevação em seus níveis para todos os animais utilizados na transição entre as estações Seca 2 (fevereiro) e Chuvosa 1 (março e maio), coincidindo com os meses de maior natalidade segundo Souza *et al.* (1999). Esse perfil de secreção hormonal foi também verificado quando avaliadas as respostas individuais de machos e

fêmeas. Em seguida, os níveis hormonais tendem a cair, particularmente nas fêmeas. Nesse sentido, é importante salientar que a fisiologia reprodutiva de mamíferos, particularmente do sagüi, mostra que elevações nos níveis circulantes de prolactina se relacionam à iniciação e à manutenção de alguns eventos fisiológicos e comportamentais, como a lactação para as fêmeas (Bole-Feysot *et al.*, 1998) e o comportamento de cuidado aos filhotes recém-nascidos (Ziegler, 2000; Mota et al, 2006). O cuidado parental na família Callitrichidae é caracterizado por um alto custo energético, especialmente para as mães, uma vez que os filhotes ao nascimento pesam em torno de 24% do peso de um animal adulto (Leutenegger, 1974). Assim, a participação de outros indivíduos aparentados ou não, que não os pais, no cuidado aos filhotes verificada nessa família de primatas neotropicais (Yamamoto, 1993; Solomon e French, 1997), reduz de forma significativa os custos reprodutivos para a mãe.

Vários estudos têm mostrado uma relação entre o comportamento de cuidado à prole durante o seu estágio de dependência dos filhotes e variações nos níveis hormonais dos cuidadores reprodutivos e não reprodutivos. Dessa forma, é biologicamente interessante para o animal o ajuste desses dois elementos com mudanças no ambiente externo. Estudos usando machos da família Callitrichidae, mostraram uma associação entre a participação no cuidado e mudanças nos níveis de prolactina. Nesse sentido, Dixon e George (1982) verificaram uma elevação nos níveis plasmáticos desse hormônio em machos de *C. jacchus* vivendo com fêmeas com prole de 10 a 30 dias de vida comparados a outros machos pareados com fêmeas grávidas e não grávidas. Esses aumentos foram verificados durante os episódios de carregar os filhotes. Ademais, Mota e Sousa (2000), utilizando a mesma espécie, mostraram uma elevação nos níveis plasmático de prolactina durante o carregar dos filhotes, o qual foi relacionado ao contato físico entre o carregador e o filhote. Nesse sentido, Roberts et al (2001a) avaliaram o papel desse hormônio na responsividade parental em sagüi usando um bloqueador da prolactina (bromocriptina) e verificaram uma redução significativa no comportamento de recuperação de filhotes por machos e fêmeas,

verificada pelo aumento no intervalo de tempo entre a exposição ao filhote e a iniciativa do cuidador em colocá-lo no seu dorso. Em outro trabalho, Roberts *et al.* (2001b) avaliaram as concentrações plasmáticas desse hormônio em indivíduos de ambos os sexos inexperientes no cuidado. Foi verificada uma correlação positiva entre o tempo de carregar e os níveis de prolactina. Em machos de *Saguinus oedipus*, Ziegler *et al.* (1996b) observaram uma correlação desse hormônio e a experiência prévia no cuidado, com os machos apresentando aumentos nos níveis hormonais antes do parto. Os autores sugerem que esse aumento poderia estar relacionado a pistas advindas das fêmeas reprodutoras.

Assim, já que os nascimentos na colônia de criação estudada se concentram entre os meses de novembro e março, os níveis elevados de prolactina para machos e fêmeas até o final da estação Chuvosa 1 podem ter um papel na modulação dos possíveis cuidadores quanto à sua responsividade parental, crítica durante os primeiros meses de vida dos filhotes.

A respeito do cortisol, suas concentrações plasmáticas em ambos os sexos se mostraram elevadas após o período de maior incidência de nascimentos. Na avaliação individual para cada sexo, foi evidenciada uma elevação, sobretudo nos machos, da estação Chuvosa 2 à Seca 1. Esse resultado coincide com aquele obtido por Cunha *et al.* (2006) na colônia onde foi desenvolvido o presente estudo. Estes autores sugerem uma relação entre a elevação do cortisol nessa época do ano e os valores de temperatura do ar e a estação de maior incidência de nascimentos, reforçando o argumento de que o animal apresenta um estado de prontidão fisiológica em resposta a possíveis oportunidades reprodutivas.

O cortisol faz parte dos glicocorticóides, hormônios que permitem a adaptação dos indivíduos a situações estressantes ao aumentar a disponibilidade de nutrientes na corrente sanguínea para serem usados na atividade celular em diferentes tecidos (Akil *et al.*, 1999) e, também o estado de alerta e prontidão necessários ao indivíduo durante a exibição de respostas comportamentais como o cuidado aos filhotes. Nessa situação, o cuidador é submetido a pistas advindas dos filhotes, como a vocalização e odores característicos, que podem influenciar

a expressão da resposta de cuidado. Nunes *et al.* (2001), estudando machos de *Callithrix kuhlii*, observaram uma queda nos níveis urinários de cortisol em pais que carregavam muito seus filhotes e também uma correlação negativa desse hormônio com o comportamento de carregar. Nesse caso, a resposta ao estresse não é modulada pelo carregar, sugerindo que a participação no carregar diminui essa resposta fisiológica. Em *Saguinus oedipus*, foi observada uma elevação no cortisol pelos pais antes do parto e para as fêmeas no meio do período de gravidez (Ziegler *et al.*, 1996; 2004). O aumento pelos machos parece ser relacionado ao *status* reprodutivo da fêmea, possivelmente preparando o parceiro sexual para participar no cuidado aos filhotes recém-nascidos. Além disso, Ziegler *et al.* (2004) não verificaram mudança nos níveis de cortisol em machos carregando filhotes em resposta a pistas olfativas de fêmeas estranhas, sugerindo uma relação entre esse hormônio e sistema de acasalamento da espécie, monogâmico. Posteriormente, Mota *et al.* (2006), avaliando pais sagüi antes e após o nascimento de filhotes, verificaram uma elevação nos níveis plasmáticos de cortisol antes do parto, a qual foi associada à estratégia reprodutiva dos machos reprodutores de estreitamento do laço afetivo com a parceira sexual em momentos críticos de sua vida reprodutiva.

Com relação à influência do sexo sobre os níveis hormonais, os resultados deste estudo para ambos os hormônios não identificaram diferenças significativas entre machos e fêmeas. Para a prolactina, foram verificados níveis um pouco mais elevados para os machos, em discordância com o que ocorre com a maioria das espécies de mamíferos (Frohman *et al.*, 1999). Já para o cortisol, as fêmeas apresentaram os maiores níveis do hormônio, o que coincide com o padrão para níveis plasmáticos descrito para a espécie por Silva Júnior *et al.* (2000) e nas fezes por Raminelli, 2001.

O padrão de secreção de cortisol aumentado entre as fêmeas de calitriquídeos parece ser associado ao seu sistema de acasalamento, monogâmico, com apenas uma fêmea adulta reproduzindo no grupo social. Nessa condição, as fêmeas disputam pelo posto de dominante ou de reprodutora no grupo social

(Abbott, 1984, 1987; Saltzman *et al.*, 1994, 1998), com as subordinadas podendo apresentar supressão do eixo Hipotálamo-Hipófise-Gonadal (Abbott, 1984; Saltzman *et al.*, 1994), sugerindo que a manutenção do posto reprodutivo aumenta a demanda fisiológica nesses animais. Entre os machos, também há competição pelo posto de reprodutor, contudo, ela difere daquela das fêmeas (Abbott, 1986). Machos subordinados não aparentados mostram uma redução nos níveis de testosterona e LH, mas sem conseqüências crônicas na sua capacidade reprodutiva (Abbott, 1984). A competição, nesse caso, também é vista pela diminuição na interação sexual pelo subordinado. Castro e Souza (2000) verificou que machos não-reprodutores de sagüi vivendo com o grupo familiar tem testosterona mais elevada que seus pais. Isso apóia a idéia de prontidão reprodutiva pelos machos, já que na natureza encontros entre grupos sociais são freqüentes (Lazaro-Perea *et al.*, 2000), tornando possível a ocorrência de cópulas com fêmeas adultas e a geração de proles.

7. CONCLUSÃO

Em *Callithrix jacchus*, indivíduos adultos de ambos os sexos apresentaram pequenas variações nos níveis plasmáticos de prolactina e cortisol ao longo do ano possivelmente associadas a aspectos da reprodução da espécie, como o estabelecimento de laços entre o par reprodutor e o comportamento de cuidado aos filhotes. Uma vez que o presente estudo fez uso de uma amostra pequena de sujeitos experimentais, em poucos ciclos anuais, os resultados aqui expostos não devem ser tomados como conclusivos, requerendo estudos adicionais a fim de melhor caracterizar os aspectos analisados.

8. REFERÊNCIAS

ABBOTT, D. H. Behavioral and physiological suppression of fertility in subordinate marmoset monkeys. **American Journal of Primatology**, v. 6, n. 3, p.169-186, 1984.

ABBOTT, D. H. Social suppression of reproduction in subordinate marmosets monkeys (*Callithrix jacchus jacchus*). **In:** Mello, M. T. (ed) **A Primatologia no Brasil**, v. 1. Minas Gerais: Imprensa Universitária, p. 15-31. 1986,

ABBOTT, D. H. Behaviourally mediated suppression of reproduction in female primates. *Journal of Zoology London.*, 213, 455-470, 1987.

ABBOTT, D. H.; HEARN, J. P. Physical, hormonal and behavioural aspects of sexual development in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 53, p. 155-166, 1978.

ABBOTT, D. H.; SALTZMAN, W.; SCHULTZ-DARKEN, N. J.; TANNENBAUM, P. L. Adaptations to subordinate status in female marmoset monkeys. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 119, 261-274, 1998.

ABBOTT, D. H.; BARNETT, D. K.; COLMAN, R. J.; YAMAMOTO, M. E.; SCHULZ-DARKEN, N. J. Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. **Comparative Medicine**, v. 53, n. 4, p. 339-350, 2003.

AKIL, H.; CAMPEAU, S.; CULLINAN, W. E.; LECHAN, R. M.; TONI, R.; WATSON, S. J.; MOORE, R. Y. Neuroendocrine Systems I: Overview – Thyroid and Adrenal Axes. **In:** ZIGMOND, M. J.; BLOOM, F. E.; LANDIS, S. C.; ROBERTS, J. L.; SQUIRE, L. R. **Fundamental Neuroscience**. EUA: Academic Press, 1999. 1600p. p.1127-1150.

ANGELIER, F.; BARBRAUD, C.; LORMEE, H.; PRUD'HOMME, F.; CHASTEL, O. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 8, p. 141301420, 2006.

ANZENBERGER, G. Monogamous social system and paternity in primates: **In:** MARTIN, R. D.; DIXSON, A. F.; WICKLINGS, E. J. (Eds.)

Paternity in primates: Genetic tests and theories. Implications of human DNA fingerprinting. Karger, Switzerland, 1992, p. 203-224.

ARAÚJO, J. F.; MARQUES, N. Intermodulação de frequências dos ritmos biológicos. In: MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. (Orgs.). **Cronobiologia: Princípios e aplicações.** São Paulo: Edusp, 1997. 321p. p. 85-96.

ARENDT, J. Melatonin: characteristics, concerns, and prospects. **Journal of Biological Rhythms**, v. 20, n. 4, p. 291-303, 2005.

ASCHOFF, J. Die 24–Stunden-Periodik der Maus unter konstanten Umwelbedingungen. **Naturwissenschaften**, v. 38, p. 506-507, 1951. Apud: ROTENBERG, L; MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. Desenvolvimento da Cronobiologia In: MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. (Orgs.). **Cronobiologia: Princípios e aplicações.** São Paulo: Edusp, 1997. 321p. p. 23-44.

BAHR, N. I.; PRYCE, C. R.; DOBELI, M.; MARTIN, R.D. Evidence from urinary cortisol that maternal behavior is related to stress in gorillas. **Physiology and Behavior**, v.64, n. 4, p. 429-437, 1998.

BARDI M.; SHIMIZU K.; BARRETT G. M.; BORGOGNINI-TARLI S. M.; HUFFMAN M. A. Peripartum cortisol levels and mother-infant interactions in Japanese macaques. **American Journal of Physical Anthropology**. v. 120, n. 3, p. 298-304, 2003.

BECKER, J. B.; BREEDLOVE, S. M.; CREWS, D. **Behavioral Endocrinology.** Cambridge: The MIT Press, 2001. 574p. p.473-504.

BOLE-FEYSOT, C.; GOFFIN, V.; EDERY, M.; BINART, N.; KELLY, P. A. Prolactin and its receptor: Actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in prolactin receptor knockout mice. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. 3, p. 225-268, 1998.

BRIDGES, R. S. Endocrine regulation of parental behavior in rodents. In: KRASNEGOR, N. A.; BRIDGES, R. S. (Eds.) **Mammalian Parenting.** New York: Oxford University Press, pp. 93-132, 1990.

CASTRO, D. C.; SOUZA, M. B. C. Fecal androgen levels in common marmoset (*Callithrix jacchus*) males living in captive family groups. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 1, p. 65-72, 2000.

CASTRO, W. L. R.; MATT, K. S. The importance of social condition in the hormonal and behavioral responses to an acute social stressor in the male Siberian dwarf hamster (*Phodopus sungorus*). **Hormones and Behavior**, v. 32, n. 3, p. 209-216, 1997.

CONCANNON, P. W.; CASTRACANE, V. D.; RAWSON, R. E.; TENNANT, B. C. Circannual changes in free thyroxine, prolactin, testes, and relative food intake in woodchucks, *Marmota monax*. **American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 277, n. 5, p. 1401-1409, 1999.

CROSS, N.; ROGERS, L. J. Diurnal cycle in salivary cortisol levels in common marmosets. **Developmental Psychobiology**, v. 45, n. 3, p. 134-139, 2004.

CUNHA, M. S.; FERNANDES, L. C.; VIVACQUA, C.; SOUSA, M. B. C. Annual variation in plasma cortisol levels in common marmosets, *Callithrix jacchus*. **Biological Rhythm Research**, v. 0, n. 0, p. 1-9, 2006.

DEREVIERS, M. M.; TILLET, Y.; PELLETIER, J. Melatonin-binding sites in the brain of sheep exposed to light or pinealectomized. **Neuroscience Letters**, v. 121, n. 1-2, p. 17-20, 1991.

DIEZ-NOGUERA, A. A functional model of the circadian system based on the degree of intercommunication in a complex system. **American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 267, n. 4, p. 1118-1135, 1994.

DIXSON, A. F.; GEORGE L. Prolactin and parental behavior in a male New-World primate. **Nature**, v. 299, n. 5883, p. 551-553, 1982.

DUNCAN, M. J.; GOLDMAN, B. D. Hormonal regulation of the annual pelage color cycle in the Djungarian hamster, *Phodopus sungorus* - II. Role of prolactin. **Journal of Exp Zoology**, v. 230, p. 97–103, 1984.

EPPLE, G. The behavior of marmoset monkeys (Callitrichidae). In: ROSENBLUM, L. A. (Ed.) **Primate Behavior** vol. 4, New York: Academic Press, 1975, p. 195-239.

FLEMING, A. S.; STEINER, M.; CORTER, C. Cortisol, hedonics, and maternal responsiveness in human mothers. **Hormones and Behavior**, v. 32, n. 2, p. 85-98, 1997.

FREEMAN, M. E.; KANYICKA, B.; LERANT, A.; NAGY, G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 4, p. 1523-1631, 2000.

FROHMAN, L.; CAMERON, J.; WISE, P. Neuroendocrine Systems II: Growth, Reproduction, and Lactation. In: ZIGMOND, M. J.; BLOOM, F. E.; LANDIS, S. C.; ROBERTS, J. L.; SQUIRE, L. R. **Fundamental Neuroscience**. EUA: Academic Press, 1999. 1600p. p.1150-1187.

GEISER, F. Reduction of metabolism during hibernation and daily torpor in mammals and birds – Temperature effect or physiological inhibition. **Journal of Comparative Physiology B – Biochemical Systemic and Environmental Physiology**, v. 158, n. 1, p. 25-37, 1988.

GOLDMAN, B. D. The circadian timing system and reproduction in mammals. **Steroids**, v. 64, n. 9, p. 679-685, 1999.

GOLDMAN, B. D. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. **Journal of Biological Rhythms**, Thousand Oaks, CA, v. 16, n. 4, p. 283-301, ago. 2001.

GOLDMAN, B.; GWINNER, E.; KARSCH, F. J.; SAUNDERS, D.; ZUCKER, I.; BALL, G. F. Circannual rhythms and photoperiodism. In: DUNLAP, J.C.; LOROS, J.J.; DE COURSEY, P.J.. **Chronobiology: Biological Timekeeping**. Massachusetts: Sinauer Associates, 2003, 382p., p. 106-142.

GOLDSMITH, A. R. Plasma-concentrations of prolactin during incubation and parental feeding throughout repeated breeding cycles in canaries (*Serinus canaries*). **Journal of Endocrinology**, v. 94, n. 1, p. 51-59, 1982.

GUBERNICK, R. J.; NELSON, R. J. Prolactin and parental behavior in the biparental California Mouse, *Peromyscus californicus*. **Hormones and Behavior**, v. 23, p. 203-210, 1989.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10 Ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2002. 1008p.

HATTAR, S.; LIAO, H. W.; BERSON, D. M.; YAU, K. W. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. **Science**, v. 295, n. 5557, p. 1065-1070, 2002.

HEARN, J.P. The common marmoset (*Callithrix jacchus*). **In: Reproduction in New-World primates**. Lancaster: MTP Press, 1983. p. 183-216.

ILLNEROVA, H. The Suprachiasmatic Nucleus and Rhythmic Pineal Melatonin Production. In: KLEIN, R. M. D. C.; REPPERT, S. M. (Eds.). **The Suprachiasmatic Nucleus: The Mind's Clock**. Oxford University Press: New York, 1991, p.197-216.

JOHNSON, E. O.; KAMILARIS, T. C.; CARTER, C. S.; CALOGERO, A. E.; GOLD, P. W.; CHROUSOS, G. P. The biobehavioral consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). **Biological Psychiatry**, v. 40, n. 5, p. 317-337, 1996.

KIEM, D. T.; KANYICKA, B.; STARK, E.; FEKETE, M. I. K.; Diurnal variation in prolactin, adrenocorticotropin and corticosterone release induced by opiate agonists in intact and adrenalectomized rats. **Neuroendocrinology**, v. 46, p. 475-480, 1987.

KORTNER, G.; GEISER, F. The temporal organization of daily torpor and hibernation: Circadian and circannual rhythms. **Chronobiology International**, v. 17, n. 2, p. 103-128, 2000.

KWAK, S. P.; MORANO, M. I.; YOUNG, E. A.; WATSON S. J.; AKIL, H. Diurnal CRH messenger-RNA rhythm in the hypothalamus – Decreased expression in the evening is not dependent on the endogenous glucocorticoids. **Neuroendocrinology**, v. 57, n. 1, p. 96-105, 1993.

LAZARO-PEREA, C.; CASTRO, C. S. S.; HARRISON, R.; ARAUJO, A.; ARRUDA, M. F.; SNOWDON, C. T. Behavioral and demographic changes following the loss of the breeding female in cooperatively breeding marmosets. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 48, n. 2, p. 137-146, 2000.

LEAK, R. K.; MOORE, R. Y. Topographic organization of supraquiasmatic nucleus projection neurons. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 433, p. 312-334, 2001.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios**. São Paulo: Editora Atheneu, 2001, 698p., p. 482-518.

LEUTENGER, W. Maternal-fetal weight relationships in primates. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 41, n. 3, p. 490, 1974.

LEVINE, S.; LYONS, D. M.; SCHATZBERG, A. F. Psychobiological consequences of social relationships. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 807, p. 210-218, 1997.

LOCKEHAYDON, J.; CHALMERS, N. R. The Development of Infant Caregiver Relationships in Captive Common Marmosets (*Callithrix jacchus*) **International Journal of Primatology**, v. 4, n. 1, 1983.

LUKAS, B. K.; ORMANDY, C. J.; BINART, N.; BRIDGES, R. S.; KELLY, P. A. Null mutation of the prolactin receptor gene produces a defect in maternal behavior. **Endocrinology**, v. 139, p. 4102-4107, 1998.

MARQUES, M. D.; GOLOMBEK, D.; MORENO, C. Adaptação temporal. In: MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. (eds). **Cronobiologia: Princípios e Aplicações**. São Paulo: Edusp, 1997. 321p. p. 45-95.

MATTHEIJ, J. A. M.; SWARTS, J. J. M. Circadian variations in plasma concentration of prolactin in adult male rat. **Journal of Endocrinology**, v. 79, n. 1, p. 85-89, 1978.

McGREW, W.C.; WEBSTER, J. 1995. Birth seasonality in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) despite constant food supply and body weight. **Primates**, v. 36, 241-248.

MCNEILLY, A. S.; ABBOTT, D. H.; LUNN, S. F.; CHAMBERS, P. C.; HEARN, J. P. Plasma prolactin concentrations during the ovarian cycle and lactation and their relationship to return of fertility post partum in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, n. 2, p. 353-360, 1981.

MENNA-BARRETO, L. O tempo na biologia. In: MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. (Orgs.). **Cronobiologia: princípios e aplicações**. São Paulo: Edusp, 1997. 321p. p. 18-21.

MOGA, M. M., MOORE, R. Y. Organization of neural inputs to the suprachiasmatic nucleus in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 389, n. 3, p. 508-534, 1997.

MOORE-EDE, M. C.; SULMAN, F. M.; FULLER, C. A. **The clock that time us: Physiology of the circadian timing system**. Harvard University Press, 1982. pp.

MOORE, R. Y.; Circadian rhythms: Basic neurobiology and clinical applications. **Annual Review Of Medicine**, v. 48, p. 253-266, 1997.

MOTA, M. T., SOUSA, M. B. C.; Prolactin levels of fathers and helpers related to alloparental care in common marmosets, *Callithrix jacchus*. **Folia Primatologica**, v. 71, n. 1-2, p. 22-26, 2000.

MOTA, M. T. D.; FRANCI, C. R.; DE SOUZA, M. B. C. Hormonal changes related to paternal and alloparental care in common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Hormones and Behavior**, v. 49, n. 3, p. 293-302, 2006.

MUNRO, C.; STABENFELDT, F. Development of a microtitre plate enzyme immunoassay for the determination of progesterone. **Journal of Endocrinology**, v. 101, n. 1, p. 41-49, 1984.

MUNRO, C.; STABENFELDT, F.; CRAGUN, J. R.; *et al.* Relationship of serum estradiol and progesterone concentrations to the excretions profiles of their major urinary metabolites as measured by enzyme immunoassay and radioimmunoassay. **Clinical Chemistry**, v. 37, p. 838-844, 1991.

NELSON, R. J. **An introduction to behavioral Endocrinology**. 2. ed. USA: Sinauer Associates Inc. 2000. p.497-556.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; MCINTUSH, E. W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-29, 2000.

NUNES, S.; FITE, J. E.; PATERA, K.J.; FRENCH, J. A. Interactions among paternal behavior, steroid hormones, and parental experience in male marmosets (*Callithrix kuhli*). **Hormones and Behavior**, **39**, 70-82. 2001.

OWEN, M. A.; CZEKALA, N. M.; SWAISGOOD, R. R.; STEINMAN, K.; LINDBURG, D. G. Seasonal and diurnal dynamics of glucocorticoids and behavior in giant pandas. **Ursus**, v. 16. n. 2, p. 208-21, 2005.

PRYCE, C. R.; DOBELY, M.; MARTIN, R. D. Effects of sex steroids on maternal motivation in the common marmosets (*Callithrix jacchus*): Development and application of an operant system with maternal reinforcement. **Journal of Comparative Psychology**, v. 107, n. 1, p. 99–115, 1993.

RAMINELLI, J. L. F. Influências dos fatores sexo, idade, posto reprodutivo e hora do dia sobre os padrões basais de excreção fecal do cortisol em sagüi comum (*Callithrix jacchus*) vivendo em grupos familiares. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia, UFRN, 2001.

REBURN, C. J.; WYNNE-EDWARDS, K. E. Hormonal changes in males of a naturally biparental and a uniparental mammal. **Hormones and Behavior**, v. 35, p. 163–176, 1999.

ROBERTS, R. L.; JENKINS, K. T.; LAWLER, T.; et al. Bromocriptine administration lowers serum prolactin and disrupts parental responsiveness in common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Hormones and Behavior**, v. 39, n. 2, p. 106-112, 2001a.

ROBERTS, R. L.; JENKINS, K. T.; LAWLER, T.; et al. Prolactin levels are elevated after infant carrying in parentally inexperienced common marmosets. **Physiology and Behavior**, v. 72, n. 5, p. 713-720, 2001b.

RYLANDS, A. B.; SCHENEIDER, O.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIER, R. A.; GROVES, C. P.; RODRIGUÉZ-LUNA, E. An assessment of the diversity of New-World Primates. **Neotropical Primates**, v. 8, n. 2. P. 61-93, 2000.

SALTZMAN, W.; SCHULTZ-DARKEN, N. J.; SCHEFFLER, G.; WEGNER, F. H.; ABBOTT, D. H. Social and reproductive influences on plasma cortisol in female marmoset monkeys. **Physiology and Behavior**, v. 56, 801-810, 1994.

SALTZMAN, W.; SCHULTZ-DARKEN, N. J.; WEGNER, F. H.; WITWER, D. J.; ABBOTT, D. H. Suppression of cortisol levels in subordinate female marmosets: Reproductive and social contributions. **Hormones and Behavior**, v. 33, n. 1, p. 58-74, 1998.

SALTZMAN, W.; SHELLEY, L. P.; SCHULTZ-DARKEN, N. J.; ABBOTT, D. H. Reduced adrenocortical responsiveness to adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in socially subordinated female marmoset monkeys. **Psychoneuroendocrinology**, v. 25, n. 5, p. 463 – 477, 2000.

SAPOLSKY, R. M. Neuroendocrinology of the stress-response. **In:** BECKER, J. B.; BREEDLOVE, S. M.; CREWS, M. D. **Behavioral Endocrinology**. 4. ed. USA: Massachusetts Institute of Technology, 2001, 574 p., p. 287-324.

SASSIN, J. F.; FRANTZ, A. G.; KAPEN, S.; WEITZMAN, E. D. The nocturnal rise of human prolactin is dependent on sleep. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 37, p. 436–440, 1973.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal: Adaptação e meio ambiente**. 5. ed. São Paulo: Santos, 1996. 600p. p. 486-517.

SCHRADIN, C. PILLAY, N. Prolactin levels in paternal striped mouse (*Rhabdomys pumilio*) fathers. **Physiology and Behavior**, v. 81. n. 1, p. 43-50, 2004.

SILVA JÚNIOR, P.P.; PEDROSA, M. F. B.; LEITE, S. M.; SOUSA, I. C.; SOUSA, M. B. C. Hormônios e comportamentos relacionados à ocorrência de

infanticídio em sagüis, *Callithrix jacchus*, em caiveiro. 10º. Congresso de Iniciação Científica da UFRN, 2000.

SOLOMON, N. G.; FRENCH, J. A.; **Cooperative breeding in mammals**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

SOUZA, M. B. C.; ZIEGLER, T. E. Diurnal variation of the excretion patterns of fecal steroids in common marmoset (*Callithrix jacchus*) females. **American Journal of Primatology**, v. 46, p. 105-117, 1998.

SOUZA, M. B. C.; PEREGRINO, H. P. A.; CIRNE, M. F. C.; MOTA, M. T. S. Reproductive Patterns and Birth Seasonality in a South-American Breeding Colony of Common Marmosets, *Callithrix jacchus*. **Primates**, v. 40, n. 2, p. 327-336, 1999.

STOREY, A. E.; WALSH, C. J.; QUINTON, R. L.; WYNNE-EDWARDS, K. E. Hormonal correlates of paternal responsiveness in new and expectant fathers. **Evolution and Human Behavior**, v. 21, n. 2, p. 79-95, 2000.

TENNEKOON, K. H.; LENTON, E. A. Early evening prolactin rise in women with regular cycles. **Journal of Reproduction and Fertility**. V. 73, n. 2, p. 523-527, 1985.

VAN CAUTER, E. Physiology and pathology of circadian rhythms. **In: EDWARDS, C. R. W.; LINCOLN, D. W. (Eds.). Recent Advances in Endocrinology and Metabolism**. Edinburgh: Churchill Livingstone, p. 109-134, 1989.

VAN CAUTER, E.; SHAPIRO, E. T.; TILLIL, H.; POLONSKY, K. S. Circadian modulation of glucose and insulin responses to meals: Relationship to cortisol rhythm. **American Journal of Physiology**. v. 262, n. 4, p. E467-E475, 1992.

WATTS, A. G. The efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: anatomical insights into the control of circadian rhythms. **In: KLEIN, D. C.; MOORE, R. Y.; REPPERT, S. M. (Eds.). The Suprachiasmatic Nucleus: The Mind's Clock**. Oxford University Press: New York, 1991, p. 77-106.

WEAVER, D. R.; REPERT, S. M. Direct in utero perception of light by the mammalian fetus. **Developmental Brain Research**, v. 47, n. 1, p. 151-155, 1989.

WELCH, S. K.; OHARA, B. F.; KILDUFF, T. S.; HELLER, H. C. Sequence and tissue distribution of a candidate G-coupled receptor cloned from rat hypothalamus. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 209, n. 2, p. 606-613, 1995.

WILLIAMS, L. M. Melatonin-binding sites in the rat brain and pituitary mapped by invitro autoradiography. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 3, n. 1, p. 71-75, 1989.

WOLFE, L. G., DEINHARDT, F.; OGDEN, J. D.; ADAMS, M. R.; FISHER, L. E. Reproduction of Wild-Caught and Laboratory-Born Marmoset Species Used in Biomedical-Research (*Saguinus* sp, *Callithrix jacchus*). **Laboratory Animal Science**, v. 25, n. 6, p. 802-813, 1975.

YAMAMOTO, M. E. From dependence to sexual maturity: The behavioral ontogeny on Callitrichidae. In: RYLANDS, A. R. (Ed.) **Marmosets and Tamarins: Systematics, Behavior, and Ecology**. Oxford University Press, 1993. 396p. p.235-254.

ZIEGLER, T. E.; STEIN, F. J. Reproductive data from a colony of marmosets (*Callithrix jacchus*). **American Journal of Primatology**, 1, 336-, 1981.

ZIEGLER, T. E.; WIDOWSKY, T. M.; LARSON, M. L.; SNOWDOWN, C. T. Nursing does affect the duration of post-partum to ovulation in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 90, n. 2. P. 563-570, 1990.

ZIEGLER, T. E.; SCHEFFLER, G.; SNOWDON, C. T. The relationship of cortisol levels to social environment and reproductive functioning in female cotton-top tamarins, *Saguinus oedipus*. **Hormones and Behavior**, v. 29, p. 407-424, 1995.

ZIEGLER, T. E.; SCHEFFLER, G.; WITTWER, D. J.; SCHULTZ-DARKEN, N.; SNOWDON, C. T.; ABBOTT, D. H. Metabolism of Reproductive Steroids during the Ovarian Cycle in Two Species of Callitrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix Jacchus*, and Estimation of the Ovulatory Period from Fecal Steroids. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 91-99, 1996a.

ZIEGLER T. E.; WEGNER F. H.; SNOWDON, C. T. Hormonal responses to parental and nonparental conditions in male cotton-top tamarins, *Saguinus oedipus*, a New-World primate. **Hormones and Behavior**, v. 30, n. 3, p. 287-297, 1996b.

ZIEGLER, T. E. Hormones associated with non-maternal infant care: a review of mammalian and avian studies. **Folia Primatologica**, v. 71, n. 1-2, p. 6-21, 2000.

ZIEGLER, T. E.; WEGNER, F. H.; CARLSON, A. A.; et al. Prolactin levels during the periparturitional period in the biparental cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*): interactions with gender, androgen levels, and parenting. **Hormones and Behavior**, v. 38, n. 2, p. 111-122, 2000.

ZIEGLER, T. E.; WASHABAUGH, K. F.; SNOWDON, C. T. Responsiveness of expectant male cotton-top tamarins, *Saguinus oedipus*, to mate's pregnancy. **Hormones and Behavior**, v. 45, n. 2, p. 84-92, 2004.

ANEXOS

Anexo 1. Tabela de Correlações da prolactina e do cortisol entre si e com as variáveis ambientais temperatura do ar, precipitação mensal e duração da fotofase diária. Para todos os testes, o valor de significância obtido foi $p \geq 0,05$.

Variáveis	R de Spearman
Geral	
Prolactina x Temperatura	-0,019
Prolactina x Precipitação	0,131
Prolactina x Fotofase	-0,174
Prolactina x Cortisol	-0,035
Cortisol x Temperatura	-0,083
Cortisol x Precipitação	0,059
Cortisol x Fotofase	-0,152
Fêmeas	
Prolactina x Temperatura	0,013
Prolactina x Precipitação	0,002
Prolactina x Fotofase	-0,063
Prolactina x Cortisol	0,255
Cortisol x Temperatura	-0,065
Cortisol x Precipitação	0,068
Cortisol x Fotofase	-0,166
Machos	
Prolactina x Temperatura	-0,033
Prolactina x Precipitação	0,229
Prolactina x Fotofase	-0,212
Prolactina x Cortisol	-0,190
Cortisol x Temperatura	-0,082
Cortisol x Precipitação	0,057
Cortisol x Fotofase	-0,182

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](#)