NICOLE LEITE GALVÃO COELHO

INFLUÊNCIA DE FATORES INDIVIDUAIS E SOCIAIS SOBRE AS RESPOSTAS ENDÓCRINA E COMPORTAMENTAL DE *Callithrix jacchus* A DESAFIOS AMBIENTAIS FÍSICOS E SOCIAIS

Tese apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Norte, para obtenção do título de Doutor em Psicobiologia.

Natal

2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

NICOLE LEITE GALVÃO COELHO

INFLUÊNCIA DE FATORES INDIVIDUAIS E SOCIAIS SOBRE AS RESPOSTAS ENDÓCRINA E COMPORTAMENTAL DE *Callithrix jacchus* A DESAFIOS AMBIENTAIS FÍSICOS E SOCIAIS

Tese apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Norte, para obtenção do título de Doutor em Psicobiologia.

Orientadora: Drª Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

Natal

Maio/2009

INFLUÊNCIA DE FATORES INDIVIDUAIS E SOCIAIS SOBRE AS RESPOSTAS ENDÓCRINA E COMPORTAMENTAL DE *Callithrix jacchus* A DESAFIOS AMBIENTAIS FÍSICOS E SOCIAIS.

NICOLE LEITE GALVÃO COELHO

Natal, 21 de Maio de 2009.

Banca Examinadora;

_____

Dr[a] Maria Bernardete Cordeiro de Sousa -UFRN

_____

Dr[a] Regina Helena da Silva -UFRN

_____

Dr[a] Maria Teresa da Silva Mota -UFRN

_____

Luiz Eugênio Mello - UNIFESP

_____

Maria Clotilde Henrique Tavares - UNB

"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende."

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os “parentes” e “não-parentes” que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta tese de doutorado fornecendo “suporte social”, seja este emocional, informacional ou financeiro, atenuando assim a “resposta ao estresse” durante situações de desafios.

Dentre os “parentes” gostaria de agradecer em especial: a minha filha, Heloiza, que desde muito cedo teve abrir mão da companhia da mãe, em função dos meus estudos, pelo seu amor e carinho, por ter feito minha vida muito mais especial. Ao meu marido, Helinho, por todo apoio, amor, carinho e respeito que me forneceu durante estes 10 anos e por acreditar no meu potencial...

Aos meus pais, Valeria e Eduardo, por estarem ao meu lado incondicionalmente em todos os momentos da minha vida e pela força que fornecem todos os dias...

A tia Graça por todo apoio intelectual, pelo amor e carinho que tem me dado desde que eu era um pequeno leãozinho...

A minha sogra, Vitória, por todo carinho, apoio e por ter se disponibilizado varias vezes de ficar com minha filha durante as minhas viagens para congressos.

Dentre os “não-parentes” gostaria de agradecer primeiramente a Drª Maria Bernardete Cordeiro de Sousa por ter me aceitado como sua aluna e ter me orientado desde a minha iniciação científica até o doutorado, por compreender e apoiar este meu ritmo de estudo, por me fornecer liberdade de criar, estimulando assim meu desenvolvimento profissional...

A todos os professores do Departamento de Fisiologia, que colaboraram com seus ensinamentos, conhecimentos e experiência. Em especial a Drª Hélderes Peregrino, Drª

Tereza Mota, Dr[a] Mirian Stela, Dr[a] Regina Helena, Prof [a] Maria da Paz e Dr. Arrilton Araújo pelas discussões de artigos científicos, pelas orientações, pelas dúvidas retiradas, pelas participações em bancas, pelas cartas de recomendações, pelos incentivos...

A todos os funcionários do Departamento de Fisiologia e do Núcleo de Primatologia, em especial a Luiz Carlos, que foi o responsável pelas dosagens hormonais, sendo assim imprescindível ao desenvolvimento deste estudo. A Flávio Coutinho pelas orientações, ajudas e incentivos durante o trabalho no Núcleo. A Antônio Barbosa (Tota) e Márcio que me ajudaram no manejo dos animais durante todo o período do estudo. À Edinólia Câmara por toda ajuda na organização dos animais...

A Raissa Ribeiro e Simone Loiola pelas longas horas de espera durante as coletas de dados e pela ajuda no laboratório de dosagem hormonal...

Aos amigos da pós-graduação por todos os conhecimentos compartilhados e loirices...

Ao CNPq pelo financiamento desta pesquisa.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	09
RESUMO GERAL	10
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO GERAL	14
OBJETIVOS GERAIS	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
HIPÓTESES E PREDIÇÕES	23
ARTIGO 1- Common marmosets (*Callithrix jacchus*) as a potential animal model for studying psychological disorders associated with high and low responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis.	26
Resumo	26
Abstract	28
1- Animal models for studies on psychosocial stress	28
2- The influence of stressor a attributes and individual, environmental and social factors on the stress response	29
3- *Callithrix jacchus* as a potential model for studies on psychosocial stress	31
5- Conclusions	37
6- References	38
ARTIGO 2- Influência do ambiente social sobre a resposta ao estresse em sagüi comum (*Callithrix jacchus*) : I. O suporte social	43
Resumo	44
1-Introdução	45
2-Métodos	49
3-Resultados	54
4-Discussão	66
6-Referências Bibliográficas	73

ARTIGO 3- Influência do ambiente social sobre a resposta ao estresse em sagüi comum (*Callithrix jacchus*) : II. O posto social 81
Resumo 82
1-Introdução 83
2-Métodos 86
3-Resultados 94
4-Discussão 107
6-Referências Bibliográficas 115

ARTIGO 4- Modulação dos andrógenos em machos de *Callithrix jacchus* por desafios sociais e ambientais: Uma análise da hipótese do desafio. 123
Resumo 124
1-Introdução 125
2-Métodos 128
3-Resultados 131
4-Discussão 133
6-Referências Bibliográficas 138

CONSIDERAÇÕES FINAIS 146

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS 153

APRESENTAÇÃO

A presente tese foi estruturada em um formato ainda pouco empregado programas de pós-graduação de forma geral, em virtude disso, julgou-se necess apresentar a estrutura do texto e esclarecer alguns pontos relativos à sua formatação.

Este manuscrito se refere a um único projeto de pesquisa desenvolvido pela autora deste trabalho que, por incluir investigações de enfoques distintos, embora sobre um único tema, foi organizado em estudos independentes no qual cada um caracteriza um artigo científico. Deste modo, estes estudos compartilham alguns procedimentos de coleta de dados e sujeitos experimentais, havendo apenas algumas alterações em tais configurações de acordo com o foco de cada estudo.

Anteriormente a apresentação dos artigos apresenta-se uma introdução geral da tese, a qual é seguida pelos objetivos geral e específicos, sendo cada objetivo específico o norteador da elaboração de um artigo. Ainda nesta seção apresentam-se as hipóteses e predições dos estudos.

Em seguida, são apresentados os quatro artigos científicos, sendo o primeiro já publicado na "Reviews in the Neurosciences, 19, 187-201 (2008)". Tais estudos foram organizados de forma independente, com suas respectivas seções de introdução, métodos, resultados, discussão e referências bibliográficas.

Por fim, é apresentada uma seção de considerações finais da tese, na qual foram integrados os resultados dos quatros estudos, apontando a ocorrência ou não das confirmações das predições anteriormente expostas. Esta seção é seguida das referencias bibliográficas gerais relativas à introdução geral e as considerações finais.

RESUMO GERAL

Diante do aumento crescente de patologias de natureza física e mental associadas aos diferentes agentes estressores, nos seres humanos, se procura validar modelos animais com maior proximidade filogenética do homem, para estudo da resposta ao estresse. *Callithrix jacchus* vem sendo amplamente utilizado em pesquisas biomédicas, inclusive sobre estresse, mas há escassez de dados na literatura sobre como fatores individuais e sociais modulam a resposta a estressores nesta espécie. Este trabalho compreende 4 abordagens de estudo da resposta de *C. jacchus*, machos e fêmeas, adultos, em contextos de estresse. A primeira apresenta evidências sobre a importância desta espécie como modelo experimental em pesquisas que envolvam o estudo do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. E ainda investiga se o sexo e os níveis basais de cortisol modulam a resposta comportamental e hormonal a separação. Em outras duas abordagens investiga se o tipo do suporte social (co-específico parente ou não-parente) e o posto social interferem na resposta comportamental e hormonal quando os animais são expostos a um ambiente novo, pareado com co-específico (F2); expostos a um ambiente novo, isolados (F3) e quando reunidos (F4). Finalmente, a quarta abordagem investigou nos machos os níveis de andrógenos, com foco na hipótese do desafio, referentes à responsividade ambiental e à exposição macho-macho, de animais parentes e não-parentes. Encontrou-se que: (1) o cortisol basal do animal é preditivo da reatividade do cortisol à separação; (2) machos e fêmeas não apresentam dimorfismo na resposta do cortisol aos estressores, embora as fêmeas apresentem maiores níveis basais deste hormônio e apresentam maiores freqüências de comportamentos indicadores de ansiedade; (3) apenas o suporte social provido por parentes mostrou-se eficaz em tamponar a resposta do cortisol. Em termos comportamentais esta resposta foi dimórfica, mostrando que apenas as díades de machos aparentados apresentaram uma resposta atenuada ao estresse; (4) os machos apresentaram diferenças nos níveis de cortisol em função do posto social e

das fases do estudo, enquanto nas fêmeas não foram observadas alterações nestas variáveis. Enquanto os machos com hierarquia de dominância indefinida (HDI) reduziram o cortisol nas fases F2 e F4, as fêmeas HDI elevaram em F3 e F4; (5) os machos de díades parentes e não-parentes não variaram os níveis de andrógenos em função do ambiente novo. Apenas os machos parentes elevaram os níveis de cortisol durante a fase de reunião, apresentado a responsividade macho-macho maior do que aquela dos não-parentes. Estes resultados, no seu conjunto, (a) corroboram a utilização de *C. jacchus* como um bom modelo animal para estudos relacionados ao estresse, por apresentarem alterações comportamentais e fisiológicas semelhantes àquelas dos seres humanos em resposta aos agentes estressores; (b) apontam a importância de se considerar fatores moduladores individuais e sociais durante experimentos com estressores, (c) fornecem parâmetros de comparação com aumento da confiabilidade dos estudos nos quais estes primatas são utilizados como modelo animal e (d) evidenciam que os andrógenos variam em função da proximidade genética (parente ou não-parente) frente a desafios do ambiente físico e social, fornecendo informações importantes para estudo da hipótese do desafio nesta espécie.

ABSTRACT

Regarding the growing number of human beings with physical and mental pathologies associated to different stressor agents, attempts are being made to validate animal models with a close phylogenetic resemblance to man, to study stress response. *Callithrix jacchus* has been widely used in biomedical research, including on stress, but there is scarce information in the literature about how individual and social factors modulate stressor response in this species. This study uses 4 approaches to investigate the response of male and female adult *C. jacchus*, under situations of stress, and in the first we show evidence of the importance of this animal as an experimental model in research involving the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. And we investigate if sex and baseline cortisol levels modulate the behavioral and hormonal response to separation. In two additional approaches investigate if type of social support (co-specific parent or non-parent) and social rank interfere in behavioral and hormonal when the animal are exposure to a new environment, paired with a co-specific (F2), exposure of the animal to a new environment, isolated (F3) or during reunion (F4). Finally, we also investigated the androgen levels in the males, with a focus on the challenge hypothesis, referring to environmental responsiveness and male-male exposure to relatives and non-relatives of *C. jacchus*. It was observed that: (1) the baseline cortisol of the animal is predictive of cortisol reactivity at separation; (2) males and females do not show dimorphism in the response of cortisol to stressors, although the females have higher baseline levels of this hormone and exhibit higher frequencies of anxiety-related behaviors; (3) only social support provided by relatives proved to be effective in buffering the cortisol response. In behavioral terms this response was dimorphic, showing that only the male dyads displayed an attenuated response to stress; (4) the males showed differences in cortisol levels as a function of

social rank and study phases, whereas in the females no such alterations were observed. The males with indefinite dominance hierarchy (IDH) had reduced cortisol in F2 and F4, while the IDH females showed an increase in F3 and F4; (5) the males of relative and non-relative dyads did not exhibit variations in androgen levels as a function of a new environment. These results, taken together, (a) corroborate the use of *C. jacchus* as a good animal model for stress-related studies, given that they exhibit similar behavioral and physiological alterations to those of human beings in response to stressor agents; (b) point to the importance of considering individual and social modulating factors during experiments with stressors; (c) provide more reliable comparison parameters in studies where these primates are used as animal models, and (d) show that androgens vary as a function of genetic proximity (relative or non-relative) when the animals are faced with physical and social environmental challenges, thus providing important information for studying the challenge hypothesis in this species.

INTRODUÇÃO GERAL

Os processos por meio do quais os seres vivos evoluíram levaram ao desenvolvimento de mecanismos para proteger os organismos durante situações de crise. Assim, diante de desafios impostos pelo ambiente social, físico, ou ambos, são ativados os sistemas regulatórios alostáticos que desencadeiam alterações fisiológicas e comportamentais que tentam restabelecer a homeostase do indivíduo (McEwen 2000; McEwen & Wingfield 2003). Em conjunto estas modificações são consideradas como resposta ao estresse (Sapolsky 2002).

Fisiologicamente, durante a resposta ao estresse, ocorre a ativação de mecanismos relacionados aos sistemas nervoso e endócrino. A divisão simpática do sistema nervoso autônomo é ativada imediatamente, quando um animal encontra-se numa potencial ou real situação de risco, aumentando a atividade da medula das glândulas adrenais, que liberam adrenalina e noradrenalina. Estes hormônios induzem a liberação de glicose pelo fígado, o aumento da pressão sanguínea e dos batimentos cardíacos, elevam a freqüência respiratória, aumentam o metabolismo nos músculos esqueléticos e no cérebro, induzem a constrição de vasos sangüíneos esplâncnicos e estimulam a produção de células do sistema imune inato (Nelson 2000).

O outro sistema ativado é o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) a partir da ativação das células parvocelulares do núcleo paraventricular hipotalâmico, com a liberação na região do infundíbulo do fator liberador de corticotrofina (CRF). Esse fator alcança o sistema sanguíneo porta-hipofisário chegando à adeno-hipófise e induzindo a liberação do hormônio adreno-corticotrófico (ACTH). Este último por sua vez, induz a liberação de glicocorticóides pelo córtex da adrenal, dos quais o cortisol é o principal representante nos primatas. O cortisol eleva o nível de glicemia, pois incrementa a

gliconeogênese hepática, e direciona esta energia para as funções essenciais à situação de desafio, como as sensoriais e para a memória. Por outro lado a digestão, o crescimento, a percepção da dor e aspectos fisiológicos e comportamentais da reprodução sofrem inibição por ação deste hormônio (Guyton 2008). O cortisol também estimula o sistema imunológico inato, é um potente antiinflamatório, mas inibe o sistema imunológico tardio (Sapolsky 2002). O eixo HPA é controlado por um mecanismo de retroalimentação negativa, de modo que o aumento de cortisol plasmático inibe a produção de CRF e ACTH (Zigmond *et al.* 1999).

Quando a ativação dos sistemas alostáticos (de resposta ao estresse) ocorre de forma aguda ela é adaptativa, pois as breves alterações hormonais e comportamentais possibilitam ao animal uma resposta imediata às adversidades do meio, aumentando suas chances de sobrevivência, e restabelecendo rapidamente a sua homeostase física e mental (McEwen 2000; McEwen 2002). Porém, quando esta ativação torna-se prolongada, apresentando-se de forma crônica, a persistência das alterações fisiológicas pode ter efeito negativo sobre o indivíduo e levar ao surgimento de patologias físicas e distúrbios mentais. Esse custo é conhecido como carga alostática (McEwen 2000; Sapolsky *et al.* 2000; Charmandari *et al.* 2005).

Devido à grande incidência de patologias físicas e mentais associadas ao estresse, na sociedade humana atual (Seeman 1997; Epperson *et al.* 1999; Kornstein *et al.* 2000; Rutter *et al.* 2003) e tendo em vista a dificuldade de se realizar estudos relacionados ao estresse com humanos, em função da dificuldade de controlar a incidência de agentes estressores que não fazem parte do estudo, há a necessidade de utilização de novos modelos experimentais, bem como a necessidade específica de conhecimento acerca das repercussões do estresse sobre diferentes espécies animais. Por isto, diversos estudos vêm

sendo realizados utilizando desde peixes até primatas (Peixes: Overli *et al.* 2004 e Schjolden *et al.* 2005; aves: Roberts *et al.* 2007; ratos: Sgoifo *et al.* 1999 e Kompagne *et al.* 2008; camundongos: Veenema *et al.* 2003 e Martinez *et al.* 2008; cobaias: Hennessy *et al.* 2008; ovelhas: Stackpole *et al.* 2006, porcos: Staay *et al.* 2008, primatas: Barros & Tomaz, 2002 e Dettling *et al.* 2007), pois além de possibilitar o controle ambiental, os modelos animais possibilitam o estudo post-mortem e a realização de alguns procedimentos mais invasivos.

Entretanto, a validação de resultados obtidos em estudos que utilizam modelos animais deve ser realizada com cautela quando se trata de temas associados ao estresse. Pois, apesar da ativação do sistema nervoso autônomo e da liberação de glicocorticóides, diante de um agente estressor, ser um fenômeno comum a todos os vertebrados, a resposta fisiológica e comportamental disparada por esses hormônios não é um acontecimento semelhante entre as espécies e até mesmo entre os indivíduos de uma mesma espécie (Orchinik 1998). O impacto causado por um estímulo estressor, ou seja, a amplitude e a duração da ativação dos sistemas alostáticos, é determinado pela habilidade que o organismo possui em lidar com a situação (McEwen 1998; Korte *et al.* 2005). Ainda, esta habilidade de vencer as adversidades do meio é influenciada por uma série de variáveis relacionadas ao agente estressor, ao individuo e ao ambiente físico e social (Sapolsky 1994; Levine 2000; Sapolsky 2004).

As principais características relacionadas aos agentes estressores, que modulam o disparo e funcionamento dos sistemas alostáticos incluem: (a) a natureza do agente estressor (Sapolsky 1994; Herman & Cullinan 1997; López *et al.* 1999), (b) o tempo de incidência deste agente sobre o indivíduo (Keeney *et al.* 2006), (c) a previsibilidade (Grillon *et al.* 2004) e (d) a controlabilidade (Peters *et al.* 1998) que o indivíduo possui

sobre o agente estressor. Fatores como espécie (Mendoza & Mason 1986; Pryce *et al.* 2002) e algumas características individuais como: sexo (Stroud *et al.* 2002; Rubinow *et al.* 2005), idade (Kudielka *et al.* 2004), temperamento (Tyrka *et al.* 2006; DeRijk *et al.* 2008) e status reprodutivo (Handa *et al.* 1994; Kajantie & Phillips 2006) também modulam a resposta ao estresse. Assim como, alguns fatores relacionados ao ambiente físico (Grissom *et al.* 2007) e social, como: o posto social (Creel 2001; Abbott *et al.* 2003; Sapolsky 2004) e o suporte social (Olsson & Westlund 2007), podem modular a resposta ao estresse em algumas espécies animais.

A utilização de modelos animais filogeneticamente mais próximos aos humanos, como os primatas não-humanos, facilita a extrapolação dos resultados para a nossa espécie em estudos relacionados ao estresse, pois estes animais geralmente apresentam validação etiológica, reativa, preditiva e funcional (Palanza 2001; Anisman & Matheson 2005; Pryce *et al.* 2005a; Capitanio & Emborg 2008). Muitas espécies de primatas não-humanos humanos formam fortes laços sociais e, assim como nos humanos, os agentes estressores de natureza psicossocial são freqüentes em suas vidas. Além disto, devido à proximidade filogenética, estes animais apresentam grandes semelhanças aos humanos nas respostas fisiológica e comportamental a agentes estressores. Além de exibirem similaridades anatômicas e funcionais de regiões do sistema nervoso envolvidas na resposta ao estresse e a patologias relacionadas (Palit *et al.* 1998; Honess & Marin 2006). Entretanto, são dos roedores que advém a maior parte das informações sobre a resposta ao estresse. Apesar da utilização desta espécie fornecer algumas vantagens para o desenvolvimento de pesquisas como: baixo custo, facilidade de manipulação, disponibilidade de grande número de indivíduos e ciclo de vida curto, se comparado com primatas, estes animais não possuem uma dinâmica social complexa que os caracterizem como um modelo animal ideal, quando comparados aos primatas não-humanos sociais, para estudos sobre estresse de natureza

psicossocial. Por este motivo, usualmente, são utilizados agentes estressores físicos, e não sociais, para desencadear a resposta ao estresse nesses animais, como por exemplo: exposição ao frio intenso, choques elétricos, nado ou corrida forçada (Palanza 2001; Tamashiro *et al*. 2005; Kalueff *et al.* 2007). Assim, a extrapolação destes resultados para os humanos, dependendo da abordagem, podem ser inconclusiva uma vez que nos homens os principais agentes estressores são de natureza psicossocial.

Alguns primatas do Novo Mundo possuem pequeno tamanho e por isso apresentam maior facilidade de manipulação e menores custos de manutenção que os primatas do Velho Mundo. E como também são filogeneticamente mais próximos dos humanos, que os roedores, tornam-se bons modelos para estudos biomédicos, principalmente aqueles relacionados ao estresse social. *Callithrix jacchus*, também conhecido popularmente como sagüi comum, é um pequeno primata arbóreo, pertencente à família Callitrichidae, que habita a Mata Atlântica brasileira (Stevenson & Poole 1978; Hearn 1983). No ambiente natural vivem em grupos formados por três a quinze componentes, normalmente aparentados. São monogâmicos, embora existam relatos de poliginia (Digby & Ferrari 1994; Arruda *et al.* 2005) e geralmente, apenas um macho e uma fêmea se reproduzem no grupo, sendo considerados dominantes, cuja caracterização se baseia em dados comportamentais e hormonais (Stevenson & Rylands 1998).

Este primata apresenta uma boa adaptação ao cativeiro e uma alta taxa de fecundidade se comparado com os primatas do Velho Mundo (Abbott & Hearn 1978; Dixson & Lunn 1987). Esta espécie vem sendo utilizada como modelo em diversas áreas biomédicas, como imunológica (Prasad *et al.* 2007), terapia celular (Sasaki *et al.* 2005) e genética (Datson *et al.* 2007; Kohu *et al.* 2008). Recentemente, foram divulgados estudos genéticos que muito podem contribuir para pesquisas relacionadas a distúrbios do sistema nervoso central e que utilizam o

C. jacchus como modelo animal (Marvanova *et al.* 2003; Datson *et al.* 2007). Pryce (2008) investigaram em espécies animais frequentemente utilizadas em estudos de estresse, inclusive em *C. jacchus*, a expressão dos genes de receptores mineralocorticóides e glicocorticóides em diversas regiões do cérebro de animais adultos e no hipocampo de animais jovens (Pryce, 2008).

Callithrix jacchus também é modelo para estudo de diversos distúrbios mentais, como mal de Parkinson (Rogers *et al.* 2000; Eslamboli 2005), doença de Alzheimer (Harder & Ridley 2000), esclerose múltipla (t'Hart *et al.* 2000; Pomeroy *et al.* 2008), depressão (Pryce *et al.* 2005b; Dettling *et al.* 2007), ansiedade (Johnson *et al.* 1996; Cilia & Piper 1997) e síndrome do estresse pós-traumático (Pryce *et al.* 2002; Pryce *et al.* 2004) e ainda modelo farmacológico para drogas relacionadas a distúrbios mentais (Cilia & Piper 1997; Rogers *et al.* 2000). Esta espécie já possui uma técnica não invasiva de mensuração de hormônios esteróides (cortisol, progesterona e andrógenos) a partir das fezes (Sousa & Ziegler, 1998; Zielgler *et al.* 1997). Nas fezes também é encontrado uma variação circadiana do cortisol, progesterona, para fêmeas desta espécie, sendo que está reflete um padrão inverso do que ocorre no sangue, havendo um retardo de aproximadamente 12 horas entre as alterações detectadas no sangue e aquelas registradas nas fezes (Sousa & Ziegler, 1998). Para os machos de *C. jacchus* não foi observado variação circadiana nos níveis de cortisol (Raminelli *et al.* 2001) e andrógenos fecais (Castro e Sousa, 2005), e estes apresentam os níveis de cortisol fecal no estado basal três vezes menores que as fêmeas (Raminelli *et al.* 2001). Também foi demonstrado que é possível também registrar aumentos na concentração fecal do cortisol associados com mudanças sociais (Sousa e Ziegler 1998). Apesar disto, poucos estudos foram direcionados à investigação de potenciais fatores que interfiram na resposta ao estresse social. Os estudos sobre estresse com esta espécie, geralmente analisam as conseqüências causadas pela separação de mães

e filhotes ou por estressores pré-natal (Dettling *et al.* 2002a, 2002b; Pryce *et al.* 2002; Pryce *et al.* 2004; Pryce *et al.* 2005a, 2005b; Tauber *et al.* 2006; Dettling *et al.* 2007; Hauser *et al.* 2007). Existem ainda alguns que investigam a emissão de vocalizações como fator tamponador da resposta ao estresse (Norcross & Newman 1999; Cross *et al.* 2004; Rukstalis & French 2005; Cross & Rogers 2006; Clara *et al.* 2008). Outros estudos procuram esclarecer se a supressão reprodutiva observada nos animais subordinados desta espécie se relaciona com fatores estressantes (Abbott & Hearn 1978; Abbott 1981; Abbott 1984; Abbott 1985; Abbott *et al.* 1988; Saltzman *et al.* 1994; Saltzman *et al.* 1996; Abbott *et al.* 1997; Saltzman *et al.* 1997; Abbott *et al.* 1998; Saltzman *et al.* 1998; Saltzman *et al.* 2000; Ziegler & Sousa 2002; Saltzman *et al.* 2004a, 2004b; Saltzman *et al.* 2006). Sendo assim, há escassez de evidências na literatura de estudos que investiguem simultaneamente como os fatores sociais e individuais interferem na resposta fisiológica e comportamental a desafios ambientais físicos e sociais em *C. jacchus*. De modo que faltam informações de como se apresenta a modulação de importantes fatores como o tipo do suporte social, a dominância social e o temperamento, sobre a resposta comportamental e hormonal (cortisol e andrógenos) de machos e fêmeas desta espécie animal. Um estudo com este direcionamento torna-se importante no momento atual uma vez que estes animais têm uma utilização ampla tanto em estudos sobre estresse quanto em estudos sobre distúrbios mentais.

Além disto, Wingfield *et al.* (1990) propõem na "hipótese do desafio" que os andrógenos variam em função de desafios do ambiente físico e social, e não apenas em função de pistas reprodutivas. Recentemente, Goymann *et al.* (2007) reformularam esta hipótese e demonstram que os andrógenos variam, nos machos, em função da sazonalidade ambiental, mudanças do ambiente físico, de interações macho-macho e macho-fêmea. Estes autores ainda incentivam a investigação destas respostas nas diferentes espécies

animais, para que se possa observar o perfil de cada espécie e contribuir para a discussão geral, inclusive comparado os resultados com aqueles observados para aves.

Portanto, neste estudo investigou-se se alguns fatores individuais (sexo e cortisol basal) e sociais (tipo do suporte social e o posto social) modulam, isoladamente ou simultaneamente, a resposta comportamental e endócrina de machos e fêmeas adultos de *Callithrix jacchus* frente à estressores de natureza física e social. Adicionalmente, procurou-se demonstrar se machos adultos de *C. jacchus*, aparentados e não aparentados, apresentam reatividade dos andrógenos diante de desafios ambientais físicos e sociais.

OBJETIVO GERAL

Analisar se alguns fatores individuais (sexo, cortisol basal) e sociais (tipo do suporte social, posto social) modulam, isolada ou simultaneamente, a resposta comportamental e hormonal de *C. jacchus* adultos, machos e fêmeas, frente a desafios ambientais físicos e sociais.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Investigar se os padrões de secreção basal de cortisol de machos e fêmeas vivendo em díades iso e heterossexuais de *C. jacchus* predizem a resposta comportamental e endócrina (cortisol) à separação social involuntária, para validação de modelo experimental para estudos sobre estresse e distúrbios mentais associadas (Artigo 1).
2. Investigar em machos e fêmeas de *C. jacchus* se o tipo do suporte social (parente ou não-parente) modula a resposta comportamental e do cortisol a três estressores psicossociais prolongados (ambiente novo pareado, ambiente novo isolado e reunião) (Artigo 2).
3. Analisar se machos e fêmeas de *C. jacchus* com diferentes postos sociais, inferidos a partir dos níveis basais de hormônios sexuais (andrógenos nos machos e progesterona nas fêmeas), respondem comportamental e hormonalmente (cortisol) a três estressores psicossociais prolongados (ambiente novo pareado, ambiente novo isolado e reunião) (Artigo 3).
4. Analisar se machos de *C. jacchus* apresentam alterações nos níveis de andrógenos em função de desafios impostos pelo ambiente físico e social, consoante com a hipótese do desafio (Artigo 4).

HIPÓTESES E PREDIÇÕES

Hipótese 1 (artigo 1)

C. jacchus apresenta estreita proximidade filogenética com o homem e, assim como este, um sistema social no qual há a formação de laços sociais, cuja ruptura ativa a resposta ao estresse. Entretanto, estudos com primatas humanos e não-humanos demonstram que a resposta ao estresse se expressa diferentemente de acordo com as estratégias sexuais de machos e fêmeas e mecanismos intrínsecos de secreção do cortisol basal.

Predição 1

Os animais da espécie *C. jacchus* apresentarão alterações comportamentais e hormonais, frente à separação social, semelhantemente aos humanos. Estas serão influenciadas pelo sexo e pelos níveis de cortisol basal, fornecendo informações que auxiliem na validação do seu uso como modelo experimental em fisiologia do estresse e patologias associadas.

Hipótese 2 (artigo 2)

Estudos com primatas humanos e não-humanos demonstram que o suporte social atenua a resposta comportamental e fisiológica aos agentes estressores. Entretanto, a eficácia deste tamponamento depende da qualidade da relação entre os indivíduos envolvidos.

Predição 2

O tipo do suporte social modulará a resposta comportamental e do cortisol aos agentes estressores, de modo que as díades aparentadas de ambos os sexos apresentarão respostas mais atenuadas que as díades não-parentes, correspondendo a uma menor elevação do cortisol e maiores índices de comportamentos sociais.

Hipótese 3 (artigo 3)

Os hormônios sexuais funcionam como indicadores do posto social em diversas espécies de primatas não-humanos e estudos apontam para a ocorrência de comportamentos indicativos de maior tensão e competitividade em agrupamentos sociais onde não há claras definições de postos sociais, assim como durante períodos de instabilidade social.

Predição 3

Animais de ambos os sexos vivendo em díades isossexuais onde não há uma relação de dominância bem definida, ou seja, aqui considerada como ausência de diferença nos hormônios sexuais basais, demonstrarão um perfil mais competitivo em termos do cortisol basal e variáveis comportamentais, do que os animais de díades onde há uma relação de dominância bem definida.

Hipótese 4 (artigo 4)

Estudos que testam a hipótese do desafio demonstram em diferentes espécies de vertebrados que os níveis de andrógenos se alteram em resposta a mudanças ambientais físicas e sociais. Entretanto, esta variação depende do tipo do sistema de acasalamento da espécie, do cuidado parental e níveis de agressividade macho-macho.

Predição 4

Os níveis de andrógenos nos machos de *C. jacchus* se elevarão com a mudança ambiental e no contexto da exposição entre machos, mais acentuadamente, entre machos não aparentados.

ARTIGO 1

SAGÜI (*Callithrix jacchus*) COMO UM POTENCIAL MODELO ANIMAL PARA ESTUDAR DISTÚRBIOS ASSOCIADOS COM ALTA E BAIXA RESPONSIVIDADES DO EIXO HIPOTÁLAMO-PTUITÁRIA-ADRENAL.

Nicole L. Galvão-Coelho, Hélderes Peregrino A. Silva, Adriano de Castro Leão & Maria Bernardete Cordeiro de Sousa.

Reviews in the Neurosciences, 19, 187-201 (2008).

RESUMO

Primatas não-humanos sociais são potenciais modelos animais para estudar alterações na dinâmica social, porque eles constroem fortes vínculos emocionais dentro do grupo, como os humanos. O sagüi, um pequeno primata neotropical é um possível modelo devido ao seu baixo custo de manutenção e alta taxa reprodutiva em cativeiro, associado à presença de relações afiliativas entre os membros do grupo social e entre o par reprodutor. O paradigma da separação involuntária é frequentemente utilizado para estudar a repercussão fisiológica da privação social. Nesta revisão, apontam-se as vantagens em utilizar primatas não-humanos sociais como modelos animais para estudar distúrbios psicológicos. E enfatizam-se os primatas do Novo Mundo, demonstrando alguns achados originais para o sagüi. Quarenta e oito indivíduos adultos (24 fêmeas) foram monitorados durante 25 dias em duas situações: fase basal e fase de separação. Foi observado variabilidade nos níveis basais de cortisol para os machos e para as fêmeas, e foram estabelecidos três tipos de perfis do cortisol para os sujeitos desta população: alto, médio e

baixo. Os níveis de cortisol basal foram preditivos da reatividade hormonal à separação social. Os animais com baixo e alto cortisol basal foram hiper e hiporreativos à separação, respectivamente. Correlações positivas significativas entre a reatividade hormonal e o comportamento de marcação de cheiro foram encontradas para machos e fêmeas com perfis do cortisol basal baixo. Estes resultados demonstram que os sagüis apresentam modificações comportamentais durante situações de desafios e diferentes perfis de cortisol na população. Portanto, esta espécie parece ser um potencial modelo animal para o estudo de distúrbios mentais associados com a alta e baixa responsividades do eixo Hipotálamo-Ptuitária-Adrenal.

Contribuições dos Co-autores:

1- Hélderes Peregrino A. Silva: Contribuiu na estatística e na discussão do estudo.
2- Adriano de Castro Leão: Contribuiu com dados comportamentais e hormonais das díades heterossexuais.
3- Maria Bernardete Cordeiro de Sousa: Orientou toda a elaboração do estudo, desde a coleta de dados até a discussão.

© Freund & Pettman, U.K.
Reviews in the Neurosciences, 19, 187-201 (2008)

Common Marmosets (*Callithrix jacchus*) as a Potential Animal Model for Studying Psychological Disorders Associated with High and Low Responsiveness of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis

Nicole L. Galvão-Coelho, Hélderes Peregrino A. Silva, Adriano de Castro Leão and Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

Department of Physiology, Graduate Program in Psychobiology, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brazil

SYNOPSIS

Social non-human primates are potential animal models for studying changes in social dynamics because they build strong emotional bonds inside the group, much as do humans. The common marmoset, a small neotropical primate, is a suitable model because of its low maintenance cost and high reproductive output in captivity associated with the presence of affiliative relationships among the members of the social group and pair bond formation. The paradigm of involuntary separation is frequently used to study the physiological repercussions of social deprivation. In this review we point out the advantages of using social non-human primates as animal models for studying psychological disorders. We focused on New World primates, adding some original findings for common marmosets. Forty-eight adult individuals (24 females) were monitored over 25 days in two situations: baseline phase and separation phase. Variability in basal cortisol levels was recorded for both males and females, and three types of cortisol profile were drawn for the subjects in this population: high, medium and low. Basal cortisol levels were a predictor of hormonal reactivity to social separation. The animals with low and high cortisol levels were hyper- and hyporeactive to separation, respectively. Significant positive correlations between hormonal reactivity and scent-marking behavior were found for low profile males and females. These findings show that common marmosets display behavioral changes during challenging situations and different cortisol profiles within a population. Thus, this species appears to be a suitable animal model for studying mental disorders associated with high and low responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

KEY WORDS

stress, cortisol, reactivity, animal models, primates, common marmosets

1. ANIMAL MODELS FOR STUDIES ON PSYCHOSOCIAL STRESS

Several animal models of depression, anxiety, and stress, among others, have been developed, which in turn have played an important role in clarifying many aspects of mental disorders and pharmacological therapies /9,17,57,73/. However, according to Anisman and Matheson /12/ and Pryce *et al.* /92/, for an animal model to be considered valid for humans, the animals must display the following similarities to the human condition: (a) show symptom similarities (face validity); (b) show attenuation and not be affected by effective and ineffective treatments, respectively (predictive validity); (c) be provoked by occurrences which are also important for triggering human disorders

Reprint address:
Maria Bernardete Cordeiro de Sousa
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Departamento de Fisiologia
Caixa Postal, 1511
59078-970 Natal, RN, Brazil
e-mail: mdesousa@cb.ufrn.br

(etiological validity); and finally (d) activate similar neurochemical processes (construct validity).

In this scenario, in which social disruptions are the main stressful agents that elicit mental disorders /122/, social non-human primates are a preferential animal model. Although rodent models have provided most of the data available, and will remain a reliable source of information in the future, the social dynamics of these animals within the group do not characterize a good model for human studies, i.e. they are not engaged in bond formation with conspecifics to the same degree as non-human primates. The type of stressor agents that have been used include exposure to cold, electric footshocks, cage running or forced swimming, which are not natural stimuli /84,122/. Therefore, the physiological and behavioral changes resulting from these conditions might be considerably different from those expressed when the animals are exposed to a social stressor, resulting in mistaken conclusions.

Non-human primates have occasionally been used to investigate mental disorders (see /20/). Since both physiological and behavioral responses to natural stressors are a result of evolutionary pressures, and considering the phylogenetic proximity between humans and other primates, functional as well as morphological similarities must be taken into account when validating a suitable model /56,85/.

2. THE INFLUENCE OF STRESSOR ATTRIBUTES AND INDIVIDUAL, ENVIRONMENTAL AND SOCIAL FACTORS ON THE STRESS RESPONSE

Apart from the adequacy of animal models, studies on stress responses must be concerned about other factors related to individual characteristics, the environment and the stressor agent itself, since all of these might modify the stress response and lead to unexpected or inaccurate conclusions. Although the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in response to a stressor agent is a common phenomenon among vertebrates, the physiological and behavioral adjustments elicited by the release of glucocorticoids will vary according to (1) type, time of exposure, predictability and controllability of the stressor agent, (2) species, sex, age, social rank, and genotype of the individual, and (3) characteristics of the physical and social environment /12,21,81, 104/.

2.1. Stressor agent

According to Anisman and Merali /11/, nature, time of exposure, predictability and controllability modulate the response to stress. Physical stressors usually generate a stereotypic response among individuals, whereas psychological stressors produce responses that vary largely in their characteristics and strength /104/. When submitted to a chronic stressor, animals will develop persistent physiological changes that have a negative effect and, depending on the susceptibility of the individual, generate physical pathologies, mental disorders or both /11,27,76,105/. In social animals (as in the majority of primates), stressor unpredictability, such as mate and rank disputes, and changes in the size or composition of social groups, is frequent /23/, creating an unstable social environment. On the other hand, if the animal is able to predict and control the situation, physiological changes will not persist and homeostasis will soon recur /1,67/. Thus, a stress situation is a natural component of social life with which animals learn to cope.

2.2. Individual characteristics

Physiological and behavioral changes initiated by a stressor are also influenced by individual characteristics, such as species, sex, age, social rank and genotype. Studies using New World primates, first developed in the 1980s, showed different responses between *Saimiri sciures* (squirrel monkeys) and *Callicebus moloch* (titi monkeys) /35,55,77/ when coping with novelty. Cubicciotti 3rd *et al.* /35/ showed differences between the reactivity of squirrel monkeys and titi monkeys to environmental changes and physical constraints. Although both species had increased cortisol levels, the squirrel monkeys displayed a greater response than titi monkeys.

Mendoza and Mason /77/ also found different response profiles to involuntary separation and intruder presence between these species. They

found that titi monkeys were more responsive to mate separation, and that the presence of an intruder provoked changes in behavior, mainly when the intruder was of the same sex as the resident. They also observed sexual dimorphism in the titi monkeys' response to these stressor agents. Male titi monkeys also had elevated cortisol in the presence of a same sex intruder but not in the presence of a female intruder. The plasma cortisol of female titi monkeys showed no association with the adrenocortical response to intruders of either sex. The presence of an intruder resulted in increased displays in male squirrel monkeys but not in the females. Both sexes showed a consistent reduction in plasma cortisol in response to a female intruder, whereas no effect on cortisol was found in the presence of a male intruder. Mendoza and Mason /77/ argue that this finding might reflect the different mating systems and social organization of *S. sciureus* and *C. moloch*, which are multi-male/ multi-female and monogamous, respectively. In monogamous species, partner separation triggers a more intense stress response than it does in polygynous species, and in both situations, remarkable gender differences were found /77,111,116/. It has also been found that adult squirrel monkeys show a gender specific reactivity profile when tested with the ansiogenic drug benactyzine hydrochloride /31/.

Further studies have also shown that the stress response is sexually dimorphic in other species of Old and New World monkeys. Scallet *et al.* /106/ observed that cortisol increases more in female than in male rhesus monkeys after exposure to a new social group. French and Inglett /46/ showed that golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*) females were more reactive to conspecific intruders, showing a higher rate of agonistic behaviors than that of males. Cotton-top tamarin (*Saguinus eodipus*) males and females also display a dimorphic reaction to intruders /45/. In common marmosets, Araújo and Yamamoto /13/ observed that females were more aggressive than males toward conspecific same sex strangers, and males were less aggressive toward unfamiliar females in the absence of their mate. Indeed, Sousa *et al.* /116/ reported that the percentage of cortisol increase was higher after social privation in males than in females when either was living in pairs. This is similar to that observed for juvenile twins when separated from family groups.

According to studies carried out with female rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), it was shown that both age and time of day influenced the HPA axis response to immobilization /49/. Using two different age ranges (subjects between 6-8 years and 20-27 years), the authors observed that older subjects were less reactive at 15.00 h, but at 09.00 h no age-specific differences were found.

Stress levels related to social rank dominance vary among primate species and this is mainly related to the social stability and social organization of the group /37/. In olive baboon monkeys (*Cynomologus talapoin*), subordinates are generally under high physical and psychological stress from aggression, food and mate restriction, social support and major exposure to pathogens and predators. Subordinates have higher cortisol levels than those of dominants, since the latter have greater control and predictability of agonistic encounters, which they initiate more often /7/. However, if social stability is disrupted, the dominants show rapid cortisol increases, since the possibility of losing their dominant status is a potent psychological stressor /104/.

In marmosets and tamarins, basal cortisol levels are higher in dominants /7/, and low social position subordinate females and males are reproductively inhibited, likely due to behavioral, hormonal and/or pheromonal mechanisms acting independently or together /1,16/. Since dominants are tolerant of subordinates and are only rarely seen attacking them during periods of social stability, the cortisol levels of subordinates are low. It is also speculated that this occurs because they share infant care with the breeding pair /2,5/.

Another variable that modulates the stress response in different animal species is temperament, which is evaluated by stress reactivity, i.e., behavioral and physiological adaptive traits that are consistent over time and that are characteristic in this group of individuals /12,41,50,80/. According to this definition, Koolhaas *et al.* /65/ described two major coping styles found in several species (humans /61,124/, monkeys /44/, pigs /64/, Wistar rats /42/, mice /110,127,128/, rainbow trout /82,89, 90,107,108/, octopuses /109/). The first is charac-

terized by reactive (bold) individuals who show high activity and aggression, low reactivity of the HPA axis and high sympathetic reactivity for coping with environmental changes. The second is the passive (shy) style, characterized by less aggression and high reactivity of the HPA axis and low sympathetic nervous system response. Subjects belonging to the latter condition are more flexible in terms of showing better adaptability to unstable environments, whereas the reactive group is more successful under stable environmental conditions /67/.

Maestripieri /69/, using female rhesus monkeys, studied reactivity during the mating and birth seasons. He found that female reactivity to the birth of infants was more stable and that females showed more signs of anxiety (high frequency of scratching). Furthermore, he found that the individual emotional response profiles were stable over the years, indicating that stress reactivity, much like temperament traits, is consistent but situation-dependent. In vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops sabaeus*) living in groups varying between 13 and 46 individuals, Fairbanks /44/ found that when facing same-sex conspecific intruders, males respond according to two profiles, one impulsive and the other inhibited, depending on age but not on the size of the social group.

2.3. Social environment characteristics

Social relationships may be a source of stress or perform a supportive role by decreasing the stress response /126/. According to the 'buffering model' theory, social support is important during a crisis situation when it may attenuate the negative effects of stress /30/. Studies using non-human primates were developed to validate this theory; it was found that the role of social support varied between species even when they were submitted to the same stressor agent. For instance, titi monkeys (*Callicebus moloch*), but not squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*), showed a decrease in stress reactivity in the presence of a sexual mate /54,55/. In black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*), Smith and French /111/ and Smith *et al.* /112/ found that both sexual partners and related animals had a small cortisol increase when moved to a new environment with their partner. Gust *et al.* /52/ observed that during the formation of new social groups of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), the subjects grouped with an unfamiliar social partner significantly increased plasma cortisol. Bonnet monkey (*Macaca radiata*) infants have lower depression scores after maternal separation if they receive the support of a known juvenile partner /24/.

Besides individual coping style and the modulating effect of social support during stressful situations (buffering model), another aspect which researchers have paid attention to is the development of stress resistance (resilience). Resilience - the blunting of hormonal and behavioral responses to stressful stimuli in adult life - was related to the level of maternal care early in life (maternal mediation hypothesis). In rodents, maternal rearing increases after reunion with the pups, and this permanent change in the amount of maternal rearing during a critical period early in life is thought to cause stress resistance in pups later in life /68,76/. The maternal separation paradigm has been used extensively in both rodent and primate species. However, more recent research confirms this mechanism only in rodents, and points to the intermittent exposure to mildly stressful events early in life, rather than the potential changes in maternal rearing, as the main stimulus modulating stress resilience in primate species (stress inoculation hypothesis) /86/.

3. *Callithrix jacchus* AS A POTENTIAL MODEL FOR STUDIES ON PSYCHOSOCIAL STRESS

Among New World primates, the common marmoset (*Callithrix jacchus*) is currently one of the most studied species, serving as an important model in different areas /70/. These small arborous primates belong to the Callitrichidae family /94/ and are native to the Atlantic forest of Northeast Brazil /103,120/. Group size in a natural environment varies from 3 to 15 animals /66,120/, sexual dimorphism is low and they are preferentially monogamous, although polygyny has been reported /14,38/. The general characteristics of small body size, high levels of glucocorticoids /28/, high fecundity /39/, early reproductive maturity /3/ and low maintenance cost in captivity when compared to Old World monkeys, make this species an ideal

model for experimental research.

The amount of information available on social dynamics, reproductive strategies, aspects of brain organization and functionality is promising for neuroethological and psychological investigation. With respect to social stress investigation, considerable data are available about cortisol profiles for males and females living under different conditions in captivity, as well as in free-ranging groups /8, 117/. Cortisol blood levels /98/ and information on the use of non-invasive techniques (urine /15,125/, feces /115,132/, and saliva /32,33/) are also available.

Common marmosets are cooperative breeders with fathers and older offspring sharing infant care with the mother /2,6,114/. Non-breeding females are reproductively inhibited by the dominant reproductive female /4,99/, but when fathers are replaced by an unrelated male /102/ or daughters are removed from the natal group /133/, they ovulate shortly after the changes. According to Saltzman *et al.* /98,101/ subordinate females showed low plasma cortisol, and adrenal responsiveness to adrenocorticotropin was reduced, but no change was found in negative feedback sensibility /100/. Abbott *et al.* /6/ suggested dimorphic patterns of behavior, endocrinology and metabolism between dominant and subordinate females. Dominants show high aggressive behavior, high cortisol levels and more tolerance to glucose. Thus, hypocortisolism seems to be an adaptation to the subordinate status. For common marmoset males, Baker *et al.* /16/ found that basal cortisol levels were the same for both related dominant and subordinate males. A similar finding was observed by Johnson *et al.* /59/, who found that dominant and subordinate males showed the same variation in cortisol levels to peer group formation. In a study with family groups of common marmosets, Raminelli *et al.* /93/ found similar fecal cortisol levels for breeding (fathers) and non-breeding (sons) males.

When new peer groups of adult males and females were formed, they displayed competitive behaviors, such as aggression, rapid episodes of overt fights, piloerection, scent-marking and anogenital presentation /7,29/, indicating that such behaviors can be measured to identify anxiety states. Vocalization can also be used to estimate anxiety, and for marmosets, anxiety reduction by vocalization has been validated /34,97/.

In studies using social deprivation, exposure to a new environment, formation of new groups or exposure to conspecific intruders, a strong reaction is provoked in common marmoset males and females, and the stress response depends on the type of stressor, sex, social status and social support /59,78,116/.

Other evidence, from pharmacological studies using anxiolytic drugs in common marmosets under stress, has pointed to anxiety reduction /29,95/. A study using dexamethasone in the prenatal period /123/ found a decrease in neural proliferation in the dentate gyrus, and other studies involving mother-infant separation in the first days of postnatal development in common marmosets show that infant separation changes the response of both infants and juveniles when compared to controls /36/. Juveniles showed a buffered response similar to that observed for children after suffering physical or psychological stress early in life, that sometimes develops into mental disorders such as post-traumatic stress /91,92/.

3.1. Hormonal and behavioral response of common marmosets to social isolation

In our laboratory we have been investigating the influence of social environment and individual characteristics, such as sex, age and temperament, in response to different social stressors in common marmosets /116,118/. We present here original data obtained using the stress paradigm of involuntary separation of common marmoset males and females. Since these primates build strong social and affiliative bonds, it is expected that their disruption will produce significant physiological and behavioral changes. Indeed, this is a suitable type of stressor, since for humans, emotional bond disruptions related to broken marriages, engagements, or friendships, or separation and the loss of family members through death, among others, are frequent.

Social relationships among callitrichid group members are complex. Social bonds between breeding males and females are formed during the first weeks of cohabitation between adult males and

females /43,113/. Previous studies support the idea that social bonds are also important among the other individuals of the group /111/. Indeed, common marmosets also respond to environmental changes /116/ and, as such, seem to be an appropriate animal model for studying mental disorders, since they react to both social loss and novel situations, seemingly associated with depression and anxiety, respectively /83/.

In this context, we studied 48 adult individuals (24 females) living in related and unrelated isosexual dyads or in heterosexual dyads. They were monitored for 25 days in two situations: (a) baseline phase, which ranged over 20 days, with behavioral observation and fecal collection for hormonal measurement occurring on alternate days; (b) separation phase, which ranged over 5 days, with both behavioral and fecal collection performed daily. In the first phase, a basal profile was drawn for both types of variables, and in the second phase we evaluated how the individuals reacted to separation (percentage change). In both phases, data collection was performed at the same time to avoid a circadian influence on hormones and behavior /93,118/. The separation procedure consisted of using a transport cage to individually move the subjects, previously housed as hetero- or isosexual dyads, to another cage where they stayed without physical or visual contact with the partner. All animals were habituated before being handled by the caretaker.

Behavioral sampling followed the focal continuous method /71/, which totalizes frequencies and durations at 30-minute intervals. For statistical analysis, we selected auto-grooming, scent-marking, and individual piloerection /121/, behaviors which show anxiety-related changes /18,19,29/. Fecal collection and fecal cortisol measurement followed the procedures described by Sousa and Ziegler /115/ and Ziegler *et al.* /132/.

Basal hormonal data did not show normal distribution and a logarithm transformation was applied. Parametric (ANOVA one-way, Student's t-test for dependent and independent samples, discriminate analysis and multiple linear regression) and non-parametric (Friedman, Wilcoxon, Mann-Whitney tests and Spearman's correlation) tests were used, and significance was set at $p \leq 0.05$.

The sex of the partner (female: t-test = 0.50, p = 0.63; male: t-test = -0.59, p = 0.82) and type of partner (ANOVA, females: F = 0.88, p = 0.42; males: F = 0.34, p = 0.70) did not influence basal fecal cortisol levels. However, a high tendency was observed for different basal cortisol levels between males and females (males = 1.86 ± 0.86 ng/g of feces; females = 2.11 ± 0.39 ng/g of feces, t test = -1.75, p = 0.06), as previously described /59,93/. Moreover, three main profiles of mean basal cortisol concentration (low, medium and high) can be described for male and female common marmosets (Fig. 1). This shows that within each sex, the mean cortisol level variation range was similar.

Based on individual cortisol values during the baseline phase (n = 48 subjects), we built three main endocrine profiles for common marmosets. High profile animals (15%) included those individuals who showed individual mean values in the baseline phase greater or equal to the group mean (for males and females separately) plus one standard deviation. Low profile (15%) included the subjects that showed mean cortisol values less than or equal to the group mean (for males and females separately) minus one standard deviation. Animals with medium profile had individual mean values between these two ranges, representing 70% of the sample.

To investigate endocrine reactivity to social deprivation, we pooled together the cortisol data of males and females, since analysis of reactivity showed no difference between the groups (Mann-Whitney U = 247, p = 0.71). To calculate reactivity (endocrine and behavioral) only five hormonal and behavioral samples collected during the ten days before separation were considered (pre-stress phase [PSP]). These were compared to the five samples collected during the 5 days after isolation (stressful phase [SP]) for each subject. To analyze the influence of the partner's sex (male × female) and type of partner (related males and females, unrelated males and females or sexual mate) on reactivity, multiple linear regression analysis tests were performed using the percentage of change between PSP and SP with cortisol as the dependent variable. The sex and type of partner did not significantly influence cortisol reactivity (R^2 =

0.0017, p = 0.21). Figure 2 illustrates the individual basal cortisol and endocrine reactivity profiles of males and females.

Basal cortisol was predictive of reactivity for the three profiles characterized in our study (discriminate analysis, F = 4.82, lambda = 0.70, p = 0.01). Subjects with low cortisol profiles were significantly more reactive than subjects with high cortisol profiles in the basal phase, indicating that high basal cortisol was a predictor of low reactivity during SP, and in some individuals cortisol decreased below the levels observed during PSP. The hypo- and hyper-reactive profiles were also significantly different (Mann-Whitney U = 000, p <0.01). The subjects that showed a medium profile also displayed intermediate reactivity to separation (Fig. 2). Thus, a significant negative correlation between basal cortisol and reactivity was found (rs = -0.32, p <0.05).

Figure 3 shows the means and standard errors of cortisol and behavior changes between PSP and SP for the subjects with three profiles of basal fecal cortisol. According to this figure, cortisol concentration increased significantly in the low profile subjects (Wilcoxon test, Z = 2.10, p = 0.03), but no difference was found for the medium (Z = 1.03, p = 0.29) or high (Z = 0.87, p = 0.38) profiles. Piloerection behavior did not change for the low profile group (Z = 0.42, p = 0.67), but decreased significantly for both medium (Z = 3.09, p <0.001) and high (Z = 2.50, p <0.01) basal cortisol profile groups.

No significant variation in auto-grooming and scent-marking behavior frequency was recorded after separation (Fig. 3). However, auto-grooming behavior during SP was higher for high basal cortisol profile subjects, and was significant for females (discriminate analysis, F = 4.37, lambda = 0.72, p = 0.02). Therefore, this behavior may function as a marker and, in association with high basal cortisol, could be an indicator of low reactivity to stress situations, since it seems to attenuate tension, as has been suggested for other non-human primate species /40/.

Table 1 shows the Spearman correlation scores, calculated using the percentage of change for cortisol, and behaviors before and after separation (reactivity index) displayed by the respective subjects showing the three basal cortisol profiles for the variables included in our analysis. We found two significant positive correlations for low profile subjects, one between cortisol rise and scent-marking behavior, and the other between scent-marking and piloerection behaviors (Spearman, rs = 0.88, p <0.05, for both). The positive correlations between cortisol and scent-marking showed that these animals increase cortisol and scent-marking behavior after separation, suggesting that they are more motivated to explore the new cage, more anxious because of isolation, or both. Piloerection behavior might also be associated with more explorative behavior, since it occurs in the context of locomotion and anxiety in common marmosets /29/ and in response to aversive stimuli /18/.

3.3. The common marmoset as a model for studying psychological disorders of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis

Our data showed that the sex of the animal and the sex and type of partner did not significantly influence cortisol reactivity to separation. The main determinant of reactivity to separation in common marmoset males and females seems to be the basal cortisol levels, which, in this study, were not influenced by the sex or type of partner. Subjects with low cortisol profile were hyper-reactive and subjects with high basal profiles were hypo-reactive. Interestingly, healthy humans and those who have mental disorders present with these cortisol reactivity profiles.

Healthy human subjects can be separated, according to their state of anxiety, into three groups using the STAI-T questionnaire /41,58,62/. The authors found that when only the subjects at the upper (anxious) and lower (non-anxious) limits of the normal range of a trait anxiety scale were monitored, in contrast with the traditional view, high anxious profile was not associated with increased cortisol release /41,58/. This suggests that high trait anxiety human subjects were not able to respond appropriately to acute stress stimuli, similar to the common marmoset subjects with high basal cortisol profiles who were hypo-reactive to separation.

Other studies have shown that in some situa-

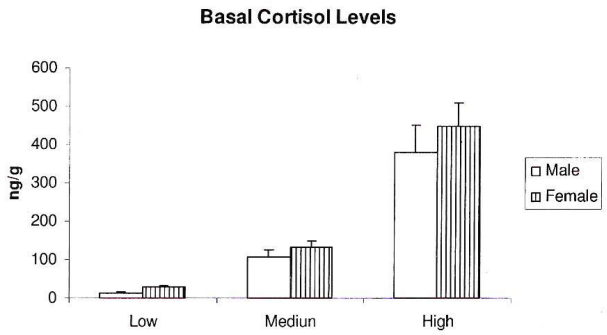


Fig. 1: Mean (+ SEM) basal fecal cortisol concentrations in male and female common marmosets characterized as low, medium and high basal cortisol profiles.

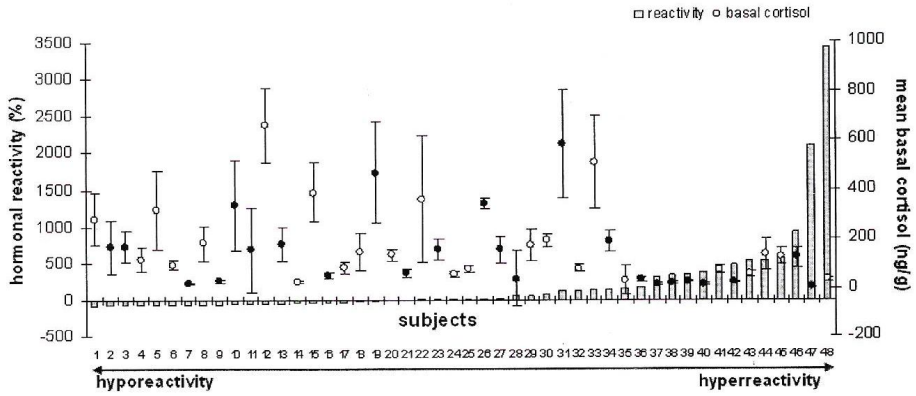


Fig. 2: Individual cortisol mean concentrations (± SEM) of 48 common marmosets (filled circles = 24 males; empty circles = 24 females) and individual reactivity to separation (percentage of cortisol increase) (bars).

tions, two main reactivity profiles are expressed. For instance, Roy /96/ used a laboratory stress protocol in healthy men and observed two cortisol response profiles. Some participants showed a decrease while others showed an increase in mean cortisol levels. Anegg *et al.* /10/ exposed divers to an unexpected underwater stress situation and the intensity of the physiological reactions was higher in individuals who assess themselves as being more composed and less susceptible to stress than in those with a higher anxiety level. Low basal cortisol levels associated with hyper-reactivity of the HPA axis have been reported in patients with post-traumatic stress disorder (PTSD) /47,60,80, 130,131/. Higher basal cortisol concentrations and blunted reactivity of the HPA axis than in normal

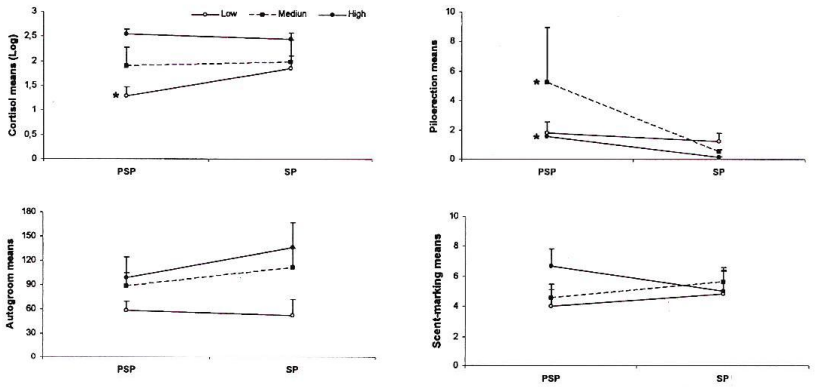


Fig. 3: Log of fecal cortisol mean (+ SEM) and means for piloerection (top), auto-grooming and scent-marking (bottom) behaviors for low, medium and high basal cortisol profiles, during pre-stress phase (PSP) and after separation (SP). * Cortisol: t-test, $p < 0.05$; * behaviors: Wilcoxon test, $p < 0.05$.

TABLE 1

Significant Spearman correlations between cortisol and behavioral variables for the three basal cortisol profiles of common marmosets

Profile	Variables			*rs* value	p value
Low	cortisol	x	scent-marking	0.88	<0.05
	scent-marking	x	piloerection	0.88	<0.05
Medium	scent-marking	x	piloerection	0.44	<0.05
High	cortisol	x	piloerection	-0.78	<0.05

individuals have been reported in both severely depressed and anxious patients /27,87,88/. Mason *et al.* /72/, studying intra-psychic correlates of individual differences in cortisol levels in combat-related PTSD, found three subgroup profiles for coping with a stress situation: subgroup A showed a high cortisol level at admission, followed by a marked drop at midcourse. In contrast, subgroup C showed a low cortisol level at admission, followed by a marked rise in relation to exposure treatment. Subgroup B showed a modest decline in cortisol levels during the hospitalization period. Cortisol levels appear to reflect a balance between arousal engagement (subgroup C) and anti-arousal disengagement (subgroup A) during emotional states, whereas low cortisol seems to correspond to a secondary adaptation during the chronic course of the disorder. McEwen /74/ considers both hypocortisolism and hypercortisolism as maladaptive, because both result in allostatic load. Hypocortisolism elevates the activity of other physiological mechanisms (sympathetic and immune systems),

normally counter-regulated by allostatic systems after stress. On the other hand, hypercortisolism fails to shut off allostatic activity after stress.

It should be pointed out that in healthy subjects exposed to repeated psychosocial stressor, two response groups have been observed. In high responders repeated stress exposures can be accompanied by repeated cortisol secretion of significant magnitude. This contrasts with the response pattern in low responders, who, after an initial rise, do not show the respective cortisol response in subsequent stress exposures /48,63,129/. Therefore, common marmosets showing lower and upper cortisol profiles could be used in stress and psychological disorder studies, since they show similar profiles to those found in healthy and mentally ill humans, in whom either hypocortisolism /47/ or hypercortisolism predominates /27,88/.

In a recent review, in which the neuroscience of affiliation was under discussion, Bartz and Hollander /22/ called attention to the importance of the relationship between social bond formation anomalies and psychopathology and the role of neuropeptides in regulating affiliative behavior, with an emphasis on oxytocin modulation in reducing stress response, probably by attenuating the HPA axis. Moreover, evidence in humans and animals suggests that oxytocin may mediate the association between social support and psychological and physical well-being /26,53/. Thus, future investigations into this matter seem to need animal models to study the controversial findings in humans, and available models could be used to clarify the diverse aspects of the multi-determinant and complex framework of psychological disorders.

According to the study on involuntary separation, we were able to indicate possible stable individual differences in response to stressors in common marmosets. Such evidence is still far from fulfilling the requirements for proposing this primate as an animal model for studying stress disorders. Thus, we can speculate that for *C. jacchus*, the variation in basal cortisol levels and hormonal reactivity to social isolation are individual characteristics that reflect the coping style, which in turn influences key social interactions. From this perspective, future research involving common marmosets as animal models must include studies with larger sample size, and focus on sex differences, the effects of previous stressor experience, the impact of chronic stressor exposure and the individual profile response to stress agents.

4. CONCLUSIONS

Non-human primate models are better suited for studying mental disorders than rodent models, in terms of face validity, predictability validity and etiological validity. Our findings reinforced this assertion by showing that basal cortisol levels in common marmosets can be used as a marker for selecting animals to investigate stress-related disorders (face validity).

Common marmosets (*Callithrix jacchus*) are small neotropical primates that adapt rapidly to captive conditions and are inexpensive to maintain. Moreover, they have been extensively studied in terms of reproduction, development, behavior and toxicology. Previous studies have shown their importance in studying stress-related disorders, given that they respond to anxiolytic drugs (predictive validity), their HPA axis is sensitive to early-life manipulation, and their sex and social environment influence basal cortisol release (etiological validity).

In this study, we found three individual profiles for basal cortisol in common marmoset males and females that act as predictors of stress reactivity in both sexes, but show more stability in males. These findings demonstrate that common marmosets display behavioral changes during challenging situations and different cortisol profiles in a population, allowing their use as an animal model for studying mental disorders associated with high and low responsiveness of the HPA axis. Indeed, we suggest that individual differences in stress response are another important factor to be controlled in protocols using this species as an animal model.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Ednolia Camara, Antonio B. da Silva and Geniberto C. dos Santos for animal care and José Flavio V. Coutinho for

veterinary care. CNPq provided financial support to N.L. Galvão-Coelho (Proc. No. 133632-2006/7) and M.B.C. Sousa (Proc. Nos. 470601/2003-5, 305216/2003-1 and 475277/2006-6).

DISCLOSURE INFORMATION

The authors declare that all funding sources for the study reported in this article, as well as that of the conference which originated this special issue, played no role in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data, in the writing of the manuscript and in the decision to submit it for publication in this special issue.

REFERENCES

1. Abbott DH. Behavioral and physiological suppression of fertility in subordinate marmoset monkeys. Am J Primatol 1984; 6: 169-186.
2. Abbott DH. Social conflict and reproductive suppression in marmoset and tamarim monkeys. In: Manson WA, Mendoza SP, eds. Primate Social Conflict. New York: Albany, 1993; 331-372.
3. Abbott DH, Hearn JP. Physical, hormonal and behavioural aspects of sexual development in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. J Reprod Fertil 1978; 53: 155-166.
4. Abbott DH, Hodges JK, George LM. Social status controls LH secretion and ovulation in female marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*). J Endocrinol 1988; 117: 329-339.
5. Abbott DH, Saltzman W, Schultz-darken NJ, Smith TE. Specific neuroendocrine mechanisms not involving generalized stress mediate social regulation of female reproduction in cooperatively breeding marmoset monkeys. Ann NY Acad Sci 1997; 807: 219-238.
6. Abbott DH, Saltzman W, Schultz-Darken NJ, Tannenbaum PL. Adaptations to subordinate status in female marmoset monkeys. Comp Biochem Physiol 1998; 119: 261-274.
7. Abbott DH, Keverne EB, Bercovitch FB, Shively CA, Mendoza SP, Saltzman W, Snowdon CT, Ziegler TE, Banjevic M, Garland T Jr, Sapolsky RM. Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. Horm Behav 2003; 43: 67-82.
8. Albuquerque ACSR, Sousa MBC, Santos HM, Ziegler TE. Behavioral and hormonal analysis of social relationship between oldest (reproductive and non-reproductive) females in a wild monogamous group of common marmoset, *Callithrix jacchus*. Int J Primatol 2001; 22: 631-645.
9. Altemus M. Sex differences in depression and anxiety disorders: Potential biological determinants. Horm Behav 2006; 50: 534-538.
10. Anegg U, Dietmaier G, Maier A, Tomaselli F, Gabor S, Kallus KW, Smolle-Jüttner FM. Stress-induced hormonal and mood responses in scuba divers: a field study. Life Sci 2002; 70: 2721-2734.
11. Anisman H, Merali Z. Chronic stressors and depression: distinguishing characteristics and individual profiles. J Psychopharmacol 1997; 134: 330-332.
12. Anisman H, Matheson K. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 525-546.
13. Araújo A, Yamamoto ME. Reação a intrusos da mesma espécie em *Callithrix jacchus*: influência do status social. Primatologia no Brasil 1994; 4: 15-34.
14. Arruda MF, Araújo A, Sousa MBC, Albuquerque FS, Albuquerque ACSR, Yamamoto ME. Two-breeding females within free-living groups may not always indicate polygyny: alternative subordinate female strategies in common marmosets (*Callithrix jacchus*). Folia Primatol 2005; 76: 10-20.
15. Bahr NI, Palme R, Mohle U, Hodges JK, Heistermann M. Comparative aspects of the metabolism and excretion of cortisol in three individual nonhuman primates. Gen Comp Endocrinol 2000; 117: 427-438.
16. Baker JV, Abbott DH, Saltzman W. Social determinants of reproductive failure in male commom marmosets housed with their natal family. Anim Behav 1999; 58: 501-513.
17. Barr CS, Newman TK, Becker ML, Parker CC, Champoux M, Lesch KP, Goldman D, Suomi SJ, Higley JD. The utility of the non-human primate model for studying gene by environment interactions in behavioral research. Genes Brain Behav 2003; 2: 336-340.
18. Barros M, Boere V, Huston JP, Tomaz C. Measuring fear and anxiety in the marmoset (*Callithrix penicillata*) with a novel predator confrontation model: effects of diazepam. Behav Brain Res 2000; 108: 205-211.
19. Barros M, Mello EL Jr, Huston JP, Tomaz C. Behavioral effects of buspirone in the marmoset (*Callithrix penicillata*) employing a predator confrontation test of fear and anxiety. Pharmacol Biochem Behav 2001; 68: 255-262.
20. Barros M, Tomaz C. Non-human primate models for investigating fear and anxiety. Neurosci Biobehav Rev 2002; 26: 187-201.
21. Bartolomucci A, Palanza P, Sacerdote P, Panerai AE, Sgoifo A, Dantzer R, Parmigiani S. Social factors and individual vulnerability to chronic stress exposure. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 67-81.
22. Bartz JA, Hollander E. The neuroscience of affiliation: forging links between basic and clinical research on neuropeptides and social behavior. Horm Behav 2006; 50: 518-528.

23. Blanchard RJ, McKittrick CR, Blanchard DC. Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. Physiol Behav 2001; 73: 261-271.
24. Boccia ML, Scanlan JM, Laudenslager ML, Berger CL, Hijazi AS, Reite ML. Juvenile friends, behavior, and immune responses to separation in bonnet macaque infants. Physiol Behav 1997; 61: 191-198.
25. Carroll BJ, Cassidy F, Naftolowitz D, Tatham NE, Wilson WH, Iranmanesh A, Liu PY, Veldhuis JD. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. Acta Psychiatr Scand 2007; 115 (Suppl 433): 90-103.
26. Carter CS. Developmental consequences of oxytocin. Physiol Behav 2003; 79: 383-397.
27. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. Annu Rev Physiol 2005; 67: 259-284.
28. Chrousos GP, Renquist D, Brandon D, Eil C, Pugeat MM, Vigersky R, Cutler GB, Loriaux DL, Lipsett MB. Glucocorticoid hormone resistance during primate evolution: receptor-mediated mechanisms. Med Sci 1982; 79: 2036-2040.
29. Cilia J, Piper DC. Marmoset conspecific confrontation: an ethologically-based model of anxiety. Pharmacol Biochem Behav 1997; 58: 85-91.
30. Cohen S, Wills TA. Stress, social support, and the buffering hypothesis. Psychol Bull 1985; 98: 310-357.
31. Crepeau LJ, Newman JD. Gender differences in reactivity of adult squirrel monkeys to short-term environmental challenges. Neurosci Biobehav Rev 1991; 15: 469-471.
32. Cross N, Pines MK, Rogers LJ. Saliva sampling to assess cortisol levels in unrestrained common marmosets and the effect of behavioral stress. Am J Primatol 2004; 62: 107-114.
33. Cross N, Rogers LJ. Diurnal cycle in salivary cortisol levels in common marmosets. Dev Psychobiol 2004; 45: 134-139.
34. Cross N, Rogers LJ. Mobbing vocalizations as a coping response in the common marmoset. Horm Behav 2006; 49: 237-245.
35. Cubicciotti DD III, Mendoza SP, Mason WA, Sassenrath EN. Differences between *Saimiri sciureus* and *Callicebus moloch* in physiological responsiveness: implications for behavior. J Comp Psychol 1986; 100: 385-391.
36. Dettling AC, Feldon J, Pryce CR. Early deprivation and behavioral and physiological responses to social separation novelty in the marmoset. Pharmacol Biochem Behav 2002; 73: 259-269.
37. DeVries AC, Glasper ER, Detillion CE. Social modulation of stress responses. Physiol Behav 2003; 79: 399-407.
38. Digby L, Ferrari SF. Multiple breeding females in free-ranging groups of *Callithrix jacchus*. Int J Primatol 1994; 15: 389-397.
39. Dixson AF, Lunn SF. Post-partum changes in hormones and sexual behaviour in captive groups of marmosets (*Callithrix jacchus*). Physiol Behav 1987; 41: 577-583.
40. Dunbar RIM. Functional-significance of social grooming in primates. Folia Primatol 1991; 57: 121-131.
41. Duncko R, Makatsori A, Fickova E, Selko D, Jezova D. Altered coordination of the neuroendocrine response during psychosocial stress in subjects with high trait anxiety. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2006; 30: 1058-1066.
42. Ebner K, Wotjak CT, Landgraf R, Engelmann M. Neuroendocrine and behavioral response to social confrontation: residents versus intruders, active versus passive coping styles. Horm Behav 2005; 47: 14-21.
43. Evans S, Poole TB. Pair-bond formation and breeding success in the common marmoset *Callithrix jacchus jacchus*. Int J Primatol 1983; 4: 83-96.
44. Fairbanks LA. Individual differences in response to a stranger: social impulsivity as a dimension of temperament in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops sabaeus*). J Comp Psychol 2001; 115: 22-28.
45. French JA, Snowdon CT. Sexual dimorphism in response to unfamiliar intruders in the tamarin, *Saguinus oedipus*. Am J Primatol 1981; 12: 469-478.
46. French JA, Inglett BJ. Female-female aggression and male indifference in response to unfamiliar intruders in lion tamarins. Anim Behav 1989; 37: 487-497.
47. Fries E, Hesse J, Hellhammer J, Hellhammer DH. A new view on hypocortisolism. Psychoneuroendocrinology 2005; 30: 1010-1016.
48. Gerra G, Zaimovic A, Mascetti GG, Gardini S, Zambelli U, Tímpano M, Raggi MA, Brambilla F. Neuroendocrine responses to experimentally induced psychological stress in healthy humans. Psychoneuroendocrinology 2001; 26: 91-107.
49. Goncharova ND, Oganyan TE, Smelkova SA. Effect of aging on stress reactivity of the adrenal cortex in laboratory primates. Dependence on the time of day. Bull Exp Biol Med 2006; 141: 368-371.
50. Gosling SD, John OP. Personality dimensions in nonhuman animals: a cross-species review. Curr Dir Psychol Sci 1999; 8: 69-75.
51. Gosling SD. From mice to men: what can we learn about personality from animal research? Psychol Bull 2001; 127: 45-86.
52. Gust DA, Gordon TP, Brodie AR, McClure HM. Effect of companions in modulating stress associated with new group formation in juvenile rhesus macaques. Physiol Behav 1996; 59: 941-945.
53. Heinrichs M, Baumgartner T, Kirschbaum C, Ehlert U. Social support and oxytocin interact to suppress cortisol and subjective responses to psychosocial stress. Biol Psychiatry 2003; 54: 1389-1398.
54. Hennessy MB. Effects of social partners on pituitary-adrenal activity during novelty exposure in adult female squirrel monkeys. Physiol Behav 1986; 38: 803-807.

55. Hennessy MB, Mendoza SP, Mason WA, Moberg GP. Endocrine sensitivity to novelty in squirrel monkeys and titi monkeys: species differences in characteristic modes of responding to the environment. Physiol Behav 1995; 57: 331-338.
56. Honessa PE, Marina C.M. Behavioural and physiological aspects of stress and aggression in nonhuman primates. Neurosci Biobehav Rev 2006; 30: 390-412.
57. Huhman KL. Social conflict models: can they inform us about human psychopathology? Horm Behav 2006; 50: 640-646.
58. Jezova D, Makatsori A, Duncko R, Moncek F, Jukubek M. High trait anxiety in healthy subjects is associated with low nueroendocrine activity during psychosocial stress. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2004; 28: 1331-1336.
59. Johnson OE, Kamilaris CS, Calogero AE, Gold PW, Chousos GP. The biobehavioral consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). Biol Psychiatry 1996; 40: 317-337.
60. Kanter ED, Wilkinson CW, Radant AD, Petrie EC, Dobie DJ, McFall EM, Peskind ER, Raskind MA. Glucocorticoid feedback sensitivity and adrenocortical responsiveness in posttraumatic stress disorder. Biol Psychiatry 2001; 50: 238-245.
61. Keltikangas-Jarvinen L, Kettunen J, Ravaja N, Naatanen P. Inhibited and disinhibited temperament and autonomic stress reactivity. Int J Psychophysiol 1999; 33: 185-196.
62. Kirschbaum C, Pirke KM, Hellhammer DH. The Trier Social Stress Test–a tool for investigating psychobiological stress responses in a laboratory setting. Neuropsychobiology 1993; 28: 76-81.
63. Kirschbaum C, Prüssner JC, Stone AA, Federenko I, Gaab J, Lintz D, Schommer N, Hellhammer DH. Persistent high cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. Psychosom Med 1995; 57: 468-474.
64. Kooiji EVED, Kuijpers AH, Schrama JW, Van Eerdenburg FJCM, Schouten WGP, Tielen MJM. Can we predict behaviour in pigs? Seaching for consistency in behaviour over time and across situations. Appl Anim Behav Sci 2002; 75: 293-305.
65. Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Vegt BJ, Van-Reenen CG, Hopster H, De Jong IC, Ruis MA, Blokhuis HJ. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. Neurosci Biobehav Rev 1999; 23: 925-935.
66. Lazaro-Perea C. Intergroup interactions in wild common marmosets, *Callithrix jacchus*: territorial defence and assessment of neighbours. Anim Behav 2001; 62: 11-21.
67. Levine S. Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Eur J Pharmacol 2000; 405: 149-160.
68. Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM, Meaney MJ. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. Science 1997; 5332: 1659-1662.
69. Maestripieri D. Measuring temperament in rhesus macaques: consistency and change in emotionality over time. Behav Processes 2000; 49: 167-171.
70. Mansfield K. Marmoset models commonly used in biomedical research. Comp Med 2003; 53: 383-392.
71. Martin P, Bateson P. Measuring Behaviour. An Introductory Guide. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.
72. Mason JW, Wang S, Yehuda R, Riney S, Charney DS, Southwick SM. Psychogenic lowering of urinary cortisol levels linked to increased emotional numbing and a sham-depressive syndrome in combat-related post-traumatic stress disorder. Psychosom Med 2001; 63: 87-401.
73. Matthews K, Christmas D, Swan J, Sorrell E. Animal models of depression: navigating through the clinical fog. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 503-513.
74. McEwen BS. Stress, adaptation and disease. Ann NY Acad Sci 1998; 840: 33-44.
75. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. Brain Res 2000; 886: 172-189.
76. Meaney MJ. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. Annu Rev Neurosci 2001; 24: 1161-1192.
77. Mendoza SP, Mason WA. Contrasting responses to intruders and to involuntary separation by monogamous and polygynous New World monkeys. Physiol Behav 1986; 38: 795-801.
78. Norcross JL, Newman JD. Effects of separation and novelty on distress vocalizations and cortisol in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). Am J Primatol 1999; 47: 209-222.
79. Olff M, Langeland W, Gersons BP. Effects of appraisal and coping on the neuroendocrine response to extreme stress. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 457-467.
80. Olff M, Güzelcan Y, de Vries GJ, Assies J, Gersons BPR. HPA- and HPT-axis alterations in chronic posttraumatic stress disorder. Psychoneuroendocrinology 2006; 31: 1220-1230.
81. Orchinik M. Glucocorticoids, stress, and behavior: shifting the timeframe. Horm Behav 1998; 34: 320-327.
82. Overli O, Korzan WJ, Hoglund E, Winberg S, Bollig H, Watt M, Forster GL, Barton BA, Overli E, Renner KJ, Summers CH. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. Horm Behav 2004; 45: 235-241.
83. Paykel ES. Stress and affective disorders in humans. Semin Clin Neuropsychiatry 2001; 6: 4-11.
84. Palanza P. Animal models of anxiety and depression: how are females different? Neurosci Biobehav Rev 2001; 25: 219-233.

85. Palit G, Kumar R, Chowdhury SR, Gupta MB, Saxena RC, Srimal RC, Dhawan BN. A primate model of anxiety. Eur Neuropsychopharmacol 1998; 8: 195-201.
86. Parker KJ, Buckmaster CL, Schatzberg AF, Lyons DM. Prospective investigation of stress inoculation in young monkeys. Arch Gen Psychiatry 2004; 61: 933-941.
87. Peeters F, Nicholson NA, Berkhof J. Cortisol responses to daily events in major depressive disorder. Psychosom Med 2003; 65:836-841.
88. Peeters F, Nicolson NA, Berkhof J. Levels and variability of daily life cortisol secretion in major depression. Psychiatry Res 2004; 126: 1-13.
89. Pottinger TG, Carrick TR. Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. Gen Comp Endocrinol 1999; 116: 122-132.
90. Pottinger TG, Carrick TR. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. Horm Behav 2001; 40: 419-427.
91. Pryce CR, Rüedi-Bettschen D, Dettling AC, Feldon J. Early life stress: long-term physiological impact in rodents and primates. News Physiol Sci 2002; 17: 150-155.
92. Pryce CR, Rüedi-Bettschen D, Dettling AC, Weston A, Russig H, Ferger B, Feldon J. Long-term effects of early-life environmental manipulations in rodents and primates: potential animal models in depression research. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 649-674.
93. Raminelli JLF, Sousa MBC, Cunha MS, Barbosa MFV. Morning and afternoon patterns of fecal excretion of cortisol among reproductive and non-reproductive male and female common marmosets, *Callithrix jacchus*. Biol Rhythm Res 2001; 32: 159-167.
94. Rylands AB, Schneider O, Langguth A, Mittermeier RA, Groves CP, Rodríguez-Luna E. An assessment of the diversity of New World Primates. Neotr Primates 2000; 2: 61-93.
95. Rogers DC, Costall B, Domeney AM, Gerrard PA, Greener M, Kelly ME, Hagan JJ, Hunter AJ. Anxiolytic profile of ropinirole in the rat, mouse and common marmoset. Psychopharmacology 2000; 151: 91-97.
96. Roy MP. Patterns of cortisol reactivity to laboratory stress. Horm Behav 2004; 46: 618-627.
97. Rukstalis M, French JA. Vocal buffering of the stress response: exposure to conspecific vocalizations moderates urinary cortisol excretion in isolated marmosets. Horm Behav 2005; 47: 1-7.
98. Saltzman W, Schultz-Darken NJ, Scheffler G, Wegner FH, Abbott DH. Social and reproductive influences on plasma cortisol in female marmoset monkeys. Physiol Behav 1994; 56: 801-810.
99. Saltzman W, Schultz-Darken NJ, Wegner FH, Wittwer DJ, Abbott DH. Suppression of cortisol levels in subordinate female marmosets: reproductive and social contributions. Horm Behav 1998; 33: 58-74.
100. Saltzman W, Pick RR, Salper OJ, Leidl KJ, Abbott DH. Onset of plural cooperative breeding in common marmoset families following replacement of the breeding male. Anim Behav 2004; 68: 59-73.
101. Saltzman W, Prudom SL, Schultz-Darken N, Abbott DH. Reduced adrenocortical responsiveness to adrenocorticotropic hormone (ACTH) in socially subordinate female marmoset monkeys. Psychoneuroendocrinology 2000; 25: 463-477.
102. Saltzman W, Prudom SL, Schultz-Darken NJ, Wittwer DJ, Abbott DH. Social suppression of cortisol in female marmoset monkeys: role of circulating ACTH levels and glucocorticoid negative feedback. Psychoneuroendocrinology 2004; 29: 141-161.
103. Santee DP, Arruda MF. The Nisia Floresta common marmoset research station. Neotr Primates 1994; 2: 8-11.
104. Sapolsky RM. Individual differences and the stress response. Semin Neurosci 1994; 6: 261-269.
105. Sapolsky RM. Stress hormones: good and bad. Neurobiol Dis 2000; 7: 540-542.
106. Scallet AC, Suomi SJ, Bowman RE. Sex differences in adrenocortical response to controlled agonistic encounters in rhesus monkeys. Physiol Behav 1981; 3: 385-390.
107. Schjolden J, Stoskhus A, Winberg S. Does individual variation in stress responses and agonistic behavior reflect divergent stress coping strategies in juvenile rainbow trout? Physiol Biochem Zool 2005; 78: 715-723.
108. Schjolden J, Backstrom T, Pulman KG, Pottinger TG, Winberg S. Divergence in behavioural responses to stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with contrasting stress responsiveness. Horm Behav 2005; 48: 537-544.
109. Sinn DL, Moltschaniwskyj NA. Personality traits in dumpling squid (*Euprymna tasmanica*): context-specific traits and their correlation with biological characteristics. J Comp Psychol 2005; 119: 99-110.
110. Sluyter F, Korte SM, Bohus B, Van Oortmerssen GA. Behavioral stress response of genetically selected aggressive and nonaggressive wild house mice in the shock-probe defensive burying test. Pharmacol Biochem Behav 1996; 54: 113-126.
111. Smith TE, French JA. Psychosocial stress and urinary cortisol excretion in marmoset monkeys (*Callithrix kuhli*). Physiol Behav 1997; 62: 225-232.
112. Smith TE, McGreer-Whitworth B, French JA. Close proximity of the heterosexual partner reduces the physiological and behavioral consequences of novel-cage housing in black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*). Horm Behav 1998; 34: 211-222.
113. Snowdon CT. Mechanisms maintaining monogamy in monkeys. In: Dewsbury DA, ed. Contemporary Issues in Comparative Psychology. Sunderland: Sinauer, 1990; 225-251.
114. Snowdon CT. Infant care in cooperatively breeding species. In: Rosenblatt JA, Snowdon CT, eds. Parental

Care: Evolution, Mechanisms and Adaptive Significance. San Diego, CA: Academic Press, 1996; 643-689.
115. Sousa MBC, Ziegler TE. Diurnal variation on the excretion patterns of steroids in common marmoset (*Callithrix jacchus*) females. Am J Primatol 1998; 46: 105-117.
116. Sousa MBC, Leão AC, Silva HPA. Sexual differences on behavior and fecal cortisol using the separation paradigm in common marmoset, *Callithrix jacchus*. Abstracts of the XIXth Congress of the International Primatological Society, Pequim/China, 2002; 94.
117. Sousa MBC, Albuquerque ACSR, Albuquerque FS, Araújo A, Yamamoto ME, Arruda MF. Behavioral strategies and hormonal profile of dominant and subordinate common marmoset (*Callithrix jacchus*) females in wild monogamous groups. Am J Primatol 2005; 67: 37-50.
118. Sousa MBC, Galvão-Coelho NL, Ribeiro RRC, Gomes SL. Effect of relatedness on the behavioral and endocrine components of stress response in common marmosets (*Callithrix jacchus*) males. Front Neuroendocrinol 2006; 27: 56-56.
119. Sousa MBC, Moura SLN, Menezes AAL. Circadian variation with a diurnal bimodal profile on scent marking behavior in captive *Callithrix jacchus*. Int J Primatol 2006; 27: 263-272.
120. Stevenson MF, Rylands AB. The marmosets, genus *Callithrix*. In: Mittermeier RA, Rylands AB, Coimbra-Filho A, Fonseca GAB, eds. Ecology and Behavior of Neotropical Primates. Contagem/Brazil: Littera Maciel Ltda./WWF, 1988; 131-222.
121. Stevenson MF, Poole TB. An ethogram of common marmoset (*Callithrix jacchus*): general behavioral repertoire. Anim Behav 1978: 24; 428-451
122. Tamashiro KL, Nguyen MM, Sakai RR. Social stress: from rodents to primates. Front Neuroendocrinol 2005; 26: 27-40.
123. Tauber SC, Schlumbohm C, Schilg L, Fuchs E, Nau R, Gerber J. Intrauterine exposure to dexamethasone impairs proliferation but not neuronal differentiation in the dentate gyrus of newborn common marmoset monkeys. Brain Pathol 2006; 16: 209-217.
124. Tyrka AR, Mello AF, Mello MF, Gagne GG, Grover KE, Anderson GM, Price LH, Carpenter LL. Temperament and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in healthy adults. Psychoneuroendocrinology 2006; 31: 1036-1045.
125. Torii R, Moro M, Abbott DH, Nigi H. Urine collection in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) and its applicability to endocrinological studies. Primates 1998; 39: 407-417.
126. Uchino BN, Cacioppo JT, Kiecolt-Glaser JK. The relationship between social support and physiological processes: a review with emphasis on underlying mechanisms and implications for health. Psychol Bull 1996; 11: 488-531.
127. Veenema AH, Meijer OC, de Kloet ER, Koolhaas JM, Bohus BG. Differences in basal and stress-induced HPA regulation of wild house mice selected for high and low aggression. Horm Behav 2003; 43: 197-204.
128. Veenema AH, Meijer OC, de Kloet ER, Koolhaas JM. Genetic selection for coping style predicts stressor susceptibility. J Neuroendocrinol 2003; 15: 256-267.
129. Wust S, Federenko IS, Van Rossum EFC, Koper JW, Hellhammer DH. Habituation of cortisol responses to repeated psychosocial stress–further characterization and impact of genetic factors. Psychoneuroendocrinology 2005; 30: 199-211.
130. Yehuda R, Teicher MH, Trestman RL, Levengood RA, Siever LJ. Cortisol regulation in posttraumatic stress disorder and major depression: a chronobiological analysis. Biol Psychiatry 1996; 40: 79-88.
131. Yehuda R. Sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in posttraumatic stress disorder. Ann NY Acad Sci 1997; 821: 57-75.
132. Ziegler TE, Scheffler G, Carson AA. Methods and use of fecal steroid analyses for monitoring reproductive function in marmosets and tamarins. In: Sousa MBC, Menezes ALL, eds. A Primatologia do Brasil, Vol 6. Brazil: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 1997; 269-280.
133. Ziegler TE, Sousa MBC. Parent-daughter relationships and social controls on fertility in female common marmosets, *Callithrix jacchus*. Horm Behav 2002; 42: 356-367.

ARTIGO 2

INFLUÊNCIA DO AMBIENTE SOCIAL SOBRE A RESPOSTA AO ESTRESSE EM SAGÜI COMUM *(Callithrix jacchus)*: I. O SUPORTE SOCIAL.

Nicole Leite Galvão Coelho e Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Curso de Pós-graduação em Psicobiologia, Caixa Postal, 1511- 59078-970 Natal, RN, Brasil.

Endereço de correspondência:

Maria B. C. Sousa

Universidade Federal do Rio Grande

Departamento de Fisiologia

Caixa Postal, 1511

59078-970 NATAL, RN, BRASIL.

Tel 55 84 3215-3410

Fax 55 84 3211-9206

E-mail: mdesousa@cb.ufrn

Artigo a ser submetido ao American Jornal of Primatology.

RESUMO

Na área da fisiologia da resposta ao estresse, há algum tempo, pesquisas evidenciam os benefícios providos por um suporte social durante uma situação de crise. Entretanto, dados mais recentes da literatura vem demonstrando que a eficácia de um suporte social em tamponar a resposta fisiológica e comportamental a agentes estressores depende da espécie estudada, do sexo dos indivíduos envolvidos e da natureza de suas relações sociais. Este estudo analisou, em cativeiro, se o tipo do suporte social (fornecido por um co-específico do mesmo sexo parente ou não-parente) e o sexo modulam a resposta hormonal (cortisol) e comportamental a três estressores psicossociais ambientais físicos e sociais (ambiente novo pareado, ambiente novo isolado e reunião) em animais adultos de *Callithrix jacchus*. Os animais cujo suporte social foi provido por um co-específico não-parente apresentaram maior reatividade hormonal e comportamental aos agentes estressores, embora este tipo de suporte social tenha sido eficiente em tamponar a resposta do cortisol durante a fase de ambiente novo pareado. Entretanto, quando se leva em consideração também o sexo da díade, apenas as díades de machos aparentados apresentaram uma resposta comportamental atenuada, ambas as díades de fêmeas mostram-se tensas. Deste modo, os presentes resultados apóiam parcialmente a teoria do efeito tampão (*buffering model*) e corroboram outros estudos que apontam os benefícios do suporte social durante uma situação de crise, mas apenas quando este é provido de forma adequada à espécie estudada.

Palavras chave: *Callithrix jacchus*, estresse, cortisol, comportamento, suporte social.

1. INTRODUÇÃO

O ambiente social tanto pode ser fonte de agentes estressores (Blanchard *et al.* 2001), quanto pode atuar beneficamente tamponando a resposta ao estresse (Sachser *et al.*1998; Ditzen *et al.* 2008) . Em algumas sociedades hierárquicas a restrição aos recursos alimentares, a parceiros sexuais e sociais, a maior exposição a parasitas e predadores suportados pelos subordinados, ou, até mesmo, os custos envolvidos para manter-se no posto de dominância podem desencadear as alterações fisiológicas e comportamentais características de estresse (Schapiro *et al.* 1998; Sapolsky 2004). Além disto, as alterações no ambiente social em termos de variação na densidade populacional produzidos pelos fluxos de imigrações, emigrações e encontros entre indivíduos ou grupos, a introdução artificial de um novo membro no grupo, a separação de mães e filhos, de casais ou de díades isossexuais, ativam os componentes autonômico e endócrino da resposta ao estresse, bem como modificam a atividade comportamental desses animais (Creel 2001; Olsson & Westlund 2007).

Embora existam evidências incontestes apontando para os custos da vida em grupo, muitos estudos exploram os seus benefícios e observam que o suporte social atua de forma importante durante uma situação de crise, pois reduz os efeitos maléficos provocados pelo estresse crônico, teoria esta conhecida como modelo do tamponamento (*buferring model*) (Cohen & Wills 1985). Além disto, algumas pesquisas também apontam que o suporte social pode evitar o desenvolvimento de patologias físicas e psicológicas durante o dia-a-dia do indivíduo, e não somente durante situações de crise, pois promove o seu bem-estar e, conseqüentemente, aumenta a sua saúde, teoria esta conhecida como do efeito principal (*main effect*) (Cohen & Wills 1985).

Estudos com humanos e animais demonstram que o suporte social atua em nível cognitivo reduzindo a intensidade do estresse percebido, e também em nível fisiológico, modulando a ativação neuroendócrina, reduzindo o funcionamento do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e do sistema nervoso autônomo (Seeman & McEwen 1996; Lepore 1998; Smith *et al.*1998). Gust *et al.* (1996) verificaram elevações nos níveis de cortisol plasmático em macacos *rhesus* (*Macaca mulatta*) em resposta à formação de novos grupos sociais e perceberam que as concentrações deste hormônio apresentam menores modificações quando havia a presença de um parceiro social durante a situação de estresse. Uchino & Garvey (1997) apontam que homens e mulheres que possuíam suporte social disponível durante uma situação de estresse agudo apresentaram menores índices de pressão sanguínea arterial que indivíduos que não o tiveram.

Entretanto, diversos estudos demonstram que a eficácia no tamponamento da resposta ao estresse provido por um suporte social depende tanto de fatores individuais como o sexo (Seeman 1996; Seeman & McEwen 1996), a idade (Hennessy *et al.* 2006) e o temperamento (Helgeson 2003), quanto da qualidade do suporte social (Hennessy *et al.* 2008) e da intensidade do agente estressor (Lepore 1998, Helgeson 2003). Kirschbaum *et al.* (1995) demonstraram que homens que possuíram o suporte social da namorada durante uma situação de estresse psicossocial agudo apresentaram menores níveis de cortisol que homens cujo suporte social foi oferecido por uma mulher estranha ou por aqueles que não receberam suporte social. Por outro lado, as mulheres deste estudo que receberam o suporte social do namorado durante a situação estressante apresentaram uma tendência de elevação do cortisol. Lepore (1998) solicitou que estudantes, em três condições diferentes de suporte social, realizassem discursos públicos, e observou menores elevações de pressão sanguínea naqueles que receberam suporte social de um indivíduo familiar e maiores

pressões nos indivíduos cujo suporte social foi promovido por uma pessoa não-familiar ou que estavam sozinhos.

DeVries *et al.* (2007) apontam a importância da ocitocina, hormônio liberado durante interações sociais positivas, na supressão do eixo HPA de roedores em condições de estresse. Esta correlação também é observada em humanos como demonstra Heinrichs *et al.* (2003), que apontam um reduzido efeito ansiolítico quando a inoculação intra-nasal deste hormônio é associado a um suporte social durante teste psicológico utilizado como estressor agudo. Além disto, Eisenbetger *et al.* (2008), em um estudo de neuroimagem, demonstram ocorrer baixas concentrações de cortisol em função de um adequado suporte social, durante um teste psicológico agudo, e associa isto a uma reduzida atividade no córtex cingulado dorsal anterior e na área de Brodmann 8, que provavelmente atuam modulando o funcionamento do eixo HPA.

Muitas pesquisas com humanos já investigaram a influência da qualidade do suporte social como tamponador da resposta ao estresse em adultos. Entretanto, poucos estudos deste tipo foram realizados com primatas não-humanos, principalmente entre indivíduos do mesmo sexo. Nestas espécies os estudos relacionados a este contexto são principalmente direcionados para a investigação da relação mãe-filhote (Seeman & McEwen 1996; DeVries *et al.* 2003) e para a demonstração da eficácia do suporte social independentemente da sua qualidade (Gust *et al.* 1996). Apesar disto, os primatas em geral possuem uma complexa organização social e são ocasionalmente utilizados como modelos em estudos sobre estresse e distúrbios mentais associadas (Barros & Tomaz 2002; Dettling *et al.* 2007).

Callithrix jacchus é um primata neotropical de pequeno porte que possui inúmeras características que o tornam um excelente modelo animal na área biomédica (Mansfield

2003), incluindo o estudo dos aspectos fisiológicos e comportamentais relacionados à resposta ao estresse (Sousa *et al.* 2002; Galvão-Coelho *et al.* 2008). No ambiente natural, vivem em grupos que variam de 3 a 15 indivíduos, onde há apenas um par reprodutor, dominante, e tanto o macho quanto a fêmea participam do cuidado parental (Stevenson & Poole 1978). As fêmeas subordinadas podem sofrer supressão reprodutiva (Sousa *et al.* 2005) e auxiliam no cuidado da prole (Digby 1995).

Alguns estudos com esta espécie demonstram reatividade à estressores psicossociais semelhante aos humanos, como a separação de mães e filhotes (Pryce 2004, 2005), separação de casais adultos heterossexuais (Johnson *et al.*1996; Norcross e Newman, 1999; Leão 2001), reatividade a um ambiente novo (Gerber *et al.* 2002), e a co-específicos estranhos (Gerber & Schnell, 2004) e à incidência de estressores pré-natais (Tauber *et al.* 2006). Recentemente, foram identificados, por nosso grupo de pesquisa, três tipos de perfis de reatividade ao estresse em *Callithrix jacchus* ampliando o seu potencial como modelo em estudos psicossociais da resposta ao estresse (Galvão-Coelho *et al.* 2008). Todavia, a influência do suporte social e seus moduladores (sexo, natureza do suporte) sobre a resposta comportamental e hormonal diante de estressores crônicos de natureza física e psicológica, ainda são pouco investigados nesta espécie, principalmente no âmbito hormonal (Norcross & Newman 1999; Johson *et al.* 1996). Portanto, neste estudo, foi investigado como machos e fêmeas da espécie *Callithrix jacchus* vivendo em díades isossexuais e com diferentes graus de parentesco, reagiram hormonal e comportamentalmente a estressores ambientais prolongados, representados pelo: ambiente novo pareado, ambiente novo isolado e reunião com o respectivo parceiro social.

2. MÉTODOS

2.1. Manutenção dos animais

Neste estudo foram utilizadas 14 díades de animais adultos de *Callithrix jacchus*, 8 díades de fêmeas e 6 de machos, igualmente divididas em animais aparentados e não-parentes. Os animais das díades não-parentes de fêmeas (n= 4) e machos (n=3) foram pareados entre 10 e 20 dias antes do início do experimento e os animais das díades aparentadas (Fêmeas, n= 4; machos, n= 3) foram separadas das famílias aproximadamente de 30 a 60 dias antes do experimento, e cada uma das díades foi alojada em gaiola individual. Três díades de fêmeas aparentadas eram de mãe e filha e uma díade era de irmãs. As díades de machos aparentados eram de irmãos gêmeos.

Todos os animais viviam em cativeiro, no Núcleo de Primatologia da UFRN, sob condições naturais de iluminação, umidade e temperatura e estavam alojados em gaiolas localizadas na área externa da colônia. As gaiolas mediam 2,0 x 2,0 x 1,0 m e eram construídas em alvenaria, possuindo na sua parede anterior um visor unidirecional, através do qual foram realizadas as observações comportamentais. A parede posterior da gaiola, a qual continha a porta da gaiola e o teto eram construídos de tela em arame. Na porta, eram encaixados o bebedouro e o prato de alimentação. No interior da gaiola havia uma caixa-ninho, para descanso, pranchas de madeira e poleiros de galhos de plantas para o deslocamento dos animais. Todos os animais foram habituados à presença do tratador anteriormente ao estudo.

2.2. Delineamento experimental

O estudo foi desenvolvido em quatro fases experimentais que compreenderam a fase basal e três diferentes tipos de manipulação que funcionaram como potenciais agentes

estressores, com duração total de 49 dias para cada díade. Estes procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética do Departamento de Fisiologia da UFRN.

A fase basal teve duração de 4 semanas (28 dias), e as demais, de 1 semana (7 dias) cada. Em todas as fases do estudo foram realizadas coletas de fezes para dosagem hormonal e observações comportamentais de 30 minutos, realizadas no intervalo entre 06h30min e 09h30min da manhã, para evitar a influência circadiana sobre as variáveis em estudo (Sousa & Ziegler, 1998). Na fase basal, as coletas de dados comportamentais e fezes para análise hormonal foram realizadas em dias alternados, totalizando 14 sessões de observações e, diariamente, nas demais fases.

Fase 1 - Basal: Os animais já se encontravam pareados e os dados foram coletados para estabelecer os perfis comportamentais e hormonais de cada animal.

Fase 2 - Ambiente novo pareado: As díades foram transferidas para uma nova gaiola, semelhante à original.

Fase 3 – Ambiente novo isolado: A díade foi separada e cada animal foi colocado, isolado, em uma nova gaiola, semelhantemente à fase basal e sem contato olfativo ou visual entre eles.

Fase 4 - Reunião: Consistiu na reunião da díade na gaiola de origem.

2.3. Observações comportamentais

As observações comportamentais foram realizadas a partir do visor unidirecional das gaiolas por um total de quatro observadores (A,B,C,D), sendo A, B, C, para os machos parentes e B, C e D para os machos não-parentes, fêmeas parentes e não-parentes. O teste de fidedignidade realizado entre os observadores envolvidos foi de 92%.O método

utilizado nas observações comportamentais foi o focal contínuo totalizando as freqüências e as durações dos comportamentos durante o intervalo de 30 minutos para cada animal (Altman, 1974). Os comportamentos registrados, cujas descrições estão detalhadas no Quadro 1, foram adaptados do etograma de Stevenson & Poole (1978). Em todas as fases deste estudo foram registrados os comportamentos individuais de autocatação, marcação de cheiro e piloereção individual. Os comportamentos de catação social, piloereção simultânea, contato, aproximação e afastamento foram registrados apenas nas fases em que os animais encontravam-se pareados (F1, F2 e F4).

Embora exerçam outras funções sinalizadoras, dentro do contexto de resposta ao estresse os comportamentos de marcação de cheiro e deslocamento (aproximação e afastamento) são considerados indicadores de ansiedade (Cubicciotti *et al.* 1986; Barros & Tomaz 2002; Dettling *et al.* 2002). A piloereção individual além de ser considerada como um comportamento agonístico é também um indicador da atividade do sistema nervoso autônomo simpático (Dettling *et al.* 2002). Os comportamentos de catação social, autocatação e contato são considerados como redutores de tensão, uma vez que induzem a secreção de ocitocina que por sua vez reduz o funcionamento do eixo HPA (DeVries *et al.* 2003; Detillion *et al.* 2004; DeVries *et al.* 2007; Wittig *et al.* 2008). A piloereção simultânea é um comportamento coordenado e de defesa territorial (Silva & Sousa, 1997).

2.4. Coleta de fezes e dosagens hormonais

A coleta de fezes foi realizada pelo pesquisador após a observação comportamental e anteriormente à cada observação comportamental foi realizada a limpeza na gaiola para facilitar a identificação das amostras. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer, aproximadamente a 5^0C. Posteriormente, estas amostras foram processadas para extração e dosagem do cortisol pela técnica ELISA de acordo com o protocolo de

Raminelli *et al.* (2001). Os coeficientes de variação intra e inter-ensaios para cortisol foram respectivamente: 3.8 e 21.9%.

2.5. Análise Estatística

2.5.1. Dados hormonais

Os valores das concentrações fecais de cortisol de todas as fases do estudo foram normalizados por meio de transformação logarítmica. Os dados foram analisados através do General Linear Models (GLM) e o pós-teste de Fisher, tendo como medidas repetidas "tipo de estressores" (Fases: F1, F2, F3, F4) e como fatores independentes o "sexo" do animal e o "tipo do suporte social" (parentesco), e como variável dependente as concentrações do cortisol fecal. Como na fase basal (F1) a coleta foi realizada em dias alternados, tendo sido obtidos 14 dados amostrais, foram feitas médias a cada dois dias de coletas consecutivos, resultando em sete dados amostrais, os quais foram comparados com os sete dados de observações diárias das demais fases experimentais. Para todos os testes o valor considerado significativo foi de $p < 0,05$ e tendência de $0,05 < p < 0,09$.

2.5.2. Dados comportamentais

Assim como para os dados hormonais, foram feitas médias a cada dois dados consecutivos de coleta comportamentais da fase basal, resultando em sete dados amostrais. Em seguida os sete dados amostrais de cada fase, para cada animal, foram somados e os valores obtidos foram utilizados nos seguintes testes estatísticos não-paramétricos: ANOVA de Friedman e Wilcoxon que foram utilizados para analisar o efeito do fator "tipo do agente estressor" (fases: F1, F2, F3, F4) e o teste de Mann-Withney para investigar o efeito "sexo" e "tipo do suporte social" sobre os comportamentos. Para todos os testes o valor considerado significativo foi de $p < 0,05$ e tendência de $0,05 < p < 0,09$.

Quadro 1- Definição dos comportamentos apresentados pelos animais quantificados em termos de duração ou freqüência durante o estudo.

COMPORTAMENTOS	DESCRIÇÃO	MEDIDA UTILIZADA
Sociais		
Catação Social	Ato de catar o pêlo e ser catado pelo companheiro da díade	Duração
Contato	Ato dos animais permanecerem com os corpos juntos	Duração
Piloereção simultânea	Ato dos animais, juntos, eriçarem o pelo do corpo e andarem de dorso arqueado	Freqüência
Individuais		
Deslocamento (aproximação/ afastamento)	O animal se aproxima e se afasta do outro, respectivamente, a uma distância mínima de 15 cm.	Freqüência
Autocatação	Ato de o animal catar o próprio pelo	Duração
Piloereção individual	Ato de o animal eriçar o pelo e andar com dorso arqueado	Freqüência
Marcação de cheiro	Ato de o animal esfregar a região anogenital ou supra-púbica em um substrato	Freqüência

2.5.3. Correlações e significância

Foi aplicado, a todos os dias do estudo, o teste de correlação de Spearman para analisar se existiam correlações entre as concentrações de cortisol e as freqüências ou períodos dos comportamentos. Os comportamentos foram agrupados em três categorias; a) comportamentos agonistas: somatório das freqüências de marcação e piloereção individual, b) comportamentos redutores de tensão: somatório dos períodos de autocatação, catação social e contato, a cada dia do experimento, c) deslocamentos: somatório das freqüências de aproximação e afastamento, a cada dia do experimento. Para todos os testes o valor considerado significativo foi de $p < 0,05$ e tendência de $0,05 < p < 0,09$.

3. RESULTADOS

3.1. Tipo do suporte social

O tipo do suporte social isoladamente não modulou os níveis gerais de cortisol, como apresentado na Tabela 1 ($\bar{x}$ ± EPM: Parentes = 213,3 ± 26,8 ng/g/ Não-parentes = 337,02 ± 35,01 ng/g). Entretanto, a resposta do cortisol aos agentes estressores foi influenciada pelo tipo do suporte social, como demonstra a interação significativa entre tipo do suporte social e fases na Tabela 1, e que será discutida a seguir.

Tabela 1- Resultados da análise estatística encontrado para as concentrações de cortisol no teste GLM para medidas repetidas, para as variáveis sexo, parentesco, fases e suas possíveis interações.

FATORES	F	p
Tipo do suporte social (Parentesco)	0,499	0,482
*Tipo do suporte social * Fases*	5,323	0,001 *
*Tipo do suporte social * Sexo*	6,264	0,015 *
*Tipo do suporte social * Sexo * Fases*	0,572	0,634
Tipo do agente estressor (Fases)	0,788	0,502
Sexo	4,294	0,042 *
*Fases * Sexo*	2,027	0,111

3.1.1. Fase basal

As díades parentes e não-parentes apresentaram níveis de cortisol semelhantes na fase basal (LSD: p=0.28) (Figura 1). Entretanto, os animais cujo suporte social foi provido por animais não-parentes possuíram maiores índices de afastamento na fase basal que os animais das díades parentes (Mann-Withney: U= 54,00; p= 0,04) (Tabela 2) e apresentaram uma correlação significativa positiva entre os níveis de cortisol basal e as freqüências basais de comportamentos agonísticos (Correlação de Spearman: p< 0,05, r= 0,39) (Tabela 3).

3.1.2. Ambiente novo pareado

Para as díades parentes (LSD: p= 0,20) e não-parentes (LSD: p= 0,34) não foram observadas alterações nas concentrações de cortisol nesta fase, com relação à fase basal e estas possuíram níveis deste hormônio semelhantes (LSD: p= 0,75) (Figura 1). Mas, as díades não-parentes reduziram a piloereção simultânea no ambiente novo pareado, com relação à fase basal (Wilcoxon: z= 2,62; p= 0,00) (Figura 5A).

3.1.3. Ambiente novo isolado

Mais uma vez as díades aparentadas não apresentaram alterações na concentração de cortisol, com relação às fases anteriores (LSD: F1xF3- p= 0,42, F2 x F3- p= 0,63). Entretanto, as díades não-parentes elevaram os níveis de cortisol quando transferidos para um ambiente novo isoladas socialmente, tanto com relação à fase basal quanto ao ambiente novo pareado (LSD: F1xF3- p= 0,00, F2xF3- p=0,00) (Figura 1). Consequentemente, os animais não-parentes apresentaram maiores concentrações de cortisol que os parentes nesta fase (LSD: p=0,02) (Figura 1).

3.1.4.Reunião

Novamente as díades cujo suporte social era um parente não alteraram os níveis de cortisol em função do agente estressor (F1x F4- p=0,96, F2x F4- p=0,18, F3x F4- p=0,39) (Figura 1). Aquelas cujo suporte social foi provido por um animal não-parente apresentaram fortes tendências a reduzir as concentrações deste hormônio na fase de reunião, com relação à fase de ambiente novo isolado e pareado (LSD: F1xF4- p= 0,35, F2xF4- p= 0,059, F3xF4- p= 0,052) (Figura 1). Assim, os animais parentes e não-parentes possuíram níveis de cortisol semelhantes nesta fase (LSD: p= 0,09) (Figura 1).

Além disto, as díades não-parentes também reduziram a piloereção simultânea na reunião (Wilcoxon: z= 2,80; p= 0,00), em relação à fase basal (Figura 5A) e apresentam

durante as 3 fases de estresse uma correlação negativa significativa entre o deslocamento e comportamentos redutores de tensão (Correlação de Spearman: p< 0,05, r= - 0,39) (Tabela 3).

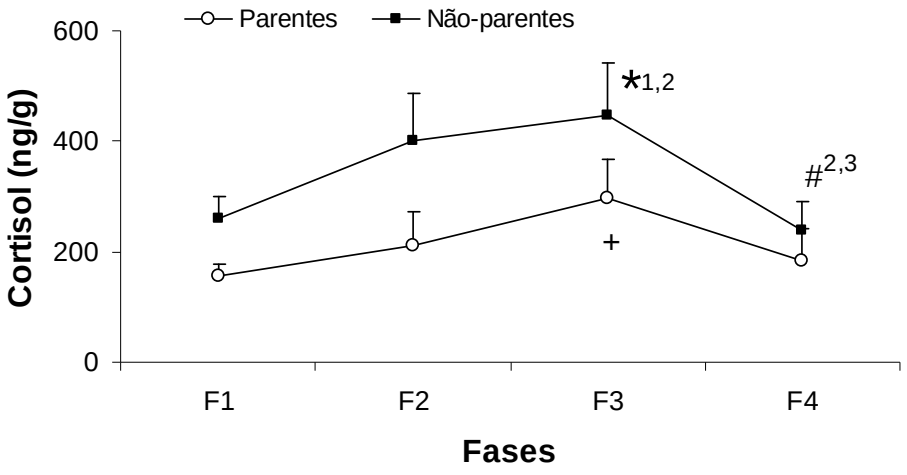


Figura 1 – Médias (+ EPM) do cortisol para díades parentes e não-parentes de *Callithrix jacchus*, em cada fase do estudo (F1= Fase basal, F2= Ambiente novo pareado, F3= ambiente novo isolado e F4= Reunião). * - Diferença significativa nos níveis de cortisol, dentro da díade, entre a respectiva fase e a (s) expressa (s) ao lado do símbolo, p< 0,05. # - Tendência à diferença significativa nos níveis de cortisol, dentro da díade, entre a respectiva fase e a (s) expressa (s) ao lado do símbolo entre as respectivas fases, 0,05 <p< 0,1. +- Diferença estatística significativa nos níveis de cortisol entre as díades parentes e não-parentes, na respectiva fase, p<0,05. Teste estatístico GLM para medidas repetidas e o pós-teste de Fisher.

3.2. Tipo do suporte social x Sexo

A interação entre o tipo do suporte social e o sexo das díades foi significativa, quando consideradas todas as fases do estudo conjuntamente (Tabela 1 e figura 2). As díades de machos aparentados apresentaram menores níveis de cortisol que as díades de fêmeas parentes (LSD: p=0,04) e não-parentes (LSD: p< 0,01). Além disto, os machos que contavam com o suporte social de um animal parente apresentaram menores freqüências de

deslocamento (aproximação e afastamento) do que os machos cujo suporte social era fornecido por um animal não-parente, considerando conjuntamente todas as fases do estudo (Mann-Withney: Aproximação- U= 69,00; p=0,00/ afastamento- U= 45,00; p< 0,01) (Tabela 2).

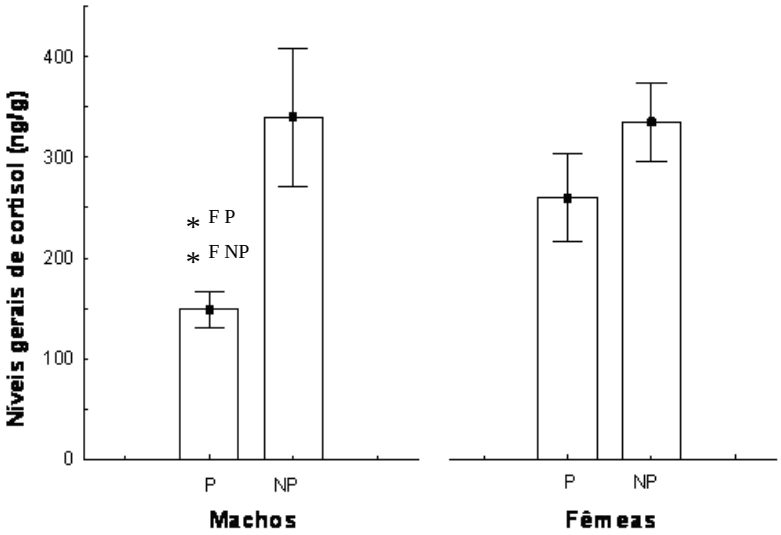


Figura 2 – Médias (± EPM) do cortisol para díades de machos (M) e fêmeas (F) de *Callithrix jacchus*, parentes (P) e não-parentes (NP), considerando conjuntamente todas as fases do estudo. * - Diferença significativa nos níveis de cortisol entre a respectiva díade e aquelas expressas ao lado do símbolo, p< 0,05. Teste estatístico GLM para medidas repetidas e o pós-teste de Fisher.

Apesar do tipo do suporte social modular a resposta do cortisol aos diferentes agentes estressores, como apresentado no item anterior, esta resposta não diferiu de acordo com o tipo do suporte social e sexo (Figura 3), como demonstra a ausência de interação significativa entre: tipo do suporte social, sexo das díades e fases (Tabela 1). Distintos perfis de resposta foram observados em função do tipo do suporte social e do sexo, quando realizou-se uma análise comportamental e testes de correlações.

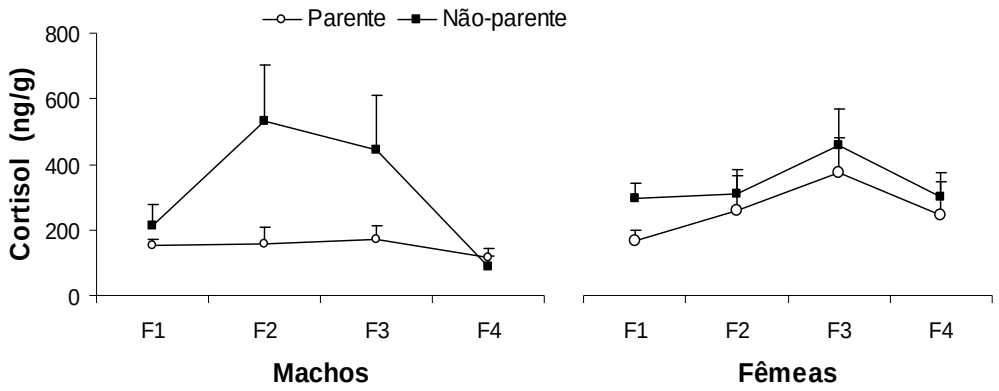


Figura 3 – Médias (± EPM) do cortisol para díades de machos e fêmeas de *Callithrix jacchus*, parentes e não-parentes, em cada fase do estudo (F1= Fase basal, F2= Ambiente novo pareado, F3= ambiente novo isolado e F4= Reunião). Teste estatístico GLM para medidas repetidas, $p < 0,05$.

3.2.1. Fase Basal

Os machos das díades cujo suporte social era fornecido por um animal não-parente apresentaram na fase basal maiores freqüências de deslocamento do que as díades de machos aparentados (Mann-Withney: Aproximação- U= 3,00; p=0,01/ afastamento- U= 1,00; $p < 0,01$) e também maiores períodos de contato (Mann-Withney: U=0,00, p=0,00) (Tabela 2).

As fêmeas não-parentes apresentaram correlações positivas significativas entre: a) comportamentos agonísticos e deslocamento (Correlação de Spearman: $p < 0,05$, r= 0,60) e b) entre o cortisol e os comportamentos agonísticos, na fase basal (Correlação de Spearman: $p < 0,05$, r= 0,44) (Tabela 3). Por outro lado, as díades de fêmeas cujo suporte foi fornecido por fêmeas parentes não apresentaram comportamentos sociais na mesma proporção que os machos parentes, pois assim como as fêmeas não-parentes, apresentaram

correlações positivas significativas entre comportamentos agonísticos e deslocamento (Correlação de Spearman: p< 0,05, r= 0,43) (Tabela 3).

3.*2.2 . Ambiente novo pareado*

Os machos não-parentes reduziram o período de contato durante o ambiente novo pareado, com relação à fase basal (Wilcoxon: z= 2,20, p= 0,02) (Figura 4B) e também reduziram as freqüências de piloereção simultânea (ANOVA de Friedman: X^2= 6,53; p= 0,03). Ao contrário das díades de machos cujo suporte social foi fornecido por um macho não parente, as díades de machos parentes elevaram o período de contato durante o ambiente novo pareado (Wilcoxon: z= 2,20, p= 0,02) (Figura 4A). Quanto às fêmeas estas não apresentaram alterações comportamentais em função do presente agente estressor.

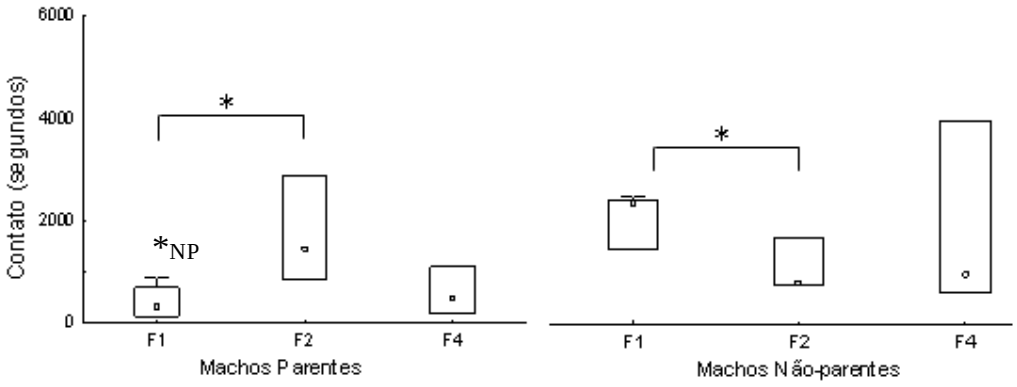


Figura 4- Box plot (□= mediana, caixa= quartil 25 e 75, bigodes= mínimo e máximo) dos períodos de contato de díades isossexuais de machos de *C. jacchus*, em cada fase do estudo (F1= Fase basal, F2= Ambiente novo pareado e F4= Reunião). A) díades de machos parentes B) Díades de machos não-parentes. * - Diferença significativa nos períodos de contato entre as respectivas fases, p< 0,05 ou respectivas díades em cada fase. Teste estatístico de ANOVA de Friedman e Wilcoxon.

3.2.3. Ambiente novo isolado

Não houve alterações comportamentais para os machos e para as fêmeas, com os diferentes suportes sociais em função do presente agente estressor.

3.2.4. Reunião

Os machos não-parentes reduziram a piloereção simultânea com relação à fase basal (ANOVA de Friedman: X^2 = 6,53; p=0,03) (Figura 5B). As díades de fêmeas cujo suporte social foi provido por outra fêmea não-parente, assim como os machos não-parentes, reduziram a piloereção simultânea na reunião com relação à fase basal (Wilcoxon: z=2.20, p=0.02) (Figura 5C).

3.2.5. Análise conjunta das fases de estresse (F2, F3 e F4)

Os machos não-parentes apresentaram uma correlação significativa negativa entre os comportamentos agonísticos e os redutores de tensão, quando foram levadas em consideração as três fases de estresse conjuntamente (Correlação de Spearman: p< 0,05, r= -0,56) (Tabela 3). Já os machos cujo suporte social foi provido por um animal parente mostraram-se mais afiliativos, pois apresentaram uma correlação significativa negativa entre o cortisol e os comportamentos redutores de tensão, quando foram levadas em consideração as três fases de estresse conjuntamente (Correlação de Spearman: p< 0,05, r= -0,47) (Tabela 3).

As fêmeas não-parentes apresentaram, assim como na fase basal, correlações positivas significativas entre comportamentos agonísticos e deslocamento (Correlação de Spearman: p< 0,05, r= 0,52) (Tabela 3). E as díades de fêmeas cujo suporte foi fornecido

por fêmeas parentes novamente não se apresentaram afiliativas, pois apresentaram correlações positivas significativas entre: a) comportamentos agonísticos e deslocamento (Correlação de Spearman: $p < 0,05$, $r = 0,53$) e b) entre o cortisol e os comportamentos agonísticos (Correlação de Spearman: $p < 0,05$, $r = 0,23$) (Tabela 3).

3.3. Sexo

O sexo isoladamente também modulou os níveis gerais de cortisol, as fêmeas apresentaram maiores níveis de cortisol que os machos (Tabela 1 e 2). Observou-se também que elas apresentaram maiores freqüências de marcação de cheiro (Mann-Withney: $U = 1027,50$; $p < 0,01$) e deslocamentos (Mann-Withney: aproximação; $U = 467,00$ $p < 0,01$; afastamento; $U = 492,50$; $p < 0,01$) do que os machos (Tabela 2). Entretanto, não foi observado dimorfismo sexual na resposta do cortisol aos agentes estressores, como demonstra a ausência de interação significativa entre fases e sexo na Tabela 1.

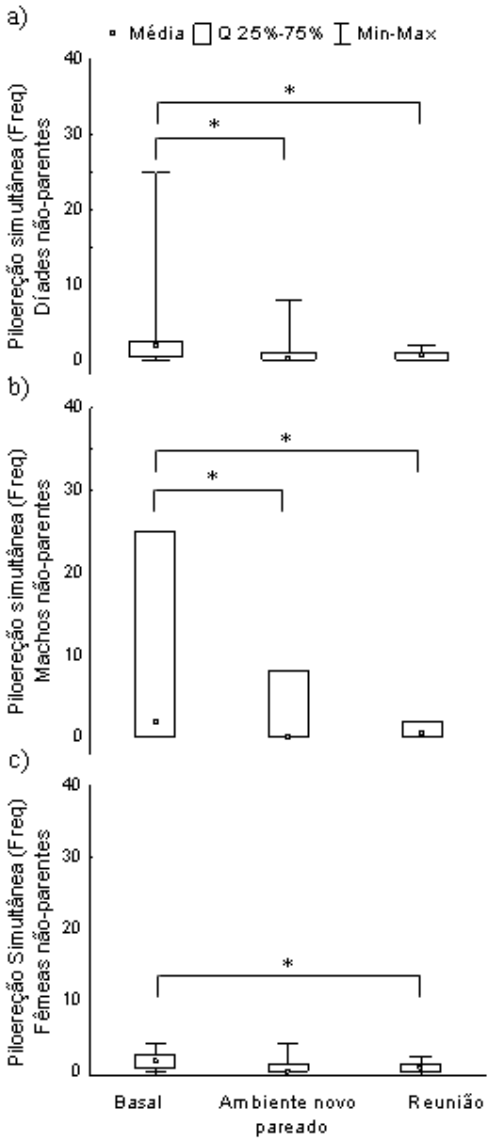


Figura 5- Box- plot das freqüências de piloereção simultânea em díades isossexuais de *C. jacchus*, em cada fase do estudo: a) díades não-parentes, b) Díades de machos não-parentes e c) Díades de fêmeas não-parentes. *- Diferença significativa nas freqüências de piloereção simultânea entre as respectivas fases, $p < 0,05$. Teste estatístico de ANOVA de Friedman e Wilcoxon.

Tabela 2 – Médias (± EPM) para as variáveis que apresentam diferenças estatisticamente significativas (cortisol e de atividades comportamentais) em díades isossexuais de machos e fêmeas, parentes e não-parentes, de *Callithrix jacchus* na fase basal e com os dados totalizados para todo o período do estudo (Teste estatístico de Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Variável	Basal	Todo experimento
Cortisol	--	F > M (300, 62± 29,11) (242,55±35,34).
Marcação de cheiro	--	F > M (42,36 ± 3,66) (27,14±2,87)
Aproximação	--	F > M (64,52 ± 5,58) (46,79 ±8,94)
	$_{M}$NP > $_{M}$P (74,83 ± 23,90) (22,58 ± 5,91)	$_{M}$NP > $_{M}$P (66,94 ± 16,46) (26,63 ± 3,25)
Afastamento	NP > P (67,39 ± 7,1) (45 ± 8,43)	F > M (65,85± 4,85) (44,18±7,06)
	$_{M}$NP > $_{M}$P (74,25 ± 13,41) (20,0 ± 6,39)	$_{M}$NP > $_{M}$P (66,02 ± 11,71) (22,33± 3,43)
Contato	$_{M}$NP > $_{M}$P (277,06 ± 44,19) (57,98 ± 15,78)	

F: fêmea e M: macho
NP: não-parente e P: parente
$_{M}$NP: machos não-parente e $_{M}$P: macho parente
-- : ausência de diferença estatística entre os sexos ou tipos de díades
>: maiores níveis hormonais ou do respectivo comportamento para a díade ou sexo expresso à esquerda do símbolo.

Tabela 3- Valores das correlações entre os níveis de cortisol e os comportamentos obtidos a partir de díades isossexuais de machos e fêmeas, parentes e não-parentes, de *C. jacchus* na fase basal e considerando-se as três fases de estresse conjuntamente (F2,F3,F4), utilizando os comportamentos agrupados (Teste de correlação de Spearman, $p < 0,05$).

Díades	**Fase basal**	**Três fases de estresse**
Parentes	--	--
Não-parentes	C*A (r=- 0,39)	D * RD (r= - 0,39)
Fêmeas parentes	D*A (r= 0,43)	D*A (r= 0,53) C*A (r= 0,23)
Fêmeas Não-parentes	D*A (r= 0,60) C*A (r= 0,44)	D*A (r= 0,52)
Machos parentes	--	C* RD (r= - 0,47)
Machos Não-parentes	--	D * RD (r= - 0,56)

D: deslocamentos (somatório da aproximação e afastamento)
A: comportamentos agonísticos (somatório das freqüências de marcação de cheiro e piloereção individual)
RD: comportamentos redutores de tensão (somatório dos períodos de contato e catação social)
C: cortisol
--: ausência de correlações significativas.

4. DISCUSSÃO

O tipo do suporte social, se provido por um co-específico parente ou não-parente, isoladamente, não modulou os níveis gerais de cortisol, mas influenciou a resposta deste hormônio aos diferentes agentes estressores. Os animais das díades parentes, quando não considera-se o sexo, não alteraram os níveis de cortisol e nenhum comportamento em função dos três agentes estressores (ambiente novo pareado, ambiente novo isolado e reunião). Isto sugere que o suporte social provido por um co-especifico de mesmo sexo aparentado fornece estabilidade fisiológica e psicológica ao indivíduo, sendo assim eficiente em tamponar a resposta comportamental e do cortisol aos agentes estressores aqui utilizados.

De acordo com os resultados do presente estudo, observou-se que os animais das díades não-parentes elevaram os níveis de cortisol quando em isolamento no ambiente novo, em relação ao ambiente novo pareado e à fase basal, e em níveis significativamente diferentes que aqueles observados para os animais das díades aparentadas. Esta elevação diferencial nos animais não-parentes pode ser decorrente da instabilidade nas relações sociais entre animais não aparentados quanto à expectativa de formação de um novo agrupamento social. Um estudo utilizando *C. kuhli* demonstra que díades isossexuais de machos não-parentes são menos estáveis do que aquelas de machos aparentados, pois quando era introduzida uma fêmea não familiar, os animais das díades não-parentes apresentavam aumento nos níveis de agonísmo e precisaram ser separados (Schaffner & French 2004). Além disto, na fase basal do presente estudo as díades de animais não-parentes apresentaram indicadores comportamentais de tensão mais elevados, representados por maiores freqüências de afastamento, do que os animais das díades

parentes, além de ter sido observado para estas díades correlações positivas entre o cortisol e comportamentos agonísticos.

Alguns estudos com seres humanos demonstram que apenas a disponibilidade de um suporte social, ou seja, o potencial acesso a um suporte social adequado durante uma situação de crise é suficiente para tamponar a resposta cardiovascular a estressores agudos (Uchino & Garvery, 1997; O'Donovan & Hughes 2008). No atual estudo, observou-se que a relação social entre animais aparentados parece gerar um quadro de maior estabilidade fisiológica do que entre os animais não-parentes, o que parece ter evitando as variações do cortisol para mais, mesmo quando os animais da díade foram separados e transferidos para um ambiente novo. Ademais, quando os animais das díades não-parentes foram reunidos novamente na gaiola de origem (F4) e foram novamente expostos à presença física do suporte social, a diminuição nos níveis de cortisol em relação às fases de ambiente novo pareado e isolado, não ocorreu de forma significativamente diferente do que foi observado nas díades de animais aparentados.

Embora os perfis de resposta das díades parentes e não-parentes tenham sido semelhantes em função dos diferentes agentes estressores, a reatividade daquelas cujo suporte social foi fornecido por um animal não-parente foi mais acentuada. Norcross & Newman (1999) em um estudo com *C. jacchus*, observaram que a presença do suporte social fornecido por um animal sem vínculos genéticos atenuava a elevação nos níveis de cortisol durante a resposta ao estresse, quando comparado com animais que se encontravam isolados. Apesar disto, estes níveis ainda permaneceram mais elevados que os basais, ou seja, os resultados do presente estudo são semelhantes àqueles que foram encontrados por estes autores, demonstrando que embora haja a redução da resposta ao

estresse pela presença de co-específico não-parente, este tamponamento não se mostra tão eficiente quanto aquele provido por um co-especifico aparentado.

Os resultados comportamentais obtidos neste estudo foram compatíveis com os dados hormonais e também demonstram um perfil de maior tensão e reatividade para as díades de animais não-parentes tanto na fase basal quanto sob exposição aos agentes estressores. Durante a fase basal os animais não-parentes afastaram-se mais frequentemente de seu companheiro e foi observado para os mesmos uma correlação positiva significativa entre o cortisol e os comportamentos agonísticos. Nas fases do ambiente novo pareado e de reunião os animais não-parentes reduziram a piloereção simultânea, que indica sincronia e afinidade entre os indivíduos (Silva e Sousa, 1997) e se expressa em contextos de defesa de território. Ainda nesta fase apresentaram uma correlação negativa entre os comportamentos redutores de tensão e o deslocamento, este último indicador de ansiedade em situações de estresse (Barros & Tomaz 2002; Dettling *et al.*2002).

Os resultados observados para o tipo do suporte social parecem estar também sob influência do sexo das díades, pois se tornam mais claros quando esta variável é também considerada. Quando todas as fases do estudo são analisadas em conjunto, observa-se que os machos parentes apresentam um perfil hormonal e comportamental de reduzida tensão, o que não é observado para as díades de fêmeas aparentadas. Os machos parentes apresentaram menores níveis de cortisol do que as fêmeas das díades parentes e não-aparentes e também apresentaram menores freqüências de deslocamento (aproximação e afastamento) do que os machos não-parentes, quando as quatro fases do estudo foram analisadas conjuntamente, para ambos em ambos os casos. As comparações entre as fêmeas revelaram que as parentes não apresentaram diferenças nos níveis de cortisol ou

dos comportamentos em relação àquelas que recebem suporte de uma fêmea não aparentada. Este perfil de maior tensão e competitividade para as fêmeas de *C. jacchus* confirmam o estudo de Gerber *et al.* (2002), no qual as fêmeas só reduziam a freqüência cardíaca e a locomoção quando eram expostas a um ambiente novo com seu parceiro sexual, mas não em companhia de um animal estranho do sexo oposto. Para os machos, a relação com o suporte social foi indiferente para a eficácia do suporte.

Apesar da resposta do cortisol aos agentes estressores (fases) não ter sido modulada pela interação entre o sexo e tipo do suporte social, a análise descritiva da Figura 3 em conjunto com os dados de reatividade comportamental aos agentes estressores permitem a construção de um perfil de resposta distinto em função do sexo e do tipo de suporte social. Em ambos os sexos os animais não-parentes apresentam respostas comportamentais de tensão e competitividade, pois apresentaram reduções na piloereção simultânea e, particularmente nos machos não-parentes, observou-se redução nos períodos de contato, quando estes se encontravam na F2 (ambiente novo pareado). Algumas correlações também apontam um perfil de tensão entre as díades não-parentes, de ambos os sexos: as fêmeas não-parentes apresentaram correlações positivas entre os comportamentos agonistas, deslocamentos e cortisol, tanto na fase basal isoladamente e quando se considerou as três fases sucessivas de estresse conjuntamente, os machos não-parentes apresentaram uma correlação negativa, durante as três fases de estresse, entre os comportamentos sociais de redução de tensão e a frequência de deslocamento, o que é tido como indicativo de ansiedade.

Um outro ponto interessante quanto aos perfis diz respeito ao fato de que as díades aparentadas de machos e fêmeas apresentaram perfis comportamentais distintos. Os machos expressaram afiliação entre si, pois elevaram a duração do contato no ambiente

novo pareado e utilizaram comportamentos sociais para reduzir tensão durante as três fases de estresse, demonstrada pela correlação negativa entre o cortisol e os comportamentos redutores de tensão (catação social, contato e autocatação). Provavelmente, devido a este mecanismo comportamental é que as díades de machos parentes foram aquelas que menos variaram as concentrações de cortisol ao longo do estudo como mostraram os resultados. Já as fêmeas aparentadas, apresentaram um perfil competitivo, inferidos a partir das correlações significativas entre os comportamentos agonísticos e indicadores de ansiedade (deslocamento) e destes com o cortisol, tanto na fase basal quanto durante as três fases de estresse.

No caso das fêmeas, estas apresentaram indicadores de tensão entre elas, sugerindo que o suporte social mesmo oferecido por um animal geneticamente relacionado não é suficiente para se sobrepor ao caráter competitivo, que parece ser inerente a este sexo em *C. jacchus*. De acordo com os trabalhos de Johnson *et al.* (1996) e Raminelli *et al*. (2001), as fêmeas de *C. jacchus* apresentam níveis médios de cortisol mais elevado do que os machos, e o mesmo resultado foi encontrado no presente estudo, quando se considerou os valores totais do cortisol. Estes resultados hormonais estiveram associados a freqüências totais mais elevadas de comportamentos agonísticos e indicadores de ansiedade (marcação de cheiro, aproximação e afastamento) do que os machos, corroborando os estudos de Johnson *et al.* (1996) e Smith & Abbott (1998). Estes diferentes perfis de respostas a situações de estresse em função do tipo do suporte social e do sexo podem ser decorrentes de adaptações relacionadas aos mecanismos de dispersão em *C. jacchus.* É sabido que são as fêmeas que migram com maior freqüência no ambiente natural (Araújo, 1996), principalmente durante a estação chuvosa tardia, e estão frequentemente estabelecendo novas hierarquias sociais (Sousa *et al. in press*). Assim elas estariam mais bem adaptadas a desafios ambientais e sociais e apresentariam um perfil competitivo para obterem sucesso

contra tais dificuldades. Além disto, muitas subordinadas tentam escapar da supressão reprodutiva (Saltzman *et al.* 1997; Ziegler & Sousa, 2002) o que aumenta os níveis de tensão no grupo social. Os machos, por outro lado, parecem constituir a base nuclear dos grupos sociais (Araújo, 1996; Sousa *et al. in press*), estabelecendo fortes laços sociais com outros machos do grupo em que vivem.

Esses achados reforçam a importância de sempre se levar em consideração o sexo do animal e não fazer generalizações de resposta para a espécie usando apenas um dos sexos no protocolo experimental. Ainda indicam a importância de, sempre que possível, mensurar varáveis fisiológicas e comportamentais para poder se chegar a resultados mais fidedignos. Pois, como foi demonstrado em nossos resultados, houve uma dissociação entre hormônio e comportamento na interação entre tipo do suporte social, sexo e fases (tipos de agente estressor). A dissociação entre os níveis hormonais e atividades comportamentais não são muitos raros em estudos sobre estresse, demonstrando que nem sempre o comportamento reflete claramente os estados fisiológicos do individuo (Norcross & Newman 1999; Hennessy *et al.* 2008). Barbosa & Mota (*in press*) demonstraram que *C. jacchus* apresentam perfis comportamentais distintos durante a semana e o fim de semana, nesta ultima condição o ambiente é mais tranqüilo, o que favorece aumento dos índices de comportamentos afiliativos. Apesar desta diferença comportamental não foi observado neste estudo alterações nos níveis de cortisol entre as respectivas condições.

Deste modo, os presentes resultados apóiam parcialmente a teoria do efeito tampão (*buffering model*), pois, esta teoria sugere que a presença de um suporte social, independentemente de sua relação social, durante uma situação de crise, tem ação atenuadora sobre os efeitos negativos da resposta ao estresse (Cohen & Wills 1985). No presente estudo, foi observado o tipo do suporte social (se provido por um animal parente

ou não-parente) modula diferentemente a resposta hormonal e comportamental aos estressores psicossociais e que esta modulação também difere em termos comportamentais de acordo com o sexo do animal. Alguns estudos com humanos e roedores corroboram os presentes resultados e apontam que não são todos os tipos de suporte social que atuam como moduladores eficazes em uma determinada situação de estresse, e que as relações genéticas ou decorrentes de adaptações sexo-específico, como no caso de maior afiliação entre os machos, interfere na intensidade do tamponamento da resposta ao estresse (Kirschbaum *et al.* 1995; Lepore 1998; Vaananen *et al.* 2005). Por exemplo, Hennessy *et al.* (2008) demonstram que fêmeas de cobaias transferidas para um novo ambiente apresentam redução nos níveis de cortisol quando recebem a compainha de um macho familiar, mas não de um macho estranho.

Os resultados obtidos neste estudo são de grande relevância, já que *Callithrix jacchus* é uma espécie com alto potencial para utilização como modelo animal em estudos relacionados ao estresse (Capitanio & Emborg 2008; Galvão-Coelho *et al.* 2008) e também porque reforçam, mais uma vez, a importância de analisar características qualitativas do suporte social, como o sexo e a relação social existente entre os indivíduos envolvidos, em pesquisas sobre estresse. Tais achados reforçam a teoria de que apenas um suporte social adequado pode atuar positivamente na saúde dos indivíduos: apresentando papel crítico durante situações de desafios, reduzindo a reatividade aos agentes estressores, como demonstrou o presente estudo, e também reduzindo os efeitos negativos associados a patologias relacionadas ao estresse como a depressão em humanos (Richmond & Ross 2000; Brummett *et al.* 2000).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Altmann, J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. Behaviour, **49**, 227-267.

Araujo, A. 1996. Influence des facteurs écologiques, comportementaux et démografhiques sur la dispersion de *Callithrix jacchus*. *Tese de Doutorado. Paris: Université Paris-Nord (parisXIII)* 234p.

Barbosa, M.N. & Mota, M.T.S. (*In press*). Behavioral and hormonal response of common marmosets, *Callithrix jacchus,* to two environmental conditions. *Primates.*

Barros, M. & Tomaz, C. 2002. Non-human primate models for investigating fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*, **26**, 187-201.

Blanchard, R., McKittrick C.R & Blanchard D.C. 2001. Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. *Physiol Behav*, **73**, 261-271.

Brummett, B.H., Barefoot, J.C., Siegler, I.C. & Steffens, D.C. 2000. Relation of subjective and received social support to clinical and self-report assessments of depressive symptoms in an elderly population. *J. Affect Disorders*, **61**, 41–50.

Capitanio, J.P. & Emborg, M.E. 2008. Contributions of non-human primates to neuroscience research. *Lancet*, **371**, 1126-1135.

Cohen, S. & Wills, T. 1985. Stress, Social Support, and the Buffering Hypothesis. *Psychol Bull*, **98**, 310-357.

Creel, S. 2001. Social dominance and stress hormones. *Trends Ecol Evol*, **16**, 491-497.

Cubicciotti, D.I., Mendoza S.P, Mason W.A & Sassenrath E.N. 1986. Differences between Saimiri sciureus and Callicebus moloch in physiological responsiveness: implications for behavior. *J Comp Psychol*, **100**, 385-391.

Detillion, C.E., Craft, T.K.S., Glasper, E.R., Prendergast, B.J. & DeVries, A.C. 2004. Social facilitation of wound heating. *Psychoneuroendocrinol*, **29**, 1004-1011.

Dettling, A., Feldon J & Pryce C.R. 2002. Early deprivation and behavioral and physiological responses to social separation novelty in the marmoset. *Pharmacol Biochem Behav*, **73**, 269.

Dettling, A.C., Schnell, C.R., Maier, C., Feldon, J. & Pryce, C.R. 2007. Behavioral and physiological effects of an infant neglect manipulation in a bi-parental, twinning primate: Impact is dependent on familial factors. *Psychoneuroendocrinol*, **32**, 331-349.

DeVries, A., Glasper E.R & Detillion C.E. 2003. Social modulation of stress responses. *Physiol Behav*, **79**, 339-407.

DeVries, A., Craft T.K.S, Glasper E.R, Neigh G.N & Alexander J.K. 2007. Social influences on stress responses and health. *Psychoneuroendocrinol*, **32**, 587-603.

Digby, L.J. 1995. Social-Organization in A Wild Population of *Callithrix jacchus* .2. Intragroup Social-Behavior. *Primates*, **36**, 361-375.

Ditzen, B., Schmidt S, Strauss B, Nater U.M, Ehlert U & Heinrichs M. 2008. Adult attachment and social support interact to reduce psychological but not cortisol responses to stress. *J Psychosom Res*, **64**, 479-486.

Eisenberger, N.I., Taylor, S.E., Gable, S.L., Hilmert, C.J. & Lieberman, M.D. 2008. Neural pathways link social support to attenuated neuroendocrine stress responses. *Neuroimage*, **35**, 1601–1612.

Galvão-Coelho, N., Silva H.P,A., Leão A & Sousa M.B.C. 2008. Common marmosets *(Callithrix jacchus)* as a potential animal model for studying psychological disorders associated with high and low responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Rev Neurosc*, **19**, 187-201.

Gerber, P., Schnell C.R & Anzenberger G. 2002. Behavioral and cardiophysiological responses of common marmosets *(Callithrix jacchus)* to social and environmental changes. *Primates*, **43**, 201-216.

Gerber, P. & Schnell C.R. 2004. Behavioral and Cardiophysiological response of commom marmosets *(Callithrix jacchus)* to confrontations with opposite-sexed strangers. *Primates*, **45**, 187-196.

Gust, D., Gordon T.P., Brodie A.R. & McClure H.M. 1996**.** Effect of companions in modulating stress associated with new group formation in juvenile rhesus macaques. *Physiol Behav*, **59,** 945.

Heinrichs, M., Baumgartner, T., Kirschbaum, C., & Ehlert, U. 2003. Social Support and Oxytocin Interact to Suppress Cortisol and Subjective Responses to Psychosocial Stress. *Biol Psychiatry*, **54**,1389–1398.

Helgeson, V.S. 2003. Social support and quality of life. *Qual. Life Res*, **12**, 25-31.

Hennessy, M., Kaiser S. & Sachser N. 2006. Cortisol responses and social buffering: a study throughout the life span. *Horm Behav*, **49**, 383-390.

Hennessy, M., Zate R. & Maken D.S. 2008. Social buffering of the cortisol response of adult female guinea pigs. *Physiol Behav*, **93**, 883-888.

Johnson, O., Kamilaris C.S, Calogero A.E & Chousos G.P. 1996. The Biobehavioral consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). *Soc Biol Psychiatry*, **40**, 317-337.

Kirschbaum, C., Filipp S.H & Hellhammer D.H. 1995. Sex-specific effects of social support on cortisol and subjective responses to acute psychological stress. *Psychosom Méd*, **57**, 23-31.

Leão, A.C. 2001. Variação hormonal e comportamental em sagüi comum *(Callithrix jacchus)*, durante as fases de formação, separação e reunião do par heterossexual. *Dissertação de Mestrado apresentada na UFRN*. Natal/RN. p 64.

Lepore, S.J. 1998. Problems and prospects for the social support-reactivity hypothesis. *Ann Behav. Med*, **20**, 257-269.

Mansfield, K. 2003. Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comparative Med*, **53**, 383-392.

Norcross, J. & Newman, J. 1999. Effects of separation and novelty on distress vocalizations and cortisol in the common marmoset *(Callithrix jacchus)*. *Am J Primatol*, **47**, 209-222.

Olsson, I. & Westlund, K. 2007. More than numbers matter: The effect of social factors on behaviour and welfare of laboratory rodents and non-human primates. *Appl Anim Behav Sci*, **103**, 229-254.

O'Donovan, A. & Hughes, B.M. 2008. Access to social support in life and in the laboratory: combined impact on cardiovascular reactivity to stress and state anxiety. *J. health Psychol*, **13**, 1147-1156.

Pryce, C.R., Dettling, A.C., Spengler, M., Schnell, C. & Feldon, J. 2004. Deprivation of parenting disrupts development of homeostatic and reward systems in marmoset monkey offspring. *Biol Psychiat*, **56**, 72-79.

Pryce, C., Feldon, J., Fuchs, E., Knuesel, I., Oertle, T., Sengstag, C., Spengler, M., Weber, E., Weston, A. & Jongen-Ré, A. 2005. Postnatal ontogeny of hippocampal expression of the mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the common marmoset monkey. *Eur.J.Neurosci*, **21**, 1521-1535.

Raminelli, J., Sousa, M.B.C., Cunha, M.S. & Barbosa, M.F.V. 2001. Morning and afternoon patterns of fecal excretion of cortisol among reproductive and non-reproductive male and female common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Biol Rhythm Res*, **32**, 159-167.

Richmond, C.A.M. & Ross, N.A. 2008. Social support, material circumstance and health behaviour: Influences on health in First Nation and Inuit communities of Canada. *Soc Sci Med*, **67**, 1423–1433.

Sachser, N., Durschlag, M. & Hirzel, D. 1998. Social Relationships and The Management Of Stress. *Psychoneuroendocrinol*, **23**, 891-904.

Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J., Severin, J.M. & Abbott, D.H. 1997**.** Escape from Social Suppression of Sexual Behavior and of Ovulation in Female Common Marmosets. *Ann Ny Acad Sci*, 567-570.

Sapolsky, R. 2004. Social status and health in humans And other animals. *Annu.Rev.Anthropo,* **33**, 393-418.

Schaffner, C. & French, J. 2004. Behavioral and Endocrine Responses in Male Marmosets to the Establishment of Multimale Breeding Groups: Evidence for Non-monopolizing Facultative Polyandry. *Int J Primatol*, **25**, 709-732.

Schapiro, S.J., Nehete, P.N., Perlman, J.E., Bloomsmith, M.A. & Sastry, K.J. 1998. Effects of dominance status and environmental enrichment on cell-mediated immunity in rhesus macaques. *Appl Anim Behav Sci*, **56**, 319-332.

Seeman, T.E. 1996. Social Ties and Health: The Benefits of Social Integration. AEP, **6**, 442-451.

Seeman, T.E & McEwen, B.S. 1996. Impact of social environment characteristics on neuroendocrine regulation. *Psychosom Méd,* **58**, 459-471.

Silva, H.P.A. & Sousa, M.B.C. 1997. Pair bond formation and its role in the stimulation of reproductive function in female common marmoset. *Inter. J. Primatol,* **18,** 386-399.

Smith, T.E. & Abbott, D.H. 1998. Behavioral discrimination between circumgenital odor from peri-ovulatory dominant and anovulatory female common marmosets *(Callithrix jacchus). Am J Primatol*, **46**, 265-284.

Smith, T., McGreer-Whitworth, B. & French, J. 1998. Close proximity of the heterosexual partner reduces the physiological and behavioral consequences of novel-cage housing in black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*). *Horm Behav*, **34**, 211-222.

Sousa, M.B.C., Albuquerque, A.C.S.D., Albuquerque, F.D., Araujo, A., Yamamoto, M.E. & Arruda, M.D. 2005. Behavioral strategies and hormonal profiles of dominant and subordinate common marmoset *(Callithrix jacchus)* females in wild monogamous groups. *Am J Primatol*, **67**, 37-50.

Sousa M.B.C, Leão A.C & Silva H.P.A. 2002. Sexual differences on behavior and fecal cortisol using the separation paradigm in common marmoset, *Callithrix jacchus*. *Abstracts, XIXth Congress of the International Primatological Society,* Pequim, China, p.94.

Sousa, M.B.C. & Ziegler, T. 1998**.** Diurnal variation on the excretion patterns of steroids in common marmoset *(Callithrix jacchus)* females. *Am J Primatol*, **46,** 105-117.

Sousa, M.B.C., Araújo, A., Yamamoto, M.E., Albuquerque, A.C., Albuquerque, F.S, Arruda, M.F. (*in press*). Emigration as a reproductive strategy of the Common Marmosets (*Callithrix jacchus*). in: LC Davis, SM Ford, LM Porter. (org.). The smallest anthropoids: the Marmoset/ Callimico radiation. 1 ed. Chicago: Springer, p. 1-27.

Stevenson, M. & Poole, T. 1978. An ethogram of common marmoset *(Callithrix jacchus)*: General behavioral repertoire. *Anim Behav*, **24**, 428-451.

Tauber, S.C., Schlumbohm, C., Schilg, L., Fuchs, E., Nau, R., & Gerber, J. 2006. Intrauterine Exposure to Dexamethasone Impairs Proliferation But Not Neuronal Differentiation in the Dentate Gyrus of Newborn Common Marmoset Monkeys. *Brain Pathol,* **16**, 209-217.

Uchino, B.N & Garvey, T.S., 1997 The availability of social support reduces cardiovascular reactivity to acute psychological stress. *J. Behav. Med*, **20**, 15-27.

Vaananen, A., Vahtera, J., Pentti, J. & Kivimaki, M. 2005. Sources of social support as determinants of psychiatric morbidity after severe life events: prospective cohort study of female employees. *J Psychosom Res*, **58**, 459-467.

Wittig, R.A., Crockford, C., Lehmann, J., Whitten, P.L., Seyfarth, R.M. & Cheney, D.L. 2008. Focused grooming networks and stress alleviation in wild female baboons. *Horm Behav*, **54**, 170-177.

Ziegler, T.E. & Sousa, M.B.C. 2002. Parent-daughter relationships and social controls on fertility in female common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Hormones and Behavior*, **42**, 356-367.

ARTIGO 3

INFLUÊNCIA DO AMBIENTE SOCIAL SOBRE A RESPOSTA AO ESTRESSE EM SAGÜI COMUM *(Callithrix jacchus)*: II. O POSTO SOCIAL

Nicole Leite Galvão Coelho e Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Curso de Pós-graduação em Psicobiologia, Caixa Postal, 1511- 59078-970 Natal, RN, Brasil

Endereço de correspondência:

Maria B.C. Sousa

Universidade Federal do Rio Grande

Departamento de Fisiologia

Caixa Postal, 1511

59078-970 NATAL, RN, BRASIL

Tel 55 84 3215-3410
Fax 55 84 3211-9206

E-mail: mdesousa@cb.ufrn

Artigo a ser submetido ao American Journal of Primatology.

RESUMO

O ambiente social tanto pode atuar beneficamente tamponando a resposta ao estresse, quanto pode ser fonte de agentes estressores. Em espécies de reprodução cooperativa, como é o caso do *Callithrix jacchus*, observa-se que os subordinados não apresentam altos níveis de cortisol, sendo os dominantes expostos a cargas alostáticas mais severas principalmente durante períodos de instabilidade social. Além disto, estudos com esta espécie demonstram que alguns subordinados chegam a contestar as relações de dominância. Neste estudo, se analisou como díades isossexuais de machos e fêmeas com diferentes postos sociais [dominante (D), subordinado (S) e com hierarquia de dominância indefinida (HDI): classificados de acordo com níveis basais dos hormônios sexuais] apresentaram resposta comportamental e fisiológica (cortisol) diante de estressores ambientais físicos e sociais, representados pelo ambiente novo (F2), privação social (F3) e reunião com o parceiro (F4). Os machos apresentaram diferenças nos níveis de cortisol em função do posto social e da fase do estudo, enquanto as fêmeas possuíram níveis de cortisol semelhantes. Apenas as díades HDI apresentaram alterações de cortisol ao longo das fases experimentais. Os machos HDI reduziram o cortisol na F2 e F4 e utilizaram comportamentos redutores de tensão, enquanto as fêmeas HDI elevaram o cortisol na F3 e F4 e apresentaram correlações entre este hormônio e comportamentos competitivos. Tais resultados apontam mais uma vez a importância de se incluir ambos os sexos em pesquisas relacionadas ao estresse e corrobora resultados de estudos que apontam a existência de maior nível de tensão entre os animais dominantes desta espécie ou com relações sociais indefinidas.

Palavras Chave: *Callithrix jacchus*, estresse, cortisol, esteróides sexuais, hierarquia de dominância.

1. INTRODUÇÃO

A relação entre posto social e indicadores fisiológicos da resposta ao estresse varia de acordo com a espécie. Abbott *et al.* (2003), em um estudo de revisão, apontam que, em diferentes espécies animais subordinados expostos a altos níveis de agressão por parte dos dominantes, à restrição do acesso a recursos alimentares, à ausência de suporte social ou a parceiros para reprodução, apresentam altos níveis de glicocorticóides. Em sociedades que apresentam hierarquias mais igualitárias, como é o caso de espécies de reprodução cooperativa, observa-se que, ao contrário do que ocorre em hierarquias despóticas, encontradas em algumas espécies de primatas do Velho Mundo, os subordinados, por não estarem expostos a cargas alostáticas tão severas (recebem suporte social constante), apresentam níveis de cortisol mais baixos do que os dominantes (Creel 2001; Abbott *et al.* 2003). Em algumas espécies cujos indivíduos não são reprodutores cooperativos, os animais dominantes também podem apresentar maiores níveis de cortisol que os subordinados. Nestes casos, acredita-se que os altos níveis de glicocorticóides estejam associados ao alto custo metabólico acoplado à reprodução (Barrett *et al.* 2002). Sendo assim, segundo Goymann & Wingfield (2004), o custo alostático de aquisição e manutenção do posto social é o principal preditor dos níveis de estresse nos animais dominantes ou subordinados, de modo que aquele que apresentar maiores cargas também expressará maiores concentrações de glicocorticóides. Durante situações de instabilidade social, o custo de se manter no status de dominante se eleva uma vez que o animal dominante passa a ser o centro das tensões, recebendo grandes cargas de estressores físicos e psicológicos, o que pode desencadear modificações no posto social (Bergman *et al.* 2005; Sapolsky 2005).

Em algumas espécies animais, além da diferença nos níveis de cortisol, são observadas diferenças nos hormônios sexuais associadas ao posto social (Robbins & Czekala 1997; Kraus *et al.* 1999; Rowe *et al.* 2004). Muller & Wrangham (2004) encontraram uma correlação positiva entre o posto de dominância e os níveis de testosterona urinária em machos de chimpanzés e Beehner *et al.* (2006), além de encontrarem uma correlação positiva entre o posto social e os níveis de testosterona em machos de babuínos, observaram que os níveis de testosterona são preditivos da trajetória social do animal, ou seja, do futuro posto social. Mazur & Booth (1998) em trabalho de revisão que aborda a relação entre testosterona e dominância em homens, sugerem que existe uma retroalimentação positiva entre testosterona e o posto de dominância, que se reforçam mutuamente. Todavia a correlação entre posto social e testosterona não foi encontrada para todas as espécies de primatas estudadas como, por exemplo, para *Cebus apella nigritus* (Lynch *et al.* 2002), *Macaca fuscata* (Barrett *et al.* 2002) e *Pan paniscus* (Sannen *et al.* 2004).

Para Sapolsky (1993), a correlação entre testosterona e dominância é percebida principalmente durante períodos de instabilidade social. Por outro lado, Klinkova *et al.* (2004) e Muller & Wrangham (2004), sugerem que esta correlação só é encontrada em sistemas de hierarquia de dominância com altos índices de agressividade. Todavia, estudos contrários à esta evidência apontam que a testosterona se correlaciona principalmente com o posto de dominância, e não com a agressão, como anteriormente informado, para os seres humanos (Mazur & Booth 1998; Archer 2006).

Poucos estudos investigam a relação entre testosterona e posto social em fêmeas. Um deles aponta a existência de uma correlação positiva entre essas duas variáveis em mulheres (Grant & France 2001). Entretanto vários estudos, em diferentes espécies,

demonstram que as fêmeas subordinadas sofrem inibição reprodutiva, a qual, muitas vezes, se correlaciona com a supressão de hormônios sexuais femininos, estrógenos e progesterona (Dalerum *et al.* 2006; Young *et al.* 2008).

Alguns estudos mais recentes sobre estresse, que utilizam animais altamente sociais como os primatas, levaram em consideração não apenas os fatores individuais que modulam a resposta ao estresse mas, também, os fatores como o tipo do agrupamento social, os níveis de hormônios sexuais e o posto social dos parceiros com os quais ele interage, uma vez que em muitas espécies os animais são sensíveis em identificar estas pistas nos seus parceiros sociais (Kitchen *et al.* 2003; Kitchen *et al.* 2005; Newton *et al.* 2005; Bergman *et al.* 2006) .

Callithrix jacchus é um primata neotropical de pequeno porte que vive em grupos sociais que possuem apenas um par reprodutor e dominante, onde tanto o macho quanto a fêmea participam do cuidado parental (Stevenson & Poole 1978). Os demais animais do grupo social podem sofrer supressão reprodutiva (Sousa *et al.* 2005) e auxiliam no cuidado da prole (Digby 1995). Existem estudos com grupos familiares de *C. jacchus* em cativeiro que não observam diferença significativa nos níveis basais de LH e andrógenos entre o pai, dominante, e os seus filhos (Baker *et al.* 1999), enquanto outros apontam diferenças significativas nos níveis de andrógenos fecais de pais e filhos de *C. jacchus* (Castro & Sousa, 2005). Em grupos não-familiares, os machos dominantes também possuem níveis de LH e testosterona significativamente mais elevados que os subordinados, e os machos subordinados são menos responsivos à administração de GnRH (Abbott *et al.* 1992). As fêmeas subordinadas de grupos familiares apresentam inibição reprodutiva contínua ou descontinuada, na dependência da presença de macho não aparentado no grupo social (Abbott *et al.* 1988; Saltzman *et al.* 1997). As subordinadas apresentam menores níveis de

estrógenos, progesterona e LH basal do que as dominantes (Saltzman *et al.* 1997; Abbott *et al.* 1998) e são menos responsivas à administração de GnRH (Abbott *et al.* 1988) e ACTH (Saltzman *et al.* 2000). Outros estudos mostram que em ambos os sexos, alguns animais subordinados escapam da supressão reprodutiva mesmo vivendo em grupos onde há um par dominante e reprodutor (Abbott 1985; Saltzman *et al.* 1997; Ziegler & Sousa, 2002).

Em um estudo realizado no nosso laboratório, que utilizou indicadores hormonais e comportamentais de dominância, foram identificadas díades de fêmeas com dois tipos de relação de dominância: um bem definido, onde uma fêmea era dominante e a outra subordinada e outro tipo cuja relação de dominância era indefinida. Além disto, observou-se que estas fêmeas respondiam de forma diferente à presença de um macho não aparentado (Alencar *et al.* 2006). O presente estudo amplia esta investigação incluindo díades isossexuais de machos de *C. jacchus* e usando outros tipos de desafios para investigar se diferentes tipos de relação de dominância modulam a resposta ao estresse. Para isto, utilizou-se a comparação entre os níveis dos hormônios sexuais basais de animais pareados em díades isossexuais de machos e fêmeas *Callithrix jacchus* para inferir a relação de dominância existente entre a díade. E a partir daí, analisou-se como machos e fêmeas com diferentes postos sociais apresentam a resposta comportamental e do cortisol diante de estressores ambientais prolongados de natureza física e social, representados pelo ambiente novo pareado, privação ambiente novo isolado e reunião com o parceiro.

2. MÉTODOS

2.1 Manutenção dos animais

Neste estudo foram utilizadas 14 díades de animais adultos de *Callithrix jacchus*, 8 díades de fêmeas e 6 de machos, igualmente divididas em animais aparentados e não-

parentes. Os animais das díades não-parentes de fêmeas (n= 4) e machos (n=3) foram pareados entre 10 e 20 dias antes do início do experimento e os animais das díades aparentadas (Fêmeas, n= 4; machos, n= 3) foram separadas das famílias aproximadamente de 30 a 60 dias antes do experimento, e cada uma das díades foi alojada em gaiola individual. Três díades de fêmeas aparentadas eram de mãe e filha e uma díade era de irmãs. As díades de machos aparentados eram de irmãos gêmeos.

Todos os animais viviam em cativeiro, no Núcleo de Primatologia da UFRN, sob condições naturais de iluminação, umidade e temperatura e estavam alojados em gaiolas localizadas na área externa da colônia. As gaiolas mediam 2,0 x 2,0 x 1,0 m e eram construídas em alvenaria, possuindo na sua parede anterior um visor unidirecional, através do qual foram realizadas as observações comportamentais. A parede posterior da gaiola, a qual continha a porta da gaiola e o teto eram construídos de tela em arame. Na porta, eram encaixados o bebedouro e o prato de alimentação. No interior da gaiola havia uma caixa-ninho, para descanso, pranchas de madeira e poleiros de galhos de plantas para o deslocamento dos animais. Todos os animais foram habituados à presença do tratador anteriormente ao estudo.

2.2. Classificação quanto à razão dos hormônios sexuais basais existente entre os componentes das díades

2.2.1 Fêmeas

A classificação da condição reprodutiva das fêmeas durante a fase basal com relação aos hormônios sexuais foi baseada nos estudos de Ziegler & Sousa (2002) e Alencar *et al.* (2006). Resumidamente, quando havia uma elevação da progesterona fecal, com o pico atingindo 1,5 vezes os valores médios dos três dias anteriores e essa elevação

permaneceu por no mínimo 3 dados amostrais consecutivos, ou seja 6 dias, foi caracterizada a ocorrência de fase luteal e as fêmeas foram consideradas com ciclo ovulatório regular. Quando a progesterona fecal se elevou e apresentou picos inferiores ou superiores aos valores estabelecidos, mas com duração inferior a 6 dias consecutivos, as fêmeas foram classificadas como apresentando ciclo ovulatório irregular. Quando a progesterona não variou as fêmeas foram consideradas não ciclando. As díades em que uma fêmea apresentava ovulação regular e a outra encontrava-se inibida ou com ciclo ovulatório irregular, foram classificadas como apresentando relações de dominância clara (HDC= Hierarquia de Dominância Clara); nestes casos a fêmea que ciclava foi considerada dominante (D) e a sua companheira como subordinada (S). As díades em que as duas fêmeas apresentaram situação reprodutiva semelhante, ou seja, ambas apresentavam ciclos regulares, irregulares ou não ciclavam foram classificadas como apresentando relações de dominância indefinida (HDI- Hierarquia de Dominância Indefinida).

2.2.2 Machos

A classificação da condição dos machos na fase basal em relação aos hormônios sexuais foi baseada nas definições Abbott (1993), Abbott *et al.* (1992) e Abbott *et al.* (1998). Nestes estudos os machos de *C. jacchus* dominantes apresentavam níveis de testosterona mais elevados do que os subordinados tanto em grupos não-familiares como em grupos recém-formados. Sendo assim, em nosso estudo as díades em que os animais apresentavam diferença estatisticamente significativa nos níveis de andrógenos foram consideradas como apresentando relações de dominância clara (HDC) e o animal com a maior concentração de andrógenos foi considerado dominante (D) e o de menor nível como subordinado (S). As díades onde os animais apresentavam níveis estatisticamente

semelhantes foram consideradas como apresentando hierarquia de dominância indefinida (HDI).

2.3. Delineamento experimental

O estudo foi desenvolvido em quatro fases experimentais que compreenderam a fase basal e três diferentes tipos de manipulação que funcionaram como potenciais agentes estressores, com duração total de 49 dias para cada díade. Estes procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética do departamento de Fisiologia da UFRN.

A fase basal teve a duração de 4 semanas (28 dias), e as demais de 1 semana (7 dias) cada. Em todas as fases do estudo foram realizadas coletas de fezes para dosagem hormonal e observações comportamentais de 30 minutos, realizadas no intervalo entre 06h30min e 09h30min da manhã, para evitar a influência circadiana sobre as variáveis em estudo (Sousa & Ziegler, 1998). Na fase basal as coletas de dados comportamentais e fezes para análise hormonal foram realizadas em dias alternados, totalizando 14 sessões de observações e, diariamente, nas demais fases.

Fase 1 - Basal: Os animais já encontravam-se pareados e os dados foram coletados para estabelecer os perfis comportamentais e hormonais de cada animal.

Fase 2 - Ambiente novo pareado: As díades foram transferidas para uma nova gaiola, semelhante à original.

Fase 3 – Ambiente novo isolado: A díade foi separada e cada animal foi colocado, isolado, em uma nova gaiola, semelhantemente à fase basal e sem contato olfativo ou visual entre eles.

Fase 4 - Reunião: Consistiu na reunião da díade na gaiola de origem.

2.4. Observações comportamentais

As observações comportamentais foram realizadas a partir do visor unidirecional das gaiolas por um total de quatro observadores (A,B,C,D), sendo A, B, C, para os machos parentes e B, C e D para os machos não-parentes, fêmeas parentes e não-parentes. O teste de fidedignidade realizado entre os observadores envolvidos foi de 92%.O método utilizado nas observações comportamentais foi o focal contínuo totalizando as freqüências e as durações dos comportamentos durante o intervalo de 30 minutos para cada animal (Altman, 1974). Os comportamentos registrados, cujas descrições estão detalhadas no Quadro 1, foram adaptados do etograma de Stevenson & Poole (1978). Em todas as fases deste estudo foram registrados os comportamentos individuais de autocatação, marcação de cheiro e piloereção individual. Os comportamentos de catação social, piloereção simultânea, contato, aproximação e afastamento foram registrados apenas nas fases em que os animais encontravam-se pareados (F1, F2 e F4).

Embora exerçam outras funções sinalizadoras, dentro do contexto de resposta ao estresse os comportamentos de marcação de cheiro e deslocamento (aproximação e afastamento) são considerados indicadores de ansiedade (Cubicciotti *et al.* 1986; Barros & Tomaz 2002; Dettling *et al.* 2002). A piloereção individual além de ser considerada como um comportamento agonístico é também um indicador da atividade do sistema nervoso autônomo simpático (Dettling *et al.* 2002). Os comportamentos de catação social, autocatação e contato são considerados como redutores de tensão, uma vez que induzem a secreção de ocitocina que reduz o funcionamento do eixo HPA (DeVries *et al.*2003; Detillion *et al.* 2004; DeVries *et al.* 2007; Wittig *et al.* 2008). A piloereção simultânea é um comportamento coordenado e de defesa territorial (Silva & Sousa, 1997).

Quadro 1- Definição dos comportamentos apresentados pelos animais e que foram quantificados em termos de duração ou freqüência durante o estudo.

COMPORTAMENTOS	DESCRIÇÃO	MEDIDA UTILIZADA
Sociais		
Catação Social	Ato de catar o pêlo e ser catado pelo companheiro da díade	Duração
Contato	Ato dos animais permanecerem com os corpos juntos	Duração
Piloereção simultânea	Ato dos animais, juntos, eriçarem o pelo do corpo e andarem de dorso arqueado	Freqüência
Individuais		
Deslocamento (aproximação/ afastamento)	O animal se aproxima e se afasta do outro, respectivamente, a uma distância mínima de 15 cm.	Freqüência
Autocatação	Ato de o animal catar o próprio pelo	Duração
Piloereção individual	Ato de o animal eriçar o pelo e andar com dorso arqueado	Freqüência
Marcação de cheiro	Ato de o animal esfregar a região anogenital ou supra-púbica em um substrato	Freqüência

2.5. Coleta de fezes e dosagens hormonais

A coleta de fezes foi realizada pelo pesquisador após a observação comportamental e anteriormente à cada observação comportamental foi realizada a limpeza na gaiola para facilitar a identificação das amostras. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer, aproximadamente a 5^0C. Posteriormente, estas amostras foram processadas para extração e dosagem dos hormônios esteróides pela técnica ELISA de acordo com o protocolo de Raminelli *et al.* (2001) (Cortisol), Castro & Sousa (2005) (Andrógenos) e Sousa e Ziegler (1998) (progesterona). Os coeficientes de variação intra e inter-ensaios para o cortisol foram respectivamente: 3,8 e 21,9%, para os andrógenos: 2,1 e 24,5% e para a progesterona: 3,2 e 23,06%.

2.6. Análise Estatística

Neste estudo a análise estatística levou em consideração as informações sobre o posto social dos animais, analisando a interação entre este fator e os agentes estressores (fases), sexo do indivíduo e relação de parentesco entre as díades (tipo do suporte social).

2.6.1. Dados hormonais

Os valores dos andrógenos basais e da fase de reunião foram normalizados, por meio de transformação logarítmica, e posteriormente foi aplicado o teste T para medidas independentes para determinar o posto social dos machos nas respectivas fases. Os valores das concentrações fecais de cortisol de todas as fases do estudo foram também foram normalizados por meio de transformação logarítmica. E os dados foram analisados através do General Linear Models (GLM) e o pós-teste de Fisher, tendo como medidas repetidas as "tipo de estressores" (Fases: F1, F2, F3, F4) e como fatores independentes o "sexo" do animal, "posto social" e a "relação de parentesco", e como variável dependente as

concentrações do cortisol fecal. Como na fase basal (F1) a coleta foi realizada em dias alternados, tendo sido obtidos 14 dados amostrais, foram feitas médias a cada dois dias de coletas consecutivos, resultando em sete dados amostrais, os quais foram comparados com os sete dados de observações diárias das demais fases experimentais. Para todos os testes o valor considerado significativo foi de $p < 0,05$ e tendência de $0,05 < p < 0,09$.

2.6.2. Dados comportamentais

Assim como para os dados hormonais, foram feitas médias a cada dois dados consecutivos de coleta comportamentais da fase basal, resultando em sete dados amostrais. Em seguida, os sete dados amostrais de cada fase, para cada animal, foram somados e os valores obtidos foram utilizados nos seguintes testes estatísticos não-paramétricos: ANOVA de Friedman e Wilcoxon que foram utilizados para analisar o efeito do fator "tipo do agente estressor" (fases: F1, F2, F3, F4), e o teste de Mann-Withney para estabelecer o efeito "sexo" e o teste ANOVA Kruskal-Wallis com pós-teste de comparações múltiplas das médias dos Postos (MCMR) para determinar o efeito do posto social sobre os comportamentos. Para todos os testes o valor considerado significativo foi de $p < 0,05$ e tendência de $0,05 < p < 0,09$.

2.6.3. Correlações e significância

Foi aplicado, a todos os dias do estudo, o teste de correlação de Spearman para analisar se existiam correlações entre as concentrações de cortisol e as freqüências ou duração dos comportamentos. Os comportamentos foram agrupados em três categorias; a) comportamentos agonistas: somatório das freqüências de marcação e piloereção individual, b) comportamentos redutores de tensão: somatório dos períodos de autocatação, catação social e contato, a cada dia do experimento, c) deslocamentos: somatório das freqüências

de aproximação e afastamento, a cada dia do experimento. Para todos os testes o valor considerado significativo foi de $p < 0,05$ e tendência de $0,05 < p < 0,09$.

3. RESULTADOS

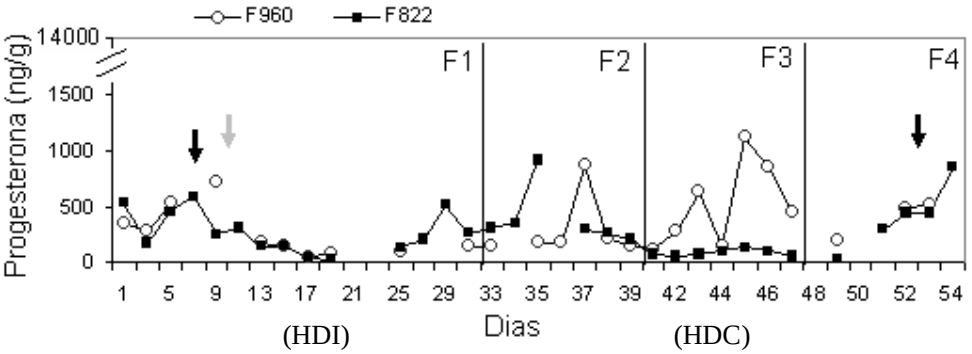
3.1. Caracterização dos postos sociais de acordo com os níveis dos hormônios sexuais

3.1.1. Fêmeas

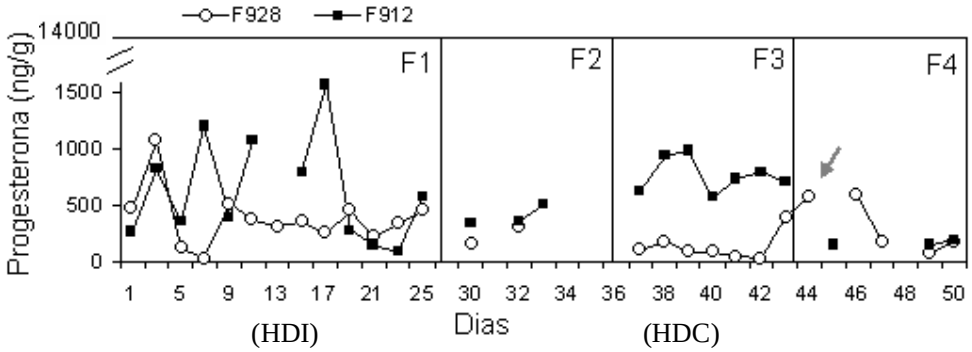
Cinco das oitos díades de fêmeas apresentaram função ovariana similar, de modo que as 10 fêmeas foram incluídas no grupo de hierarquia de dominância indefinida (HDI). Duas díades eram aparentadas e em uma destas as duas fêmeas apresentaram ciclo ovulatório regular (fd1= 822/960) e ambas as fêmeas da outra díade apresentaram ciclo ovulatório irregular (fd2= 912/928). As três outras díades HDI eram não-parentes e as 6 fêmeas destas díades apresentaram os ciclos inibidos (fd3= 902/940), (fd4= 844/896) e (fd5= 916/920 (Figura 1 e Tabela 1).

Três díades de fêmeas apresentaram diferenças entre o quadro hormonal da dupla e foram classificadas como apresentando hierarquia de dominância clara (HDC). Duas destas díades eram aparentadas (fd6= 836/972; fd 7= 800/974) e uma era não aparentada (fd8= 906/712). Em todas estas díades uma das fêmeas apresentou ciclo regular e a outra, ciclo irregular. As fêmeas do número 836, 974 e 906 apresentaram ciclo regular e foram consideradas dominantes (Figura 1 e Tabela 1).

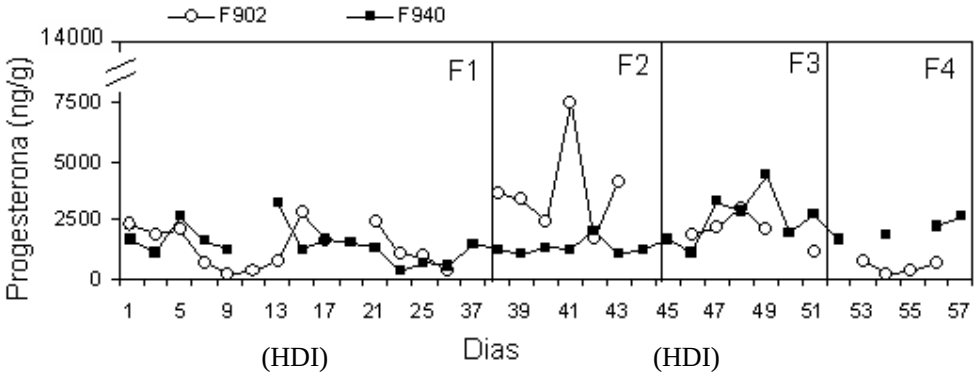
a)


F960
F822
Progesterona (ng/g)
14000
1500
1000
500
0
F1
F2
F3
F4
1 5 9 13 17 21 25 29 33 35 37 39 42 44 46 48 50 52 54
Dias
(HDI)
(HDC)

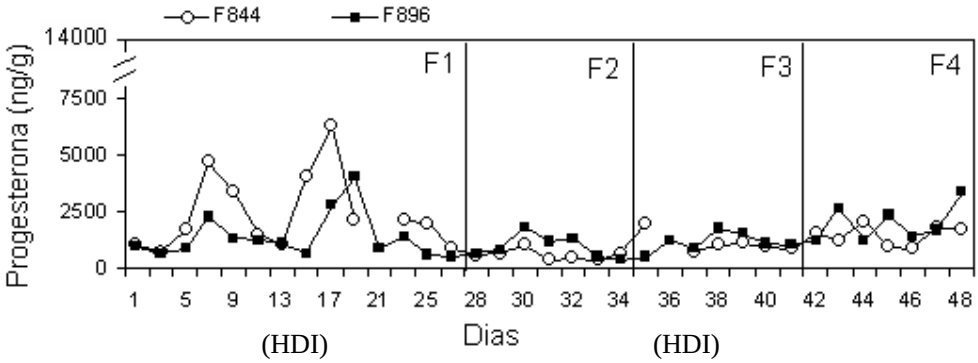
b)


F928
F912
Progesterona (ng/g)
14000
1500
1000
500
0
F1
F2
F3
F4
1 5 9 13 17 21 25 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50
Dias
(HDI)
(HDC)

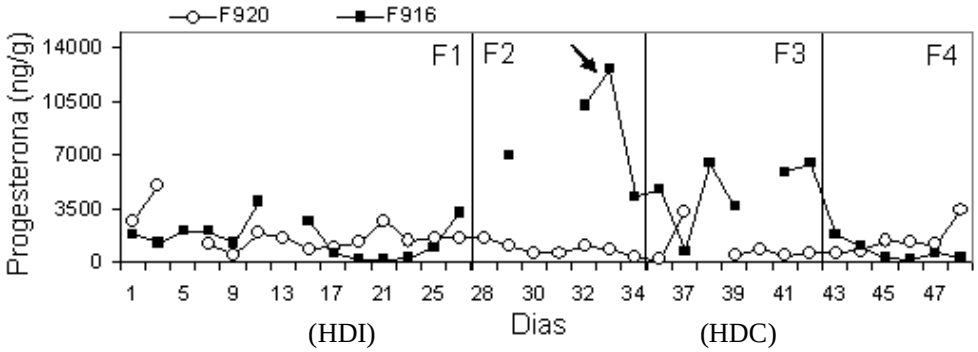
c)


F902
F940
Progesterona (ng/g)
14000
7500
5000
2500
0
F1
F2
F3
F4
1 5 9 13 17 21 25 37 39 41 43 45 47 49 51 53 55 57
Dias
(HDI)
(HDI)

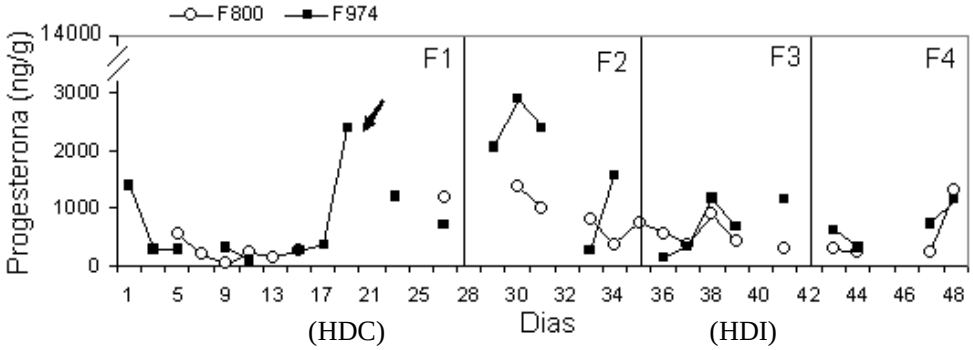
d)


F844
F896
Progesterona (ng/g)
14000
7500
5000
2500
0
F1
F2
F3
F4
1 5 9 13 17 21 25 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48
Dias
(HDI)
(HDI)

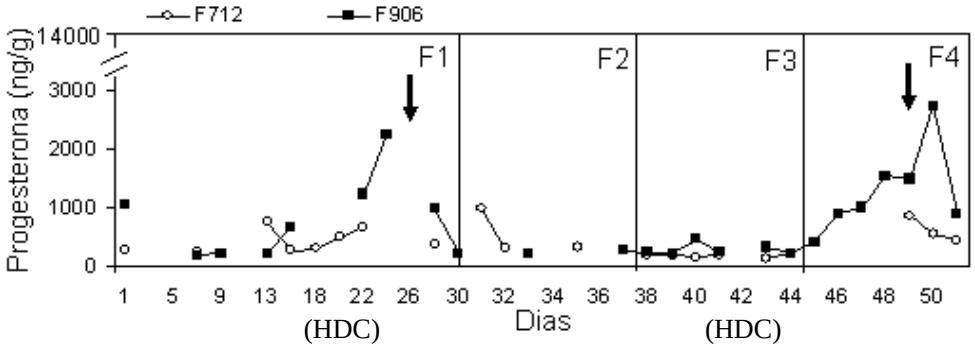
e)



f)



g)



h)

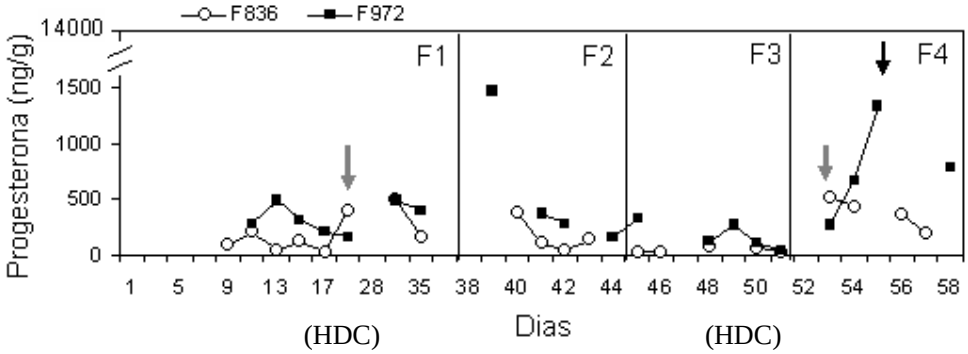


Figura 1 – Perfil da concentração de progesterona de fêmeas de *C. jacchus* durante o estudo (F1- Basal, F2- Ambiente novo pareado, F3- Ambiente novo isolado e F4- Reunião). Classificação segundo a fase basal: Díades HDI (Hierarquia de Dominância Indefinida) Parentes: a) 960/822, b) 928/912 e Não- parentes: c) 902/940, d) 844/896, e)

920/916; Díades HDC (Hierarquia de Dominância Clara) Parentes: f) 800/974, h) 836/972 e Não- parentes: g) 712/906. As setas indicam a ocorrência de fase luteal, sendo que as pretas indicam as fêmeas cujos ciclos ovarianos estão expressos por linhas quadrados fechados (■), e as setas cinza indicam as fêmeas cujos ciclos ovarianos estão expressos por linhas com círculos vazios (○).

3.1.2. Machos

Três díades de machos não demonstraram diferenças significativas entre os níveis de andrógenos basais, e foram classificadas como sem hierarquia de dominância definida (HDI). Destas díades, duas eram formadas por animais parentes (md1= 779/781; t= 1,34, p= 0,1 e md2= 869/871; t= -0,9, p= 0,38) e uma era não-parente (md3= 847/883; t= -0,16, p= 0,87). Os níveis de andrógenos basais apresentaram-se estatisticamente diferentes nas outras três díades de machos e estas foram classificadas como apresentando hierarquia de dominância clara (HDC). Destas uma era de animais parentes (md4= 775/777; t=- 6,05; p< 0,001) e duas não-parentes (md5= 765/791; t= 2,91, p= 0,01 e md6= 995/1045; t= -2,58, p= 0,02). Os machos 777, 765 e 1045 foram considerados dominantes (Figura 2 e Tabela 1).

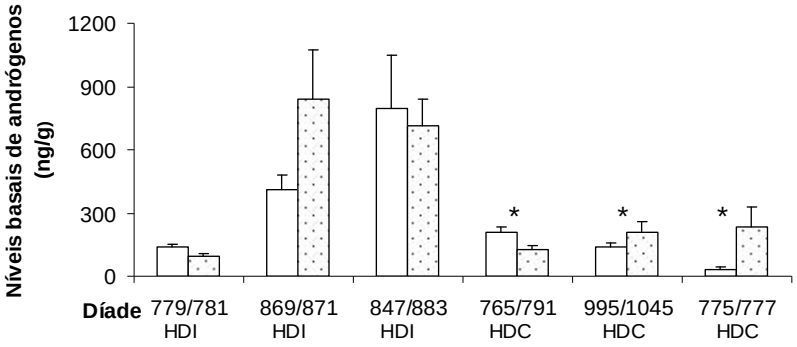


Figura 2 – Média (± EPM) dos andrógenos fecais na fase basal de machos de *C. jacchus.* HDI- Díades com Hierarquia de Dominância Indefinida (Parentes- 779/781, 869/871; Não-parentes- 847/883) e HDC- Díades com Hierarquia de Dominância Clara (Parentes-775/777; Não-parentes- 765/791, 995/1045). *- Diferença estatística significativa entre os machos das díades, p< 0,05. Test T para medidas independentes.

Tabela 1- Caracterização dos postos sociais de acordo com os níveis dos hormônios sexuais basais

Díades Fêmeas	**Parentesco**	**Idade no início do experimento**	**Razão dos hormônios sexuais**	**Posto social**	***Díades Machos***	**Parentesco**	**Idade no início do experimento**	**Razão dos hormônios sexuais**	**Posto social**
822 **960**	Mãe Filha	64 meses 55 meses	Similar: ambas ovulando	**HDI**	**779** **781**	Irmãos gêmeos	21 meses	Similar (Wilcoxon: p=0,1)	**HDI**
912 **928**	Irmãs	38 meses 31 meses	Similar: ambas com ciclo irregular	**HDI**	**869** **871**	Irmãos gêmeos	24 meses	Similar (Wilcoxon: p=0,38)	**HDI**
902 **940**	Não-parentes	36 meses 22 meses	Similar: ambas com ciclo inibido	**HDI**	**874** **883**	Não-parentes	29 meses 23 meses	Similar (Wilcoxon: p=0,87)	**HDI**
844 **896**	Não-parentes	56 meses 42 meses	Similar: ambas com ciclo inibido	**HDI**	**775** **777**	Irmãos gêmeos	24 meses	Diferente (Wilcoxon: p<0,001)	**775=S** **777=D**
916 **920**	Não-parentes	32 meses 30 meses	Similar: ambas com ciclo inibido	**HDI**	**765** **791**	Não-parentes	67 meses 64 meses	Diferente (Wilcoxon: p=0,01)	**765=D** **791=S**
836 **972**	Mãe Filha	65 meses 15 meses	Diferente: 836: ciclo regular 972: ciclo irregular	**836= D** **972= S**	**995** **1045**	Não-parentes	32 meses 26 meses	Diferente (Wilcoxon: p<0,02)	**995=S** **1045= D**
800 **974**	Mãe Filha	72 meses 15 meses	Diferente: 800: ciclo regular 974: ciclo irregular	**800= D** **974= S**					
906 **712**	Não-parentes	78 meses 58 meses	Diferente: 906: ciclo regular 712: ciclo irregular	**906= D** **712= S**					

HDI= Hierarquia de dominância indefinida; D= dominante; S=subordinado

3.2. Posto social

O posto social isoladamente modulou os níveis totais de cortisol, como está apontado na Tabela 2. No entanto, a interação entre o posto social e o tipo do suporte social, ou seja, a relação de parentesco existente entre a díade, não influenciou nas concentrações deste hormônio (Tabela 2). Entretanto, a interação dos fatores sexo e posto social modularam os níveis gerais deste hormônio, como demonstra a interação significativa na Tabela 2. Considerando conjuntamente as quatro fases do estudo as fêmeas dominantes, subordinadas e HDI possuíram níveis semelhantes de cortisol (LSD: D*S- p= 0,778; D*HDI- p= 0,809; S*HDI- p= 0,566) (Figura 3).

Diferentemente das fêmeas, os machos apresentaram níveis distintos de cortisol de acordo com o posto social, quando consideramos todos os dias do estudo em conjunto. Os machos dominantes possuíram maiores níveis de cortisol (LSD: p=0,000) do que os subordinados e do que os machos HDI (LSD: p= 0,002) e os machos HDI e subordinados possuíram níveis de cortisol semelhantes (LSD: p=0,09) (Figura 3).

Tabela 2- Resultados da análise estatística encontrado para as concentrações de cortisol segundo o teste GLM para medidas repetidas, para as variáveis sexo, parentesco, fases e suas possíveis interações.

FATORES	F	p
Posto Social	5,979	0,004*
*Posto social*Sexo*	4,862	0,011*
*Posto social * Parentesco*	1,227	0,300
Fase (tipo do agente estressor)	0,788	0,502
*Fase * Posto social*	1,265	0,275
*Fases * Posto social * Sexo*	3,159	0,005*

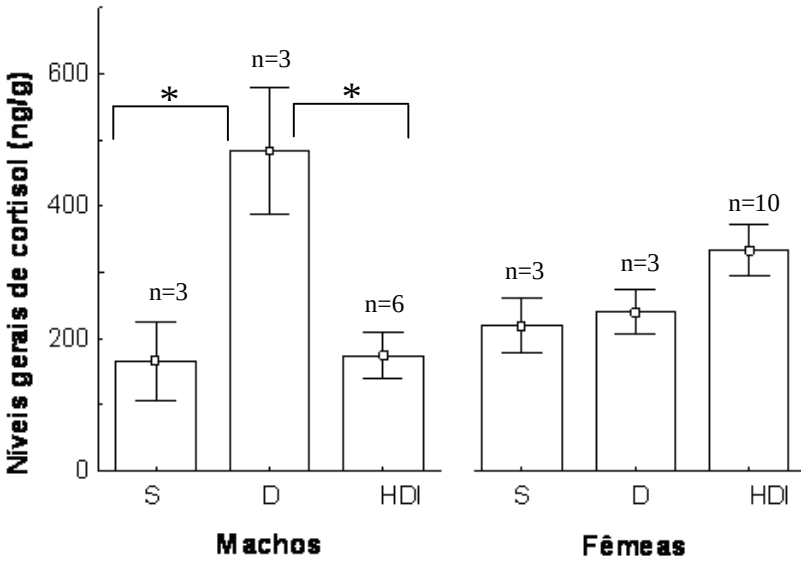


Figura 3- Médias (± EPM) do cortisol fecal de machos e fêmeas de *C. jacchus,* com diferentes postos sociais (S= subordinado, D= dominante, HDI= Hierarquia de dominância indefinida), considerando todas as fases do estudo conjuntamente. n: número de animais, * Diferença estatística significativa, dentro do sexo, entre os respectivos postos sociais, $p < 0,05$. Teste estatístico GLM para medidas repetidas e o pós-teste de Fisher.

3.3. Posto social x fases experimentais

A interação entre os fatores posto social e fases não foi significativa em modular os níveis gerais de cortisol, como está apontado na Tabela 2. Entretanto, foi observado que machos e fêmeas com distintos postos sociais apresentaram diferentes respostas do cortisol aos agentes estressores, como demonstra a interação significativa entre fases, posto social e sexo na Tabela 2 (Figura 4).

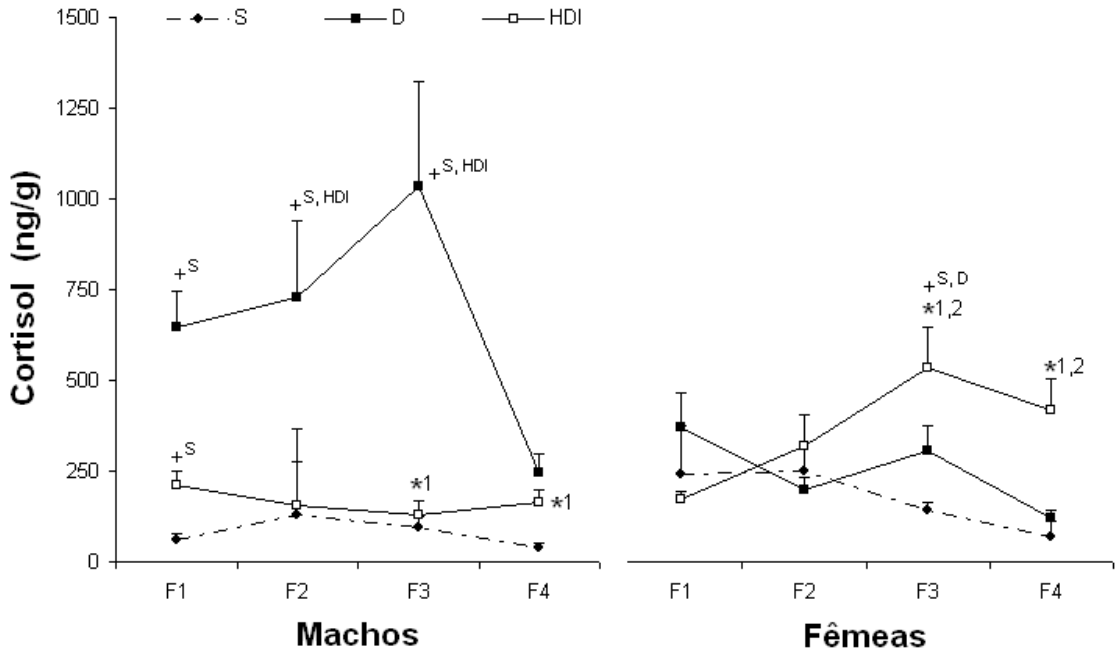


Figura 4 – Médias (+ EPM) do cortisol fecal de machos e fêmeas de *C. jacchus,* com diferentes postos sociais (S= subordinado, D= dominante, HDI= Hierarquia de dominância indefinida), em cada fase do estudo (F1- fase basal, F2- ambiente novo pareado, F3- Ambiente novo isolado, reunião). * = Diferença estatística significativa, dentro do sexo, entre a respectiva fase e a (s) fase (s) expressa (s) no (s) número (s) ao lado do símbolo, p< 0,05. + = Diferença estatística significativa, dentro do sexo, entre a respectiva díade e a (s) expressa (s) na (s) letra (s) ao lado do símbolo, p< 0,05. Teste estatístico GLM para medidas repetidas e o pós-teste de Fisher.

3.3.1. Fase basal

Na fase basal, as fêmeas não apresentaram diferenças nas concentrações de cortisol de acordo com o posto social (LSD: D*S- p= 0,911; D*HDI- p= 0,51; S*HDI- p= 0,65) (Figura 4). Entretanto, foram encontradas correlações positivas significativas paras as fêmeas dominantes, sendo estas entre: o cortisol e deslocamento (Correlação de Spearman:

p<0,05, r= 0,51), e b) e entre o cortisol e comportamentos agonísticos (Correlação de Spearman: p<0,05, r= 0, 49).

Por outro lado, os machos dominantes apresentaram níveis de cortisol semelhantes ao dos machos HDI (LSD: p= 0,473), entretanto maiores que as dos subordinados (LSD: D x S- p= 0,022/ HDI x S- p= 0,033) (Figura 4). Ainda na fase basal os machos dominantes ($\bar{x}$ ± EPM = 23,66 ± 3,28) apresentaram maiores freqüências de piloereção do que os subordinados ($\bar{x}$ ± EPM = 1,83 ± 0,92) (Kruskal-wallis: H=8,14, p= 0,017/ MCMR test: z=2,83, p= 0,01).

3.3.2. Ambiente novo pareado

A mudança de ambiente físico acompanhado do parceiro social não provocou alterações nos níveis de cortisol das fêmeas dominantes (LSD: p= 0,79), subordinadas (LSD: p= 0,54) e HDI (LSD: p= 0,68), com relação à fase basal. E ambas as três continuaram apresentando níveis de cortisol semelhantes (LSD: D*S- p= 0,66; D*HDI- p= 0,75; S*HDI- p= 0,39) (Figura 4).

E dentre os machos apenas os HDI alteraram as concentrações de cortisol em função deste agente estressor, reduzindo as concentrações com relação à fase basal (LSD: p= 0,036). Como conseqüência, os machos HDI passaram a apresentar níveis de cortisol semelhante aos subordinados (LSD: F2- p= 0,934) e ambos menores que o dominante (LSD: HDI x D- p= 0,030 e D x S- p= 0,032) (Figura 4).

3.3.3. Ambiente novo isolado

Apenas as fêmeas das díades HDI apresentaram variações significativas nos níveis de cortisol em função da mudança ambiental isolada socialmente. Houve um aumento nos

níveis deste hormônio com relação à fase basal (LSD: p< 0,001) e ao ambiente novo pareado (LSD: p= 0,001). Como conseqüência, passaram a apresentar maiores níveis de cortisol que as subordinadas (LSD: p=0,03) (LSD: D*S- p= 0,20; D*HDI- p= 0,65) (Figura 4).

Os machos dominantes (LSD: F1*F3-p= 0,19, F2* F3- p=0,99), subordinados (LSD: F1*F3-p=0,30, F2* F3- p=0,75) e HDI (LSD: F1*F3-p= 0,21, F2* F3- p=0,39) não reagiram significativamente a este agente estressor. E assim como na fase anterior, os machos HDI apresentaram níveis de cortisol semelhante aos subordinados (LSD: p= 0,563) e ambos menores que o dominante (LSD: HDI x D- p= 0,042 e D x S- p= 0,018) (Figura 4).

3.3.4. Reunião

Nesta fase, as fêmeas HDI novamente apresentaram elevações nos níveis de cortisol, tanto com relação à fase basal (LSD: p= 0,002) quanto com relação ao ambiente novo pareado (LSD: p= 0,007). Apesar disto, mais uma vez as fêmeas dos diferentes postos sociais apresentaram concentrações de cortisol semelhantes (LSD: D*S- p= 0,66; D*HDI- p= 0,31; S*HDI- p= 0,15) (Figura 4).

Dentre os machos, os HDI reduziram novamente o cortisol com relação à fase basal (LSD: p= 0,014) e nesta situação, os machos dos três postos sociais apresentam níveis de cortisol semelhantes (LSD: HDI x D- p= 0,168, D x S- p= 0,082 e S x HDI- p= 0,566) (Figura 4). Os machos HDI ainda reduziram o afastamento na fase de reunião com relação à fase basal (Wilcoxon; z=2,2, p=0,27).

3.3.5. Análise conjunta das fases de estresse

A análise comportamental utilizando os valores totais da atividade comportamental nas três fases de estresse conjuntamente, revelou que as fêmeas HDI exibiram menores períodos de contato (Kruskal-wallis: H= 7,02, p=0,02; MCMR test: z= 2,03; p= 0,02) do que as fêmeas das díades HDC e menores freqüências de piloereção simultânea (Kruskal-wallis H= 6,72, p=0, 34; MCMR test: z= 2,25, p=0,03) do que as fêmeas subordinadas (Tabela 3).

Ainda analisando conjuntamente as três fases de estresse, as fêmeas HDI e as dominantes exibiram correlações positivas entre os comportamentos agonísticos e o deslocamento, (Tabela 4) e apenas as fêmeas dominantes também apresentaram uma correlação positiva entre o cortisol e os comportamentos agonísticos (Tabela 4).

Considerando ainda a análise conjunta dos dados, os machos dominantes apresentaram maiores freqüências de piloereção individual (Kruskal-wallis: H= 14,12, p= 0,00; MCMR test: z= 3,33, p=0,00) do que os subordinados (Tabela 3) e maiores freqüência de afastamento (Kruskal-wallis: H= 9,78, p= 0,00; MCMR test: z= 2,68, p= 0,02) e menores freqüências de piloereção simultânea do que os machos das díades HDI (Kruskal-wallis: H= 13,18, p< 0,00; MCMR test: z= 2,47, p= 0,04) (Tabela 3). Os machos subordinados apresentaram menores freqüências de marcação (Kruskal-wallis: H= 10,30, p=0,00/ MCMR test: z= 3,2, p=0,00) e piloereção individual (Kruskal-wallis: H= 14,12, p=0,00/ MCMR test: z= 3,26, p=0,00) do que os machos HDI (Tabela 3).

Os machos dominantes exibiram também correlações negativas entre o cortisol e o deslocamento ao longo das fases de estresse, enquanto, os machos HDI exibiram uma correlação negativa entre o cortisol e os comportamentos redutores de tensão, nesta mesma situação (Tabela 4).

Tabela 3- Médias (± EPM) dos somatórios dos valores dos comportamentos de díades isossexuais de sagüi machos e fêmeas, com diferentes postos sociais, considerando-se as três fases de estresse em conjunto (Teste estatístico de Kruskal-vallis e pós teste de comparação múltipla dos valores de p; $p \leq 0,05$).

Variáveis	Três fases de estresse
Marcação de cheiro	$_{M}$HDI > $_{M}$S (35,66 ± 4,59) (12,66 ± 2,14)
Piloereção individual	$_{M}$D = $_{M}$HDI > $_{M}$S (15,11 ± 4,7) (6,55± 1,29) (0,33 ± 0,16)
Afastamento	$_{M}$D > $_{M}$HDI (76,33 ±30,26) (20,58 ± 3,2)
Contato	$_{F}$HDC > $_{F}$HDI (2753,66 ±1027,88) (1114,05 ± 246,36)
Piloereção Simultânea	$_{F}$S > $_{F}$HDI (5,5 ± 2,48) (0,75 ± 0,28) $_{M}$HDI > $_{M}$D (4 ± 1,33) (0,17 ± 0,17)

$_{M}$HDI: Machos com hierarquia de dominância indefinida
$_{M}$D: Machos dominantes
$_{M}$S: Machos subordinados
$_{F}$HDI: Fêmeas com hierarquia de dominância indefinida
$_{F}$S: Fêmeas subordinada
$_{F}$HDC: Fêmeas com clara hierarquia de dominância
>: Médias de comportamentos maiores para o grupo a esquerda do símbolo
=: Médias de comportamentos semelhantes entre os grupos

Tabela 4- Correlações significativas entre o cortisol e os comportamentos obtidas a partir de díades isossexuais de sagüi machos e fêmeas, com diferentes postos sociais, utilizando o somatório dos comportamentos, considerando-se as três fases de estresse em conjunto (Teste de correlação de Spearman, $p \leq 0,05$)

Animais	Três fases de estresse
Fêmeas subordinadas	--
Fêmeas dominantes	Agonísmo x deslocamento (r= 0,43) Cortisol x agonísmo (r= 0,37)
Fêmeas HDI	Agonísmo x deslocamento (r= 0,43)
Machos subordinados	--
Machos dominantes	Cortisol x deslocamento (r= -0, 40).
Machos HDI	Cortisol x redutores de tensão (r= - 0,44)

HDI: Hierarquia de dominância indefinida
--: Ausência de correlações significativas

3.4. Perfil dos hormônios sexuais e classificação das díades nas fases de estresse

Dentre as cinco díades de fêmeas classificadas como HDI, três delas passaram a apresentar diferenças hormonais significativas durante as fases de estresse e os animais 916 e 928 passaram apresentar ovulação, enquanto a fêmea 960 deixou de apresentar ovulação. Das três díades de fêmeas HDC, duas passaram a não apresentar diferença nos níveis dos hormônios sexuais e apenas a fêmea 906 apresentou ovulação ao longo de todo, enquanto sua companheira 712 apresentou ovulação irregular, sendo assim a diferença na relação dos níveis de hormônios sexuais encontrado na fase basal foi mantida também durante as fases de estresse (Figura 1).

As 3 díades de machos classificadas na fase basal como HDI, continuaram a não apresentar diferenças nesses hormônios durante a fase de reunião e duas das 3 díades HDC deixaram de expressar esta diferença. Apenas o macho 1045 permaneceu com os valores hormonais superiores em ambas as fases do estudo e o animal 777 apresentou uma tendência a manter a diferença hormonal na reunião (777-775: t=-2.03, p= 0.07/ 779-78:, t=0.57, p= 0.58/ 869-871: t=0.23, p= 0.82/ 847-883: t=-1.13 p= 0.26/ 765-791: t=1.16, p= 0.30/ 995-1045: t=-4.35, p= 0.01).

4. DISCUSSÃO

Os presentes resultados mostram que cinco das oito díades de fêmeas adultas de *C. jacchus* estudadas não apresentaram diferença nos perfis de funcionamento ovariano entre si, na fase basal, e foram classificadas como HDI. Apenas as fêmeas de três díades apresentaram diferenças entre elas, na regularidade dos ciclos ovulatórios e foram classificadas como HDC. A fêmea que apresentou ciclo regular, com aumento da progesterona sugestivo de fase luteal, foi considerada dominante, enquanto aquela que apresentou ciclo irregular foi considerada subordinada. Nas díades HDI, ambas as fêmeas que compunham a díade apresentaram ciclos regulares, irregulares ou inibidos. Estes achados demonstram flexibilidade nas relações sociais entre fêmeas, particularmente na ausência de potenciais parceiros para o acasalamento. A relação de dominância entre as fêmeas parece está mais vinculada a diferença de idade entre elas do que a condição de parentesco, como é apresentado na tabela 1. As díades classificadas como HDC eram formadas por fêmeas com diferença de idade maior que 15 meses.

Das seis díades de machos, metade apresentou diferença significativa nas concentrações de andrógenos fecais sendo, portanto, classificadas como HDC e os animais que apresentaram níveis mais elevados foram considerados dominantes. As díades que não apresentaram diferença estatística entre os níveis de andrógenos basais dos seus componentes foram classificadas como HDI.

Drews afirma que entre uma díade de indivíduos pode-se esperar ou não que se estabeleça uma relação hierárquica de dominância social (Drews 1993). A ausência de diferença nos níveis de hormônios sexuais basais registrados neste estudo, provavelmente reflete o não estabelecimento de uma hierarquia de dominância bem definida entre os animais das díades. Estudos anteriores com *C. jacchus* demonstram que, em alguns grupos,

animais subordinados podem contestar a relação de dominância e, logo que isto ocorre, esses animais deixam de sofrer a inibição reprodutiva, e passam a apresentar níveis de hormônios sexuais semelhantes ao do dominante (Abbott. 1985; Saltzman *et al.* 2004; Alencar *et al.* 2006). Saltzman *et al.* (2004) demonstraram que em grupos familiares de *C. jacchus* filhas que não apresentam comportamentos de submissão para a mãe, reprodutora, são aquelas que apresentam ciclo ovulatório normal e quando o pai é substituído por um macho estranho, elas passam a reproduzir em conjunto com a mãe e muitas filhas chegam a conceber. Alencar *et al.* (2006) observaram, utilizando perfis comportamentais e níveis de progesterona, que em oito díades de fêmeas de sagüi comum, quatro apresentavam relação de dominância contestada e ambas as fêmeas possuíam ciclos ovulatórios normais ou ambas encontraram-se inibidas. Nas díades com relação de dominância clara, a fêmea dominante apresentava ciclo regular e a subordinada encontrava-se com ciclo irregular ou inibida. Abbott (1985), demonstrou que um macho subordinado vivendo em um grupo não-familiar apresentou montas com ejaculação na fêmea dominante e foi também o único animal subordinado que apresentou níveis de testosterona semelhantes ao dominante. Estas indicações sugerem que a dominância de machos e fêmeas de *C. jacchus* se expressa a partir de um conjunto de associações de mecanismos hormonais e comportamentais. No presente estudo ocorre uma limitação quanto à classificação do posto social do animal, isto porque esta foi realizada apenas com base em dados hormonais.

O posto social do animal influenciou nos níveis gerais de cortisol de maneira diferente entre os sexos. Entretanto, a interação entre posto social e tipo do suporte social (relação de parentesco entre as díades) não modulou os níveis deste hormônio. Todavia, é importante ressaltar que o tipo do suporte social, associado à variável sexo, interferiu nas concentrações de cortisol desta mesma amostra, como foi discutido em Galvão-Coelho e Sousa (submetido). As fêmeas com distintos postos sociais não apresentaram diferenças

nos níveis de cortisol tanto totais, quanto na fase basal, ambiente novo pareado e reunião. Estudos realizados em cativeiro e no campo, com esta espécie, apontam tanto a ausência de diferença significativa nos níveis de cortisol basal de fêmeas dominantes e subordinadas (Ziegler & Sousa 2002; Sousa *et al.* 2005), quanto apontam diferenças, na dependência da condição reprodutiva (Sousa e Ziegler 1998; Raminelli *et al.* 2000).

Apesar da ausência de diferença nos níveis de cortisol entre as fêmeas com diferentes condições de ciclicidade ovariana, na maior parte do estudo, os resultados comportamentais e a resposta do cortisol aos agentes estressores permitem inferir distintos perfis sociais. Na fase basal, as fêmeas dominantes apresentaram correlações entre o cortisol, comportamentos agonísticos e indicadores de ansiedade, demonstrando assim um perfil mais tenso do que as demais díades de fêmeas, mesmo ambas possuindo concentrações de cortisol semelhantes. Ao longo das três fases de estresse, tanto as fêmeas dominantes quanto as das díades HDI apresentaram um perfil de maior ansiedade e competição do que as subordinadas, como demonstraram as correlações significativas para este período. Apesar disto, as díades de fêmeas com dominância clara (HDC) apresentaram um melhor convívio social, já que possuíam maiores índices de contato quando as três fases de estresse são analisadas conjuntamente. E as subordinadas apresentam, na mesma situação, maiores freqüências de piloereção simultânea que as HDI. Além disto, as fêmeas das díades HDI elevaram o cortisol tanto quando sofrem mudança do ambiente físico sem companhia social, quanto durante a reunião na gaiola de origem, corroborando com o perfil de maior ansiedade e tensão. Provavelmente, este perfil de resposta deve-se ao fato de que entre estes animais não está estabelecida uma relação de dominância clara, gerando uma intensificação da disputa quando são introduzidos desafios adicionais à convivência entre os animais. Por outro lado, a ausência de elevações nos níveis de cortisol e de comportamentos competitivos pelas fêmeas dominantes e subordinadas, revela que as

fêmeas das díades HDC mantêm as relações sociais mesmo durante períodos de instabilidade. Outros estudos com fêmeas desta espécie também discutem a influência dos níveis basais dos hormônios sexuais sobre a resposta aos estressores sociais. Alencar *et al.* (2006) também demonstraram que as fêmeas de díades com dominância contestada e as dominantes, de díades com dominância clara, apresentam altos índices de comportamentos agressivos, sendo estes níveis maiores do que os expressados pelas subordinadas. Saltzman *et al.* (1996) verificaram que fêmeas que possuíam ciclos ovulatórios normais ou oligociclos apresentam-se mais agressivas, do que fêmeas acíclicas, em resposta a um teste de encontro com um estranho co-específico do sexo oposto e observaram também que quando estas mesmas fêmeas foram expostas à formação de novos grupos sociais, as acíclicas eram mais propensas a assumirem o posto de subordinada e quando uma fêmea cíclica ou oligocíclica tornava-se subordinada, era menos tolerada pela dominante e recebia mais agressão, sendo na maioria dos casos expulsa do grupo. Estas evidências, em conjunto com os dados do presente estudo, sugerem que fêmeas em condições reprodutivas diferentes, respondem de forma diferente a agentes estressores sociais. Sugerem ainda que a relação social entre elas seja menos conflituosa quando a diferença no potencial reprodutivo é maior, ou seja, quanto mais semelhantes são os níveis basais de seus hormônios sexuais mais tensa é a relação entre as fêmeas, uma vez que maior é a probabilidade de inversão dos postos sociais e, consequentemente, as chances de obtenção do sucesso reprodutivo.

Para os machos, foram observadas diferenças nos níveis de cortisol de acordo com o posto social. Considerando todos os dias do estudo em conjunto, os machos dominantes apresentaram um perfil mais tenso do que os demais machos, pois possuíram maiores níveis de cortisol que ambos. Um perfil comportamental tenso também foi observado para os machos dominantes quando se investigou as três fases de estresse conjuntamente. Estes

possuíram maiores freqüências de piloereção individual do que os subordinados, que é um comportamento indicador de competitividade e funcionalidade do sistema nervoso autônomo (Dettling *et al.* 2002) e maiores freqüências de afastamento e menores de piloereção simultânea, que é um comportamento que exige sincronia entre os indivíduos (Silva & Sousa, 1997). Ainda considerando-se as três fases de estresse conjuntamente, os machos HDI expressaram mais frequentemente comportamentos agonistas (marcação e piloereção individual) do que os subordinados.

Entretanto, quando consideramos as fases de estresse individualmente, este perfil hormonal sofre ligeiras modificações na fase basal e de reunião. Na fase basal, os machos dominantes apresentaram níveis de cortisol semelhante aos HDI e estes dois maiores que os subordinados. Além disto, os machos dominantes apresentaram maior atividade do sistema nervoso autônomo do que os subordinados, como sugerem as maiores freqüências de piloereção individual encontrada para estes machos com relação aos subordinados. Durante a fase de ambiente novo pareado os machos HDI passaram a apresentar níveis de cortisol semelhantes aos subordinados, em função de uma redução nas concentrações deste hormônio dos machos HDI. E tanto os machos HDI quanto os subordinados possuíram menores níveis que os dominantes. No ambiente novo isolado, a relação entre níveis de cortisol e posto social, para os machos, foi mantida semelhantemente à fase do ambiente novo pareado. Por fim, na reunião os três postos sociais possuíram níveis de cortisol semelhantes, uma vez que tanto os machos dominantes quanto os HDI reduziram o cortisol na fase de reunião, apesar de que esta redução tenha sido significativa apenas para os machos HDI. Estas respostas de redução hormonal, apresentadas pelos machos HDI e dominante (fase de reunião, não significativa estatisticamente), corroboram resultados de estudos que traçam um perfil afiliativo nas relações sociais entre indivíduos do sexo masculino desta espécie (Lazaro-Perea, 2001). Estes dados sobre a relação dos os níveis de

cortisol e o posto social encontrado, neste estudo, para díades de machos não-parentes e irmãos gêmeos é inédito, pois os estudos anteriores apenas investigaram as concentrações de cortisol em pais (reprodutores) e filhos (não-reprodutores) de *C. jacchus* vivendo em grupos familiares, tanto no cativeiro (Baker *et al.* 1999; Raminelli *et al.* 2001) quanto em grupos naturais (Sousa & Pontes, submetido). Baker *et al.* (1999) e Raminelli *et al.* (2001) não encontraram diferença nos níveis de cortisol entre pais e filhos adultos de sagüi, que viviam em cativeiro. Entretanto, Sousa & Pontes, (submetido) investigaram dois grupos de *C. jacchus*, em ambientes naturais, e observaram maiores médias do cortisol nos machos reprodutores que nos não-reprodutores.

Diferentemente do que foi observado para as fêmeas, a maior tensão observada para os machos dominantes e não para os machos HDI, ao longo das fases de estresse, deve-se provavelmente à utilização dos comportamentos redutores de tensão apenas pelos machos HDI, como demonstraram a correlação inversa entre níveis de cortisol os comportamentos redutores de tensão durante as fases de estresse e a redução nas freqüências de afastamento na fase de reunião, com relação à fase basal. Isto indica que estes animais permaneceram mais tempo próximos e possivelmente leva a redução nos níveis de cortisol (Detillion *et al.* 2004). Outros estudos com machos de primatas não-humanos demonstraram que a relação entre indivíduos com postos sociais próximos e, portanto, facilmente contestada, apresenta-se mais tensa e competitiva, como foi observado neste estudo para fêmeas desta espécie. Bergman *et al.* (2006), observaram para babuínos maiores níveis de agressão entre díades de machos que possuíam altos níveis de testosterona e maior proximidade do posto social. Díades formadas por animais com baixos níveis de testosterona e postos de dominância distantes apresentavam baixos índices de agressão. Em um estudo com humanos foi observado que a reatividade cardiovascular,

resultante da interação entre díades isossexuais, é sexualmente dimórfica e dependente da relação de dominância existente entre os componentes da díade (Newton *et al.* 2005).

Devido aos diferentes padrões de reposta observado em função do sexo e do posto social, algumas díades apresentaram modificações nas relações entre os níveis de hormônio sexual e posto social ao longo do estudo. Bergman *et al.* (2006) apontam que a testosterona ou posto social de apenas um individuo não é preditor da resposta comportamental a agentes estressores. O que é preditor desta resposta é a relação entre hormônio e o posto social dos dois animais das díades. No presente estudo, três das cinco díades de fêmeas HDI (caracterizadas pela similaridade na função ovariana), sendo duas parentes e uma não-parente, passaram a exibir diferença nos ciclos ovulatórios ao longo do estudo. Isto deve-se, provavelmente, ao perfil de resposta mais competitivo apresentado por estas díades ao longo das fases de estresse. Por outro lado, duas das três díades HDC, uma aparentada e outra não-parente, passaram a não apresentar diferenças no ciclo ovulatório, o que também deve estar provavelmente associado ao perfil de resposta afiliativa destas díades diante de desafios ambientais. Apenas a fêmea 906, de uma díade aparentada, manteve regularidade e diferença no perfil ovulatório, com relação a sua parceira, e ao longo de todo o estudo.

Ambas as díades de machos (HDC e HDI) não apresentaram elevações significativas do cortisol ao longo do estudo, provavelmente em função disto não foi observado díades de machos HDI passando a ser HDC, como foi visto entre as fêmeas. Porém foi observado que duas, das três díades HDC, passaram a não exibir diferença nos níveis de andrógenos durante a fase de reunião. Apenas o macho 995, de uma díade não-parente manteve a diferença nos níveis de andrógenos, observada durante a fase basal, também na fase de reunião.

Apesar de algumas limitações encontradas neste estudo como: (1) o tamanho da amostra, que embora não seja muito pequeno no que se refere à estudos com primatas, torna-se uma limitação uma vez que o numero total (28 animais) foi subdividido em grupos de acordo com o sexo e posto social; (2) a classificação das relações de dominância entre os animais das díades realizadas apenas com base em dados hormonais e, (3) o grande número de variáveis que se sobrepõe, como; fase, sexo, parentesco e posto social, estes resultados reforçam mais uma vez a importância de incluir o sexo do animal e a relação de dominância em estudos sobre estresse. Atualmente, Sapolsky também discute a importância de transpor para os humanos os resultados de estudos realizados com primatas que relacionam a hierarquia social e o estresse, uma vez que é observada, nos primeiros, uma forte relação entre o posto social, ou seja, o gradiente sócio-econômico e a incidência de patologias associadas ao estresse (Sapolsky 2004; Sapolsky 2005). É observada uma maior incidência de doenças cardiovasculares, infecciosas, psiquiátricas e reumatóides nos níveis mais baixos deste gradiente, mesmo em paises onde há boa assistência de saúde publica para toda a população, ou seja, estas incidências se correlacionam com déficits no funcionamento do sistema de resposta ao estresse (Kristenson *et al.* 2004; Sapolsky 2004).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altmann, J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. Behaviour, **49**, 227-267.

Abbott, D. 1993. Social conflict and reproductive suppression in marmoset and tamarim monkeys. In: Manson WA, Mendoza SP, eds Primate Social Conflict. New York: Albany, 1993; 331-372. In: *Primate Social Conflict.* (Manson WA and Mendoza SP), pp. 331-372.New York: Albany.

Abbott, D. 1985. Social suppression of reproduction in subordinate marmoset monkeys. In: *A primatologia no Brasil*, 15-31.

Abbott, D., George, L.M & Ferreira, B.R. 1992**.** Endocrine and Behavioral constraints on reproduction in Subordinate Male Common Marmosets. *Am J Primatol*, **27,** 13-66.

Abbott, D., Hodges, J.K & George, L.M. 1988**.** Social status controls LH secretion and ovulation in female marmoset monkeys *(Callithrix jacchus)*. *J Endocrinol*, **117,** 329-339.

Abbott, D., Keverne, E.B., Bercovitch, F.B., Shively, C.A., Mendoza, S.P., Saltzman, W., Snowdon, C.T., Ziegler, T.E., Banjevic, M., Garland, T. Jr. & Sapolsky, R.M. 2003**.** Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. *Horm Behav*, **43,** 67-82.

Abbott, D., Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J., & Tannenbaum. P.L. 1998**.** Adaptations to subordinate status in female marmoset monkeys. *Comp Biochem Physiol*, **119,** 261-274.

Alencar, A.I., Sousa, M.B.C., Abbott, D.H. & Yamamoto, M.E. 2006**.** Contested dominance modifies the anovulatory consequences of social subordination in female marmosets. *Braz J Med Biol Res*, **39,** 647-658.

Archer, J. 2006**.** Testosterone and human aggression: an evaluation of the challenge hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev*, **30,** 319-345.

Baker, J., Abbott, D.H., & Saltzman, W. 1999**.** Social determinants of reproductive failure in male commom marmosets housed with their natal family. *Animal Behav*, **58,** 501-513.

Barrett, G. M., Shimizu, K., Bardi, M., Asaba, S. & Mori, A. 2002**.** Endocrine correlates of rank, reproduction, and female-directed aggression in male Japanese Macaques (*Macaca fuscata*). *Horm Behav*, **42,** 85-96.

Barros, M. & Tomaz, C. 2002**.** Non-human primate models for investigating fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*, **26,** 187-201.

Beehner, J.C., Bergman, T.J., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M. & Whitten, P.L. 2006**.** Testosterone predicts future dominance rank and mating activity among male chacma baboons. *Behav Ecol Soc*, **59,** 469-479.

Bergman, T.J., Beehner, J.C., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M. & Whitten, P.L. 2005**.** Correlates of stress in free-ranging male chacma baboons, Papio hamadryas ursinus. *Anim Behav*, **70,** 703-713.

Bergman, T.J., Beehner, J.C., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M. & Whitten, P.L. 2006**.** Interactions in male baboons: the importance of both males' testosterone. *Behav Ecol Soc*, **59,** 480-489.

Castro, D.C. & Sousa, M.B.C. 2005**.** Fecal androgen levels in common marmoset *(Callithrix jacchus)* males living in captive family groups. *Braz J Med Biol Res*, **38,** 65-72.

Creel S. 2001**.** Social dominance and stress hormones. *Trends Ecol Evol.*, **16**, 491-497.

Cubicciotti, D. I., Mendoza, S.P., Mason, W.A. & Sassenrath, E.N. 1986**.** Differences between Saimiri sciureus and Callicebus moloch in physiological responsiveness: implications for behavior. *J Comp Psychol*, **100,** 385-391.

Dalerum, F., Creel, S. & Hall, S.B. 2006**.** Behavioral and endocrine correlates of reproductive failure in social aggregations of captive wolverines (*Gulo gulo*). *J Zool*, **269,** 527-536.

Detillion, C.E., Craft, T.K.S., Glasper, E.R., Prendergast, B.J. & DeVries, A.C. 2004**.** Social facilitation of wound heating. *Psychoneuroendocrinol*, **29**, 1004-1011.

Dettling, A., Feldon J & Pryce C.R. 2002**.** Early deprivation and behavioral and physiological responses to social separation novelty in the marmoset. *Pharmacol Biochem Behav*, **73,** 269.

DeVries, A., Glasper, E.R. & Detillion, C.E. 2003**.** Social modulation of stress responses. *Physiol Behav*, **79,** 339-407.

DeVries, A., Craft T.K.S, Glasper E.R, Neigh G.N & Alexander J.K. 2007**.** Social influences on stress responses and health. *Psychoneuroendocrinol*, **32,** 587-603.

Digby, L.J. 1995**.** Social-Organization in A Wild Population of Callithrix-Jacchus .2. Intragroup Social-Behavior. *Primates*, **36,** 361-375.

Drews, C. 1993**.** The Concept and Definition of Dominance in Animal Behavior. *Behaviour*, **125,** 283-313.

Galvão- Coelho, N.L. & Sousa, M.B.C. (*Submited*). Modulation of social environment in Common marmoset's *(Callithrix jacchus)* stress response: I. Social Support. *Am. J. Primatol.*

Goymann, W. & Wingfield, J.C. 2004**.** Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. *Anim Behav*, **67,** 591-602.

Grant, V.J. & France, J.T. 2001**.** Dominance and testosterone in women. *Biol Psychol*, **58,** 41-47.

Kitchen, D., Cheney, D.L. & Seyfarth, R.M. 2005**.** Male chacma baboons (*Papio hamadryas ursinus*) discriminate loud call contests between rivals of different relative ranks. *Anim Cogn*, **8,** 6.

Kitchen, D., Seyfarth, R.M., Fischer, J. & Cheney, D.L. 2003**.** Loud calls as indicators of dominance in male baboons (*Papio cynocephalus ursinus*). *Behav Ecol Sociobiol*, **53,** 374-384.

Klinkova, E., Heistermann, M. & Hodges, J.K. 2004**.** Social parameters and urinary testosterone level in male chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Horm Behav*, **46,** 474-481.

Kraus, C., Heistermann, M. & Kappeler, P.M. 1999**.** Physiological suppression of sexual function of subordinate males: A subtle form of intrasexual competition among male sifakas (*Propithecus verreauxi*)? *Physiol Behav*, **66,** 855-861.

Kristenson, M., Eriksen, H.R., Sluiter, J.K., Starke, D. & Ursin, H. 2004**.** Psychobiological mechanisms of socioeconomic differences in health. *Soc Sci Med*, **58,** 1511-1522.

Lazaro-Perea, C. 2001**.** Intergroup interactions in wild common marmosets, *Callithrix jacchus*: territorial defence and assessment of neighbours. *Anim Behav*, **62,** 11-21.

Lynch, J.W., Ziegler, T.E. & Strier, K.B. 2002**.** Individual and seasonal variation in fecal testosterone and cortisol levels of wild male tufted capuchin monkeys, *Cebus apella nigritus*. *Horm Behav*, **41,** 275-287.

Mazur, A. & Booth, A. 1998**.** Testosterone and dominance in men. *Behav Brain Sci*, **21,** 353.

Muller, M.N. & Wrangham, R.W. 2004**.** Dominance, aggression and testosterone in wild chimpanzees: a test of the ' challenge hypothesis '. *Anim Behav*, **67,** 113-123.

Newton, T.L., Watters, C.A., Philhower, C.L. & Weigel, R.A. 2005**.** Cardiovascular reactivity during dyadic social interaction: The roles of gender and dominance. *Int J Psychophysiol*, **57,** 219-228.

Raminelli, J., Sousa, M.B.C, Cunha, M.S. & Barbosa, M.F.V.. 2001**.** Morning and afternoon patterns of fecal excretion of cortisol among reproductive and non-reproductive male and female common marmosets, *Callithrix jacchus***.** *Biol Rhythm Res*, **32,** 159-167.

Robbins, M.M. & Czekala, N.M. 1997**.** A preliminary investigation of urinary testosterone and cortisol levels in wild male mountain gorillas. *Am J Primatol*, **43,** 51-64.

Rowe, R., Maughan, B., Worthman, C.M., Costello, E.J. & Angold, A. 2004**.** Testosterone, antisocial behavior, and social dominance in boys: Pubertal development and biosocial interaction. *Biol Psychiatry*, **55,** 546-552.

Saltzman, W., Prudom, S.L., Schultz-Darken, N.J. & Abbott, D.H. 2000**.** Reduced adrenocortical responsiveness to Adrenocorticotropichormone (ACTH) in socially subordinate female marmoset monkeys. *Psychoneuroendocrinol*, **25,** 477.

Saltzman, W., Prudom, S.L., Schultz-Darken, N.J., Wittwer, D.J. & Abbott, D.H. 2004**.** Social suppression of cortisol in female marmoset monkeys: role of circulating ACTH Levels and glucocorticoid negative feedback. *Psychoneuroendocrinol*, **29,** 141-161.

Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J., Severin, J.M. & Abbott, D.H. 1997**.** Escape from Social Suppression of Sexual Behavior and of Ovulation in Female Common Marmosets. *Ann Ny Acad Sci*, 567-570.

Saltzman, W., SchultzDarken, N.J. & Abbott, D.H. 1996**.** Behavioural and endocrine predictors of dominance and tolerance in female common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Anim Behav*, **51,** 657-674.

Sannen, A., Van Elsacker, L., Heistermann, M. & Eens, M. 2004**.** Urinary testosterone-metabolite levels and dominance rank in male and female bonobos (*Pan paniscus*). *Primates*, **45,** 89-96.

Sapolsky, R.M. 1993. The physiology of dominance in stable versus unstable social hierarchies. In: *Primate Social Conflict* (Mason, JW and Mendoza, SP), pp. Albany.

Sapolsky, R.M. 2005**.** The influence of social hierarchy on primate health. *Science*, **308,** 648-652.

Sapolsky, R.M. 2004**.** Social status and health in humans and other animals. *Annu. Rev. Anthropol*, **33,** 393-418.

Silva, H.P.A. & Sousa, M.B.C. 1997. Pair bond formation and its role in the stimulation of reproductive function in female common marmoset. *Inter. J. Primatol*, **18** 386-399.

Sousa, M.B.C., Albuquerque, A.C.S.D., Albuquerque, F.D., Araujo, A., Yamamoto, M.E. & Arruda, M.D. 2005**.** Behavioral strategies and hormonal profiles of dominant and subordinate common marmoset *(Callithrix jacchus)* females in wild monogamous groups. *Am J Primatol*, **67,** 37-50.

Sousa M.B.C. & Pontes, M.C. (*Submited*) Hormonal and social profile of common marmoset *(Callithrix jacchus)* males living in freeranging groups: A study of two natural groups. *Int. J. Primatol.*

Sousa, M.B.C. & Ziegler, T.E. 1998. Diurnal variation on the patterns of fecal steroids in Common Marmoset *(Callithrix jacchus)* females. *Am. J. Pprimato.*, **46**: 105-117

Stevenson, M. & Poole, T. 1978**.** An ethogram of common marmoset *(Callithrix jacchus)*: General behavioral repertoire. Anim Behav 1978: 24; 428-451. *Anim Behav*, **24,** 428-451.

Wittig, R.A., Crockford, C., Lehmann, J., Whitten, P.L., Seyfarth, R.M. & Cheney, D.L. 2008**.** Focused grooming networks and stress alleviation in wild female baboons. *Horm Behav*, **54,** 170-177.

Young, A.J., Monfort, S.L. & Clutton-Brock, T.H. 2008**.** The causes of physiological suppression among female meerkats: A role for subordinate restraint due to the threat of infanticide? *Horm Behav*, **53,** 131-139.

Ziegler, T.E. & Sousa, M.B.C. 2002**.** Parent-daughter relationships and social controls on fertility in female common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Horm Behav*, **42,** 356-367.

ARTIGO 4

MODULAÇÃO DOS ANDRÓGENOS EM MACHOS DE *CALLITRIX JACCHUS* POR DESAFIOS SOCIAIS E AMBIENTAIS: UMA ANÁLISE DA HIPÓTESE DO DESAFIO

Nicole Leite Galvão Coelho e Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Curso de Pós-graduação em Psicobiologia, Caixa Postal, 1511- 59078-970 Natal, RN, Brasil.

Endereço de correspondência:

Maria B.C. Sousa

Universidade Federal do Rio Grande

Departamento de Fisiologia

Caixa Postal, 1511

59078-970 NATAL, RN, BRASIL

Tel 55 84 3215-3410

Fax 55 84 3211-9206

E-mail: mdesousa@cb.ufrn

Artigo a ser submetido à Hormones and Behavior

RESUMO

A hipótese do desafio prediz variações dos andrógenos em função de desafios ambientais físicos e sociais que envolvem, particularmente, as variações sazonais, mudanças do ambiente físico e as interações entre macho-macho e macho-fêmea. Entretanto, estas variações parecem ser dependentes de fatores relacionados à espécie, como o tipo de reprodução, do grau de envolvimento no cuidado paterno e dos níveis de agressão entre machos em contextos de competição. Neste estudo, investigou-se a responsividade dos andrógenos fecais de machos adultos de *Callithrix jacchus* diante da mudança ambiental e da exposição macho-macho (quando reunidos após separação) analisando se o parentesco, entre os animais, modulava esta resposta. Foi observado que os machos não-parentes possuem níveis mais elevados de andrógenos que os parentes, o que pode ser reflexo da maior competição por recursos entre animais não relacionados geneticamente. Os machos parentes e não-parentes não apresentaram variação nos níveis de andrógenos e, portanto, expressaram a responsividade ambiental semelhante, em resposta ao desfio de mudança de ambiente físico. A responsividade *macho-macho* se expressou e foi significativa entre os animais aparentados e parece depender dos níveis basais dos andrógenos, pois não apresentou significância estatística nos machos não-parentes para os quais as concentrações dos andrógenos na fase basal foram significativamente mais elevadas do que aquelas registradas para os machos parentes. Estas respostas possivelmente, estão associadas às estratégias de machos de *C. jacchus* decorrentes do sistema de acasalamento monogâmico, da baixa taxa de agressividade entre os machos e do cuidado parental essencial provido por este sexo.

Palavras chaves; *Callithrix jacchus,* andrógenos, hipótese do desafio, relação de parentesco.

1. INTRODUÇÃO

Além das variações nos glicocorticóides encontradas nos machos de vertebrados em resposta aos desafios ambientais físicos e sociais, os níveis de andrógenos também se modificam nestas situações, principalmente quando relacionadas aos contextos reprodutivos, de defesa territorial e de potenciais competidores por estes recursos (Archer 2006; Setchell *et al.*, 2008; Sousa & Pontes submetido). Wingfield *et al.* (1990) propuseram a hipótese do desafio que prediz a ocorrência de variação nos níveis dos andrógenos em aves, relacionada ao acasalamento, reprodução e territorialidade. Hirschenhauser & Oliveira (2006), em uma meta- análise sobre a modulação social de andrógenos em vertebrados evidenciaram em aves que a responsividade dos andrógenos é maior em espécies monogâmicas com cuidado paterno e mais baixa em espécies promíscuas e que não apresentam cuidado paterno. Foi também evidenciado que não há um consenso que possa generalizar estes padrões de resposta dos andrógenos em relação aos comportamentos sexual, agressivo e paterno nos vertebrados.

Segundo o estudo de Wingfield *et al.* (1990), as interações macho-macho que ocorrem em função de disputas pelo acesso às fêmeas ou ao posto social, elevam as concentrações dos andrógenos para acima dos níveis observados para regulação gonadal durante a reprodução. A partir de então, vários estudos foram desenvolvidos em diversas espécies de aves (Ferree *et al*. 2004; Parisot *et al.* 2005), e passou também a ser testada em diversos táxons (Peixes: Hirschenhauser *et al.* 2004; Hienas: Dloniak *et al*. 2006; Morcegos: Reeder *et al.* 2006; Roedores: Soto-Gamboa *et al.* 2005; Primatas não-humanos: Muller & Wranghan 2004 e Cristobal-Azkarate *et al.* 2006; Humanos: Archer 2006).

Alguns estudos com primatas não-humanos apontam um aumento da testosterona durante a estação reprodutiva, que se correlaciona positivamente com os níveis de agressão macho-machos em diferentes espécies (*Lemur catta:* Cavegelli & Pereira 2000; *Eulemur fulvus:* Ostner *et al*. 2002; *Eulemur fulvus:* Ostner *et al.* 2002 e *Pan troglodyte:* Muller & Wranghan 2004), enquanto no *Cebus apella (*Lynch *et al*. 2002) correlaciona-se com a receptividade das fêmeas durante este período. Por outro lado, existem estudos que não observam variações nos níveis de testosterona em situações similares, como prevê a hipótese do desafio (Wingfield *et al.* 1990). Strier *et al.* (1999) não encontram elevações nos níveis de testosterona em machos de muriquis (*Brachyteles arachnoides*) durante a estação reprodutiva, e especulam que este resultado pode estar relacionado aos baixos níveis de agressão observado entre os machos desta espécie. Huck *et al.* (2005), também não observaram aumento da testosterona em machos de *Saguinus mystax* durante períodos de instabilidade social.

Archer (2006), em um estudo de revisão, aponta nos homens aumentos nos níveis de testosterona que correlacionam-se positivamente com situações que envolvem estímulos sexuais e comportamentos de liderança (dominância). Todavia, no mesmo estudo as correlações observadas entre este hormônio e agressividade foram fracas e diferentes níveis de testosterona são encontrados em homens com estratégias reprodutivas distintas, sendo maiores naqueles que apresentam uma estratégia poligínica e com escasso cuidado parental.

Além da periodicidade de reprodução (sazonal ou não) e do tipo de sistema de acasalamento influenciar os níveis de andrógenos, fatores inerentes à espécie como o grau de investimento parental e níveis de agressividade macho-macho (Hirschenhauser *et al.* 2003*;* Hirschenhauser & Oliveira 2006) também modulam a duração e amplitude desta

resposta (Kempenaers *et al.* 2008; Hau *et al.* 2008). Kempenaers *et al.* (2008) apontam também a importância dos genes, da idade do indivíduo, da hora do dia e de características do ambiente social na modulação desta resposta.

Assim, em recente revisão na qual a hipótese do desafio é reavaliada e ampliada (Goymann *et al.* 2007) foram postuladas outras respostas às quais os andrógenos se vinculavam, passando a totalizar 5 tipos de responsividade. O primeiro e o segundo tipos de responsividade, que já haviam sido postulados em Wingfield *et al.* (1990), incluem, respectivamente, (a) a responsividade sazonal (*Rsazonal*), que corresponde ao aumento periódico nos níveis dos andrógenos acima das concentrações homeostáticas em função de pistas ambientais durante a estação de acasalamento; (b) a responsividade entre machos (*Rmacho-macho)* que ocorre em função das interações entre machos dentro e fora da estação de acasalamento. Os outros tipos de responsividade dos andrógenos acrescentados incluem: (c) a responsividade em função de interações com fêmeas receptivas (*R macho-fêmea);* (d) a responsividade em função de pistas ambientais físicas (*R ambiental)* e, por fim, (e) a responsividade fisiológica que corresponde à capacidade de secreção máxima de andrógenos por um organismo (*R máximo),* que pode ser testada pela administração do GnRH (Goymann *et al.* 2007). Além destes cinco tipos de responsividade, Goymann *et al.* (2007) também propõe em sua discussão, a investigação da responsividade dos andrógenos ao isolamento social, já que em algumas espécies de aves observam-se altos níveis de andrógenos durante o isolamento social e níveis reduzidos em função das interações sociais.

Alguns trabalhos da literatura têm pesquisado sobre os andrógenos em machos de calitriquídeos (*Callithrix jacchus:* Abbott 1993; Baker *et al.* 1999, *Saguinus oedipus:* Ziegler & Snowdon 2000; Ginther *et al.* 2002; *Saguinus mystax:* Huck *et al.* 2005; *Leontopithecus*

Rosália: Bales *et al.* 2006) Além destes trabalhos, nosso grupo de pesquisa vem se dedicando há algum tempo ao estudo dos andrógenos em machos de *Callithrix jacchus* tanto no cativeiro (Raminelli *et al.* 2001; Castro & Sousa, 2005; Saldanha *et al.* 2005) quanto no ambiente natural (Sousa & Pontes, submetido). *C. jacchus* são pequenos primatas neotropicais, monogâmicos (embora existam relatos de poliginia, Digby & Ferrari, 1994; Arruda *et al.* 2005), que não apresentam reprodução sazonal e há apenas um par reprodutor e dominante por grupo, onde tanto o macho quanto a fêmea realizam cuidado parental (Stevenson & Rylands 1988). No presente estudo foram investigados em machos de *C. jacchus* os tipos de responsividade dos andrógenos ao ambiente (*R ambiental)* e da interação macho-macho (*Rmacho-macho*), analisando se as relações genéticas entre os animais (parentes ou não-parentes) modulam esta resposta.

2. MÉTODOS

2.1. Manutenção dos animais

Neste estudo foram utilizadas 8 díades de machos adultos de *Callithrix jacchus*, igualmente divididas em animais aparentados e não-parentes. Os animais das díades não-parentes foram pareados entre 10 e 20 dias antes do início do experimento e os animais das díades aparentadas foram separados das famílias aproximadamente de 30 a 60 dias antes do experimento, e cada uma das díades, alojada em gaiola individual.

Todos os animais viviam em cativeiro, no Núcleo de Primatologia da UFRN, sob condições naturais de iluminação, umidade e temperatura e estavam alojados em gaiolas localizadas na área externa da colônia. As gaiolas mediam 2,0 x 2,0 x 1,0 m e eram construídas em alvenaria, possuindo na sua parede anterior um visor unidirecional, através

do qual foram realizadas as observações comportamentais. A parede posterior da gaiola, a qual continha a porta da gaiola e o teto eram construídos de tela em arame. Na porta eram encaixados o bebedouro e o prato de alimentação. No interior da gaiola havia uma caixa-ninho, para descanso, pranchas de madeira e poleiros de galhos de plantas para o deslocamento dos animais. Todos os animais foram habituados à presença do tratador anteriormente ao estudo.

2.2. Delineamento experimental

O estudo foi desenvolvido em duas fases experimentais que criaram condições para testar a responsividade ambiental e a responsividade macho-macho, com duração total de 49 dias para cada díade. Estes procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética do Departamento de Fisiologia da UFRN.

1- Responsividade ambiental (*Rambiental*): Foi analisada a variação das concentrações de andrógenos entre uma condição de manutenção basal (28 dias) e a mudança das díades para uma nova gaiola (7 dias), com dimensões semelhantes à original. Na fase basal as coletas de fezes para análise hormonal (andrógenos e cortisol) foram realizadas em dias alternados e na condição de ambiente novo foram realizadas diariamente.

2- Responsividade macho-macho (*Rm-m*): Foi analisada a variação das concentrações de andrógenos entre uma condição de isolamento social (7 dias) e de reunião da díade na gaiola de origem (7 dias). Na condição de isolamento social, os animais estavam alojados em gaiolas semelhantes, mas que não permitiam o contato olfativo ou visual entre os componentes das díades. Em ambas as condições foram realizadas coletas de fezes para dosagem hormonal (andrógenos) diariamente.

2.3. Coleta de fezes e dosagens hormonais

Em todas as fases do estudo as coletas de fezes, para dosagem hormonal, foram realizadas no intervalo entre 06:30h e 09:30h da manhã, para evitar a influência circadiana sobre as variáveis em estudo (Sousa & Ziegler, 1998). Anteriormente à cada coleta de fezes pelo pesquisador, foi realizada a limpeza na gaiola para facilitar a identificação das amostras. Após a coleta as amostras foram armazenadas em freezer, aproximadamente a 5^0C. Posteriormente, estas amostras foram processadas para extração e dosagem dos hormônios esteróides pela técnica ELISA de acordo com o protocolo de Castro & Sousa (2005). O coeficiente de variação intra e inter-ensaios foram respectivamente de 2,1 e 24,5%, para os andrógenos.

2.4. Análise Estatística

Os dados dos andrógenos foram normalizados, por meio de transformação logarítmica, e analisados através do General Linear Models (GLM) e o pós-teste de Fisher, tendo como medidas repetidas as condições basais, ambiente novo, isolamento social e reunião, como variável independente a relação de parentesco da díade e como variável dependente as concentrações dos andrógenos fecais. Para a aplicação deste teste foram feitas médias a cada dois dias de coleta nos dados da condição basal, totalizando assim 7 dados amostrais, numericamente semelhante ao restante dos dados individuais das demais condições experimentais.

Foi calculado o “tamanho do efeito” (d= diferença das médias de cada condição analisada, dividido pela soma dos respectivos desvios padrões) para inferir a responsividade ambiental e a responsividade macho-macho, separadamente para animal (Goyman *et al.* 2007). Em seguida foi aplicado o Test T para medidas independentes, para

determinar se a responsividade ambiental e macho-macho eram moduladas pelo parentesco da díade.

O nível de significância considerado para todos os testes foi $p < 0.05$ e tendência de $0,05 < p < 0,09$.

3. RESULTADOS

O teste GLM apontou que as díades de machos não-parentes de *C. jacchus* apresentaram maiores níveis de andrógenos totais do que as díades parentes (GLM: F=19,82, p= 0,00). A interação entre as condições experimentais e a relação de parentesco das díades também foi significativa (GLM: F= 2,7, p=0,04), como será discutido a seguir.

3.1. Responsividade ambiental (*R amb*)

Na fase basal os machos parentes e não-parentes apresentaram níveis semelhantes de andrógenos (LSD: p= 0,17). Ambas as díades reduziram os níveis de andrógenos em função da mudança para o ambiente novo, entretanto estas variações não foram estatisticamente significativas (LSD: P- p=0,20; NP- p=0,24). E a responsividade (d) ambiental de machos parentes e não-parentes de *C. jacchus* foram semelhantes (Test T para medidas independentes: t=0,94, p= 0,36) (Figura 1).

3.2. Responsividade macho-macho (*R m-m*)

Na fase de isolamento os machos não-parentes apresentaram níveis de andrógenos mais elevados que os parentes (LSD: p= 0,02). Apenas as díades de machos aparentados apresentaram elevações nos níveis de andrógenos em função da interação macho-macho (GLM, P: p= 0,02, NP: p= 0,37) e a responsividade (d) macho-macho dos parentes foi

maior que a dos não-parentes (Test T para medidas independentes: t=2,74, p= 0,01) (Figura 2).

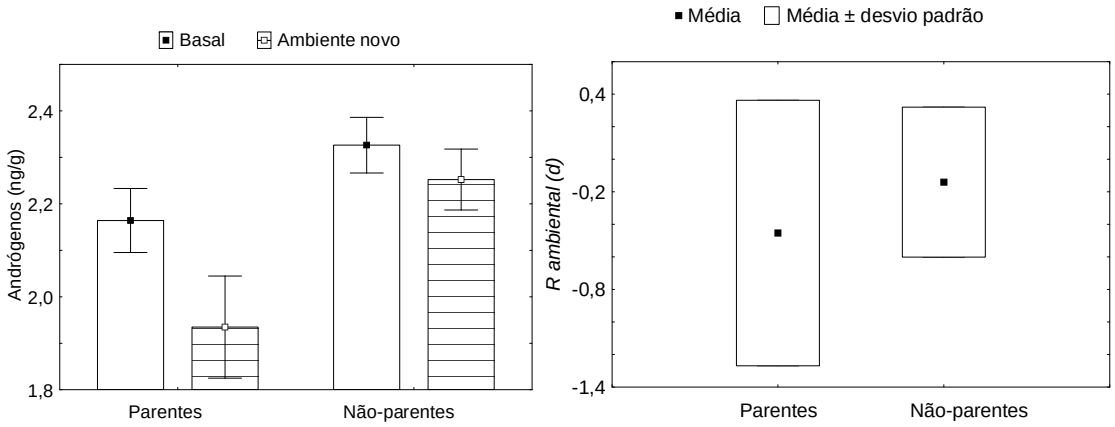


Figura 1. A) Logaritmo das médias (± EPM) dos andrógenos na condição basal e de ambiente novo; B) Responsividade ambiental (*R ambiental*), dos machos de *C. jacchus*, parentes (P) e não-parentes (NP).

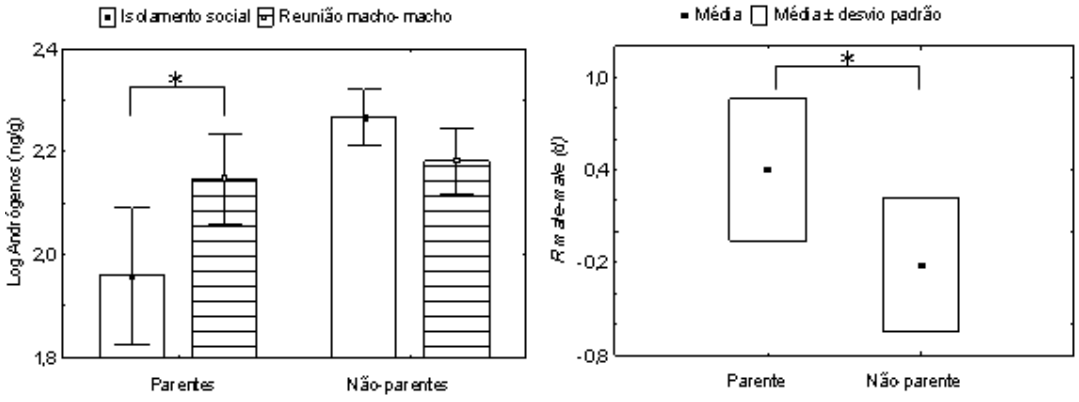


Figura 2. A) Logaritmo das médias (± EPM) dos andrógenos na condição de isolamento social e da interação macho-macho em machos adultos de *C. jacchus*. * Diferença significativa entre as respectivas fases (p< 0,05, teste estatístico T para medidas dependentes); B) Responsividade macho-macho (*R macho-macho*) para os animais parentes (P) e não-parentes (NP). * Diferença significativa entre as responsividades (p< 0,05, teste estatístico T para medidas independentes).

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, os níveis totais dos andrógenos em *C. jacchus* foram modulados pela relação de parentesco existente entre os animais da díade. Os machos não-parentes apresentaram maiores concentrações deste hormônio que animais de díades aparentadas, durante todo o estudo. Além disto, os animais das díades não-parentes não variaram os níveis dos andrógenos nem em resposta ao ambiente novo (*R ambiental*), nem à interação macho-macho (*Rmacho-macho).*

Estudos com primatas não-humanos apontam para uma relação mais tensa entre os animais de grupos ou díades não aparentadas (Schaffner & French, 2004, Bales *et al.* 2006). Schaffner & French (2004) demonstram que grupos de machos não-parentes de *C. kuhli* são mais instáveis que aqueles aparentados, pois apresentam mais frequentemente comportamentos competitivos e agressivos. Outros estudos apontam correlação entre testosterona e cortisol, principalmente durante situações de instabilidade social (Dittami *et al.* 2008; Sousa & Pontes, submetido). Neste último trabalho, as autoras observaram que grupos naturais de *C. jacchus* que expressaram maiores freqüências de interações agonistas apresentavam correlações positivas significativas entre estes comportamentos, os andrógenos e cortisol. Então, provavelmente, estes elevados níveis de andrógenos das díades não-parentes ocorrem em função da competição por recursos, com aumento da disputa. Wingfield (1984), assinala que algumas espécies de aves poligínicas mantêm altos níveis de andrógenos para facilitar as freqüentes interações agressivas e pouca ou nenhuma alteração nos níveis destes hormônios são observados em resposta a desafios do ambiente social.

As reduzidas concentrações de andrógenos observadas em nosso estudo nas díades aparentadas podem ter ocorrido em função da existência do vínculo genético entre estes

animais, mecanismos da aptidão abrangente (Krebs & Davies, 1996). Estudos demonstram que a companhia de um individuo familiar, durante situações de estresse, atenua a resposta do cortisol e comportamental gerada pelo agente estressor (Hennessy *et al.* 1995; Gust *et al.* 1996; Smith & French 1997; Gerber *et al*. 2002).

Assim como os não-parentes, os machos parentes também não apresentaram variação dos andrógenos ao desafio de mudança de ambiente físico e ambos apresentaram responsividade semelhantes. Este resultado contrariou as expectativas, pois seria de se esperar que os machos desta espécie, principalmente aqueles das díades não-parentes, apresentassem elevação dos andrógenos em resposta a este desafio, considerando a sociobiologia de machos de *C. jacchus* permanecendo no grupo e dispersando menos frequentemente (Araújo, 1996), não estariam bem adaptados às mudanças bruscas no ambiente físico o que deveria gerar uma perturbação e consequente modificação nos níveis androgênicos. Apesar disto, a mudança para uma nova gaiola não gerou desafios suficientes para alterar os níveis de andrógenos, como prevê a hipótese do desafio, conforme postulada por Goymann *et al.* (2007). Esta resposta pode ser alternativamente explicada considerando o fato de que as gaiolas do Núcleo de Primatologia são muito semelhantes, com as mesmas dimensões, formato e estrutura física, e os animais ao serem removidos rapidamente se habituam a nova gaiola. Adicionalmente, o ambiente de cativeiro resguarda os animais de predadores e provavelmente uma mudança ambiental, com mais potencial de imprevisibilidade, poderia elevar os níveis destes hormônios.

No caso da elevação nos níveis de andrógenos, observada para os parentes em função da interação macho-macho (reunião), a resposta encontrada era esperada. Estas díades também apresentaram maior responsividade que os não-parentes. A hipótese do desafio revista (Goymann *et al.* 2007), demonstra que estes hormônios respondem a

estímulos sociais, mas que a intensidade desta resposta depende de características relacionadas à espécie, como níveis de agressão entre machos, tipo de sistema de acasalamento e do cuidado parental (Goymann, 2008). Os níveis de andrógenos dos machos parentes, durante a reunião, foram semelhantes aos níveis da condição basal, assim como observado para os machos não-parentes. Este resultado está em consonância com o que é registrado para outras espécies de primatas que apresentam baixos níveis de agressão (*Brachyteles arachnoide:-* Strier *et al.* 1999, *Cebus apella:* Lynch *et al.* 2002, *Saguinus mystax:* Huck *et al.* 2005), pois, os machos do gênero *Callithrix* não apresentam um perfil agressivo (Lazaro-Perea *et al.* 2001; Schaffner & French, 2004). Estes animais não demonstram elevações do cortisol em função da presença de co-específíco intruso do mesmo sexo, enquanto a resposta da testosterona é modulada pelos níveis de agressão presente nestes encontros. Nos animais agressivos ouve elevação dos níveis de testosterona, enquanto nos pacíficos ocorre a queda desses hormônios (Ross *et al.* 2004).

Outros estudos com *C. jacchus*, alguns do nosso grupo de pesquisa, demonstram responsividade dos andrógenos em função de outros desafios ambientais postulados por Goymann *et al.* (2007). Apesar dos *C. jacchus* não serem considerados reprodutores sazonais (Stevenson & Rylands,1988), Sousa *et al* (1999) encontra períodos, durante o ano, de maior incidência de nascimento de filhotes em cativeiro, sendo estes durante o início da estação seca 1 e final da estação seca 2. E Kholkute (1984) demonstra que machos de *C. jacchus* elevam, mais não significativamente, os níveis de andrógenos nos períodos de maior frequência de acasalamento, possuindo, portanto, um baixo *Rsazonal*.

Os trabalhos de Leão (2001) e Alcântara (2003) investigaram a responsividade da interação macho-fêmea em machos adultos de *C. jacchus*, utilizando um paradigma experimental semelhante ao do presente estudo. Alcântara (2003) observou que estes

machos reduziam as concentrações dos andrógenos quando eram reunidos às fêmeas. Enquanto, Leão (2001) observou que machos de *C. jacchus* pareados com fêmeas, que conceberam durante o experimento, apresentaram concentrações mais elevadas de andrógenos fecais que aqueles pareados com fêmeas que não conceberam, na fase de reunião. Estes resultados divergentes provavelmente são reflexos do estado reprodutivo das fêmeas, pois, no primeiro estudo metade das fêmeas utilizadas possuía ligadura de trompas e nenhuma engravidou durante o experimento. Já no estudo de Leão (2001), conforme argumentado, as fêmeas grávidas estimularam por meio de pistas olfativas os machos, que por sua vez apresentaram elevação nos andrógenos em resposta a condição fértil das fêmeas de *C. jacchus* como demonstrado por Smith & Abbott (1998). Os estudos de Alcântara e Leão acrescentam, portanto, fornecem informações para discussão da hipótese do desafio no que se refere à responsividade dos andrógenos modulada pelo sexo do parceiro. Sendo assim, a partir destes dados da literatura, fica implicado que a reatividade (*Rsazonal*) (Kholkute 1984) não ocorre de forma significativa e a responsividade macho-fêmea (*R macho-fêmea*) parece depender do estado reprodutivo das fêmeas Leão (2001) e Alcântara (2003) .

Saldanha *et al.* (2005) e Sousa & Pontes (submetido) investigaram a variação dos andrógenos em machos de *C. jacchus*, durante o período de cuidado a prole e observaram elevações destes hormônios, mas não significativas, principalmente nos machos reprodutivos. Wingfiel *et al.* (1990) argumentam que em espécies de aves em que os machos realizam cuidado parental, os níveis de andrógenos devem diminuir durante este período, facilitando os comportamentos relativos ao cuidado. Entretanto, estudos mais recentes tanto em primatas quanto em aves revelam que os níveis de andrógenos podem encontrar-se elevados durante o nascimento dos filhotes, como foi observado em *C. jacchus*, e que isto não implica na redução do cuidado à prole (primatas: Huck *et al*. 2005;

Ostner 2008; aves: Van Duyse *et al.* 2000; Lynn *et al.* 2002, 2005). Lynn *et al.* 2005, explicam que este padrão de manutenção dos níveis de testosterona, mesmo durante o período de nascimento dos filhotes, deve ocorrer em espécies onde o cuidado parental não é essencial ao sucesso reprodutivo do macho. Este argumento não se enquadra para a espécie aqui estudada, pois em *C. jacchus* o cuidado é essencial para o sucesso reprodutivo do macho uma vez que as fêmeas parem gêmeos e os filhotes são altriciais e as fêmeas podem engravidar no estro pós-parto. Sendo assim, é indispensável a participação do macho para que sua prole sobreviva (Snowdon 1996). Wingfield *et al.* (2001) especula que os altos níveis de andrógenos durante o nascimento dos filhotes, observado em algumas espécies, pode ser em parte, função da chance de novas cópulas neste período. Em *C. jacchus* esta elevação dos andrógenos logo após o nascimento dos filhotes é provavelmente vinculada ao estro pós-parto das fêmeas desta espécie (Dixon & Lunn, 1987; Sousa & Pontes, submetido).

Em resumo, os dados do presente estudo permitem a construção de um perfil da responsividade (*R*) dos andrógenos em função dos desafios sociais e ambientais para *C. jacchus,* postulados por Goymann *et al.* (2007), no que se refere à responsividade ambiental (*R ambiental)* e a responsividade macho-macho (*R macho-macho)*. Com relação à *R ambiental*, esta não se apresentou significativa para machos desta espécie, enquanto a *R macho-macho* se expressou de forma moderada e parece não ocorrer em situações instáveis, uma vez que as concentrações dos andrógenos já se encontram elevadas. Estas respostas possivelmente, são reflexos da organização monogâmica, da baixa taxa de agressividade entre os machos e do cuidado parental essencial provido por este sexo, como argumentado por Goymann (2008).

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Archer, J. 2006. Testosterone and human aggression: an evaluation of the challenge hypothesis. *Neurosc. Biobehav Rev*, **30**, 319-345.

Abbott, D. 1993. Social conflict and reproductive suppression in marmoset and tamarim monkeys. In: Manson WA, Mendoza SP, eds Primate Social Conflict. New York: Albany, 1993; 331-372. In: *Primate Social Conflict.* (Manson WA and Mendoza SP), pp. 331-372. New York: Albany.

Alcântara, I. 2003**.** Resposta comportamental e hormonal de díades heterossexuais de fêmeas de *Callithrix jacchus* às mudanças ambientais e sociais. *Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Psicobiologia, UFRN*, 69p.

Araujo, A. 1996. Influence des facteurs écologiques, comportementaux et démografhiques sur la dispersion de *Callithrix jacchus. Tese de Doutorado*. *Paris: Université Paris-Nord (parisXIII)* 234p.

Arruda, M.F., Araújo, A., Sousa, M.B.C., Albuquerque, F.S. Albuquerque, A.C.S.R. & Yamamoto M.E. 2005. Two-breeding females within free-living groups may not always indicate polygyny: Alternative subordinate female strategies in common marmosets *(Callithrix jacchus)*. *Folia Primatologica*, **76**, 10-20.

Baker, J.V., Abbott, D.H. & Saltzman, W. 1999. Social determinants of reproductive failure in male Commom marmosets housed with their natal family. *Animal Behav*; **58**, 501-513.

Bales, K., French, J., McWilliamsd, J., Lakea, R.A. & Dietza, J.M. 2006**.** Effects of social status, age, and season on androgen and cortisol levels in wild male golden lion tamarins *(Leontopithecus rosalia). Horm Behav*, **49,** 88-95.

Castro, D.C. & Sousa, M.B.C. 2005**.** Fecal androgen levels in common marmoset *(Callithrix jacchus)* males living in captive family groups. *Braz J Med Biol Res*, **38,** 65-72.

Cavigelli, S. & Pereira, M. 2000**.** Mating Season Aggression and Fecal Testosterone Levels in Male Ring-Tailed Lemurs (*Lemur catta*). *Horm Behav*, **37**, 246-255.

Cristoal-Azkarate, J., Chavira, R., Boeck, L., Rodriguez-Luna, E. & Veal, J.J. 2006**.** Testosterone levels of free-ranging resident mantled howler monkey males in relation to the number and density of solitary males: A test of the challenge hypothesis. *Horm Behav*, **49,** 261-267.

Digby, L. & Ferrari, S.F. 1994. Multiple breeding females in free-ranging groups of *Callithrix jacchus. Int. J. Primatol*, **15**, 389-397.

Dittami, J., Katina, S., Möstl, E., Eriksson, J., Machatschke, I.H., & Hohmann, G. 2008. Urinary androgens and cortisol metabolites in field-sampled bonobos (*Pan paniscus*). *Gen. Comp. Endocr*, **155,** 552-557**.**

Dixson, A.F & Lunn, S.F. 1987. Post- partum changes in hormones and sexual behaviour in captive groups of marmosets *(Callithrix jacchus). Physiol Behav*, **41**, 577-583.

Dloniak, S.M., French, J.A., & Holekamp, K.E. 2006. Rank-related maternal effects of androgens on behaviour in wild spotted hyaenas. *Nature*, **440**, 1190-1193.

Ferree, E.D., Wikelski, M.C. & Anderson, D.J. 2004. Hormonal correlates of siblicide in Nazca boobies: support for the Challenge Hypothesis. *Horm. Behav*, **46,** 655– 662.

Gerber, P., Schnell, C.R. & Anzenberger, G. 2002**.** Behavioral and cardiophysiological responses of common marmosets *(Callithrix jacchus)* to social and environmental changes. *Primates*, **43,** 201-216.

Ginther, A.J., Carlson, A.A., Ziegler, T.E. & Snowdon, C.T. 2002. Neonatal and pubertal development in males of a cooperatively breeding primate, the cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*). *Biol. Reprod*, **66**, 282-290.

Goymann W. 2008. Social modulation of androgens in male birds. *Gen Comp Endocrinol.* **7**

Goymann, W., Landys, M.M. & Wingfield, J.C. 2007**.** Distinguishing seasonal androgen responses from male-male androgen responsiveness - Revisiting the Challenge Hypothesis. *Horm Behav*, **51,** 463-476.

Gust, D., Gordon, T.P., Brodie, A.R. & McClure, H.M. 1996**.** Effect of companions in modulating stress associated with new group formation in juvenile rhesus macaques. *Physiol Behav*, **59,** 945.

Hau, M., Gill, S.A. & Goymann, W. 2008**.** Tropical field endocrinology: Ecology and evolution of testosterone concentrations in male birds. *General and Comparative Endocrinology*, **157,** 241-248.

Hennessy, M., Mendoza, S.P., Mason, W.A. & Moberg, G.P. 1995**.** Endocrine sensitivity to novelty in squirrel monkeys and titi monkeys: species differences in characteristic modes of responding to the environment. *Physiol Behav*, **57,** 331-338.

Hirschenhauser, K., & Oliveira, R.F. 2006. Social modulation of androgens in male vertebrates: meta-analyses of the challenge hypothesis. *Anim. Behav*, **71**, 264- 277.

Hirschenhauser, K., Taborsky, M., Oliveira, T., Canario, A.V.M. & Oliveira, R.F. 2004. A test of the 'challenge hypothesis' in cichlid fish: simulated partner and territory intruder experiments. *Anim Behav*, **68**, 741-750.

Hirschenhauser, K., Winkler, H. & Oliveira, R.F. 2003. Comparative analysis of male androgen responsiveness to social environment in birds: the effects of mating system and paternal incubation. *Horm Behav*, **43**, 508-519.

Huck, M., Lottker, P., Heymann, E. & Heistermann, M. 2005**.** Characterization and Social Correlates of Fecal Testosterone and Cortisol Excretion inWild Male*Saguinus mystax*. *Int J Primatol*, **26,** 159-179.

Kempenaers, B., Peters, A. & Foerster, K. 2008**.** Sources of individual variation in plasma testosterone levels. *Phil.Trans.R Soc B*, **363,** 1711-1723.

Kholkute, S. D. 1984**.** Diurnal and Annual Variations in Plasma Androgen Levels in the Adult Male Marmoset (*Callithrix jacchus*). *International Journal of Andrology*, **7,** 431-438.

Krebs, C.J. & Davies, N.B. 1996. Introdução à ecologia comportamental. 3a Ed. São Paulo, *Atheneu Editora*. 420 p.

Lazaro-Perea, C. 2001**.** Intergroup interactions in wild common marmosets, *Callithrix jacchus*: territorial defence and assessment of neighbours. *Anim Behav*, **62,** 11-21.

Leão, A. 2001**.** Variação hormonal e comportamental em sagüi comum *(Callithrix jacchus)*, durante as fases de formação, separação e reunião do par heterossexual. *Dissertação de Mestrado apresentada na UFRN.* p.64.

Lynch, J.W., Ziegler, T.E. & Strier, K.B. 2002**.** Individual and seasonal variation in fecal testosterone and cortisol levels of wild male tufted capuchin monkeys, Cebus apella nigritus. *Horm Behav*, **41,** 275-287.

Lynn, S., Hayward, L., Benowitz-Fredericks, Z. & Wingfield, J.C. 2002**.** Behavioural insensitivity to supplementary testosterone during the parental phase in the chestnut-collared longspur, *Calcarius ornatus. Ani Behav*, **63,** 795-803.

Lynn, S. E., Walker, B.G. & Wingfield, J.C. 2005. A phylogenetically controlled test of hypotheses for behavioral insensitivity to testosterone in birds. *Horm Behav*, **47**, 170–177.

Muller, M.N. & Wrangham, R.W. 2004**.** Dominance, aggression and testosterone in wild chimpanzees: a test of the ' challenge hypothesis '. *Anim Behav*, **67,** 113-123.

Ostner, J., Kappeler, P.M. & Heistermann, M. 2002. Seasonal variation and social correlates of androgen excretion in male redfronted lemurs (*Eulemur fulvus rufus*). *Behav. Ecol. Sociobiol*, **52**, 485-495.

Ostner, J., Kappeler, P. & Heistermann, M. 2008**.** Androgen and glucocorticoid levels reflect seasonally occurring social challenges in male redfronted lemurs (*Eulemur fulvus rufus*). *Behav Ecol Sociobiol*, **62,** 627-638.

Parisot, M., Tanvez, A., Lacroix, A., Vallet, E., Beguin, N. & Leboucher, G. 2005.

Social competition and plasma testosterone profile in domesticated canaries: An experimental test of the challenge hypothesis. *Horm. Behav*, **48**, 225-232.

Raminelli, J., Sousa, M.B.C., Cunha, M.S. & Barbosa, M.F.V. 2001. Morning and afternoon patterns of fecal excretion of cortisol among reproductive and non-reproductive male and female common marmosets, *Callithrix jacchus. Biol Rhythm Res*, **32**, 159-167.

Reeder, D.M., Raff, H., Kunz, T.H. & Widmaier, E.P. 2006. Characterization of pituitary-adrenocortical activity in the Malayan flying fox (*Pteropus vampyrus). J. Comp. Physiol. B*, **176,** 513-519.

Ross, C., French, J. & Patera, K.J. 2004**.** Intensity of aggressive interactions modulates testosteronein male marmosets. *Physiol Behav*, **83,** 437-445.

Saldanha, D., Nascimento, H.G., Barbosa, M.F.P.P & Sousa, M.B.C. 2005. Monitoramento hormonal do par reprodutor de sagui comum *(Callithrix jacchus)* antes e após o nascimento dos filhotes. *Publica*, **1,** 32-41.

Schaffner, C. & French, J. 2004**.** Behavioral and Endocrine Responses in Male Marmosets to the Establishment of Multimale Breeding Groups: Evidence for Non-monopolizing Facultative Polyandry. *Int J Primatol*, **25,** 709-732.

Setchell, J.M, Smith, T., Wickings, E.J. & Knapp, L.A. 2008. Social correlates of testosterone and ornamentation in male mandrills. *Horm Behav*, **54**, 365-372.

Smith, T.E. & Abbott, D.H. 1998. Behavioral discrimination between circumgenital odor from peri-ovulatory dominant and anovulatory female common marmosets *(Callithrix jacchus). Am J Primatol,* **46**, 265-284.

Smith, T. & French, J. 1997**.** Psychosocial Stress and Urinary Cortisol Excretion in Marmoset Monkeys (*Callithrix kuhli*). *Physiol Behav,* **62,** 225-232.

Snowdon, C. 1996. Infant Care in Cooperatively Breeding Species. In: *Parental Care: Evolution, Mechanisms and Adaptative Significance.* (Rosenblatt JA and Snowdon, CT), pp. 643-689.San Diego: Academic Press.

Soto-Gamboa, M., Villalon, M. & Bozinovic, F. 2005. Social cues and hormone levels in male *Octodon degus* (Rodentia): a field test of the Challenge Hypothesis. *Horm Behav,* **47**, 311-318.

Sousa, M.B.C. & Pontes, M.C. (*Submited).* Hormonal and social profile of common marmoset *(Callithrix jacchus)* males living in freeranging groups: A study of two natural groups. *Int. J. Primatol.*

Sousa, M.B.C., Silva, H.P.A., Cirne, M.F.C., Mota, M.T.S. 1999. Reprodutive patterns and birth seasonality in a south-american breeding colony of common marmosets, *Callithrix jacchus. Primates,* **40**, 327-336.

Sousa, M.B.C. & Ziegler, T. 1998**.** Diurnal variation on the excretion patterns of steroids in common marmoset *(Callithrix jacchus)* females. *Am J Primatol,* **46,** 105-117.

Stevenson, M. & Rylands, A. 1988. The marmosets, genus Callithrix. In: *Ecology and Behavior of Neotropical Primates* (Littera Maciel).

Strier, K., Ziegler, T., Wong, G. & Wittwer, D. 1999**.** Seasonal and Social Correlates of Fecal Testosterone and Cortisol Levels in Wild Male Muriquis (*Brachyteles arachnoides*). *Horm Behav*, **35,** 125-134.

Van Duyse, E., Pinxten, R. & Eens, M. 2000**.** Does testosterone affect the trade-off between investment in sexual/territorial behaviour and parental care in male great tits? *Behaviour*, **137,** 1503-1515.

Wingfield, J.C., Lynn, S.E. & Soma, K.K. 2001**.** Avoiding the 'costs' of testosterone: Ecological bases of hormone-behavior interactions. *Brain Behavior and Evolution*, **57,** 239-251.

Wingfield, J.C. 1984. Androgens and mating systems - testosterone-induced polygyny in normally monogamous birds. *AUK.*, **4**, 665-671.

Wingfield, J.C., Hegner, R.E., Dufty, A.M., Ball, G.F. 1990. The challenge hypothesis - theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *Am. Nat.*, **136**, 829-846.

Ziegler, T.E. & Snowdon, C.T. 2000. Preparental hormone levels and parenting experience in male cotton-top tamarins, Saguinus oedipus. *Horm Behav*, **38**, 159-167.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados nos quatro estudos evidenciam que tanto os fatores individuais quanto de natureza social são importantes moduladores da resposta comportamental e endócrina (cortisol e andrógenos) a desafios ambientais em *C. jacchus* adultos. A demonstração de que *C. jacchus* apresenta alterações comportamentais e fisiológicas semelhantes àquelas dos seres humanos em resposta aos agentes estressores valida a sua utilização como bom modelo animal para estudos relacionados ao estresse e distúrbios mentais associadas. Ainda, aponta para a importância de se levar em consideração estes fatores moduladores durante tais estudos. Adicionalmente, estes resultados ampliam os horizontes de investigação no âmbito das variáveis hormonais, diante de desafios ambientais, demonstrando que os andrógenos em machos de *C. jacchus*, também oscilam em função do ambiente social, como propostos pela hipótese do desafio. O resumo dos principais resultados, de cada estudo, está exposto no quadro 1, assim como sua relação com as predições.

O fator sexo isoladamente não modulou a resposta do cortisol aos agentes estressores, como demonstram os resultados tanto do estudo 1 quanto do estudo 2. Apesar disto, as fêmeas apresentaram maiores níveis de cortisol e comportamentos agonistas que os machos, ao longo de todo o estudo, achados que corroboram outros estudos já realizados com esta espécie (Johnson *et al.* 1996; Raminelli *et al.* 2001). Neste estudo, tais resultados foram discutidos com decorrentes dos mecanismos de dispersão de *C. jacchus* (Araújo, 1996; Sousa *et al.*, *in press*), pois o dimorfismo sexual observado na resposta ao estresse dentro de uma mesma espécie é resultado de um conjunto de fatores evolutivos (Troisi, 2001) e proximais (Handa *et al.*. 1994). Os presentes resultados refutam parcialmente a predição 1, que supõe a modulação da resposta hormonal ao estresse pelo fator sexo

isoladamente. Este resultado pode ser conseqüência do fato de que a maior parte dos animais utilizados é nascida em cativeiro e os estressores apresentam limitações, por não permitem ao animal interações com alguns desafios ambientais, encontrados apenas no ambiente natural comprometendo, assim, a expressão de perfis distintos entre os sexos no que se refere à reatividade ao estresse. Entretanto, o sexo foi importante em modular a resposta do cortisol e dos comportamentos, aos agentes estressores, quando associado a outros fatores como o suporte social e o posto social, como será discutido adiante.

Além do sexo, outro fator modulador analisado nesta pesquisa foi o cortisol basal. O estudo 1 aponta que o principal fator preditivo da reatividade do cortisol à separação em *C. jacchus* é o cortisol basal, e que esta reatividade é similar entre os sexos. Os animais com perfil do cortisol basal baixo apresentam uma hiperreatividade do cortisol à separação, enquanto os animais com perfil basal alto apresentam uma hiporreatividade do cortisol e redução da piloereção individual. Estes resultados corroboram a predição 1 deste estudo e outros estudos que utilizam esta espécie e apontam a influência dos níveis basais de cortisol sobre sua reatividade aos agentes estressores (Johnson *et al.* 1996, Norcross & Newman 1999). Johnson *et al.* (1996), demonstram que durante o isolamento social fêmeas de *C. jacchus*, que possuem baixos níveis de cortisol, tendem a elevar este hormônio durante a formação de novos grupos sociais enquanto nas fêmeas que exibiam cortisol alto ocorre o contrário. Norcross & Newman (1999), também observaram diferenças no cortisol basal entre indivíduos desta espécie e tal variação não pode ser explicada pela diferença na condição de pareamento basal dos grupos, pela idade ou pela hora da coleta hormonal. Estes autores observaram, assim como o presente estudo, baixos níveis de cortisol basal associados à alta reatividade e alto cortisol basal com baixa reatividade à separação. Dados semelhantes foram também encontrados para seres humanos saudáveis e que possuem distúrbios mentais, como transtorno de ansiedade,

depressão e síndrome do estresse pós-traumático (Jesova *et al.*, 2004, Olff *et al.*, 2005, Carroll *et al.*, 2007). Sendo assim, esta espécie apresenta características de reatividade ao estresse que a torna um bom modelo para o estudo dos distúrbios acima, podendo ainda ser selecionado adequadamente para cada tipo de estudo de acordo com seus níveis basais de cortisol.

Sacher *et al.* (1998) discutem a influência do ambiente social sobre a resposta ao estresse, e aponta o posto social como um dos principais agentes estressores sociais, enquanto o suporte social atua de forma oposta tendo uma ação benéfica tamponando a resposta ao estresse. O artigo 2, do presente estudo, demonstrou que em *C. jacchus* adultos o tipo do suporte social, se fornecido por um co-específico de mesmo sexo parente ou não-parente, modula a resposta comportamental e do cortisol aos agentes estressores. Apenas o suporte social provido por parentes mostrou-se eficaz em tamponar a resposta do cortisol, pois os animais das díades não-parentes elevaram o cortisol quando foram isolados socialmente e transferidos para ambiente novo, assim como não reduziram significativamente tal elevação durante a reunião. As díades não-parentes também reduziram as interações sociais durante as fases experimentais, pois diminuíram as freqüências de piloereção social. Estas respostas provavelmente são reflexos da instabilidade das relações sociais existente entre animais não-parentes, como demonstram outros estudos, entre eles o de Schaffner & French (2004) para *C. kuhli*. Em termos comportamentais esta resposta foi dimórfica, mostrando que apenas os machos aparentados apresentaram uma resposta atenuada ao estresse e utilizaram mecanismos comportamentais de redução de tensão. A competitividade entre fêmeas de *C. jacchus* é uma característica tão evidente (Araújo & Yamamoto, 1994), que mesmo um co-especifico, do mesmo sexo, aparentado, não é suficiente para tamponar a resposta comportamental aos agentes estressores. Tais resultados corroboram parcialmente a predição 2, pois era esperado que as

díades parentes de ambos os sexos apresentassem reatividade diminuída aos agentes estressores devido ao estreito vinculo social existente entre os animais das díades. Entretanto, tais resultados reforçam estudos que demonstram a influência tanto do sexo quanto do tipo de vínculo social entre indivíduos sobre a resposta ao estresse (Cristenfeld & Gerin 2000; Hennessy *et al.* 2008) e chamam a atenção de sua importância nas pesquisas (Seeman & McEwen 1996), pois possivelmente um suporte social adequado pode atuar de forma positiva sobre as patologias associadas ao estresse (Brummett *et al.*, 2000; Cristenfeld & Gerin 2000; Richmond & Ross 2000).

O estudo 3 deu continuidade, na mesma amostra, à investigação dos moduladores sociais sobre a resposta ao estresse, analisando o papel do posto social. Primeiramente, não foi encontrada influência da interação entre o tipo do suporte social (parente ou não-parente) e posto social sobre os níveis de cortisol. Entretanto, foram observadas diferenças nas concentrações de cortisol, assim como na variação deste hormônio frente aos estressores, em função da interação entre o sexo e posto social. As fêmeas de díades com hierarquia de dominância indefinida (HDI) elevaram o cortisol durante a separação e reunião e as fêmeas dominantes e subordinadas apresentam maiores índices de comportamentos sociais. Estes achados corroboram os de Bergman *et al.* (2006) e Newton *et al.* (2005), em estudos com outras espécies de primatas, demonstrando maior tensão entre animais com relação de dominância instável. Por outro lado, os machos HDI reduziram os níveis de cortisol durante a fase de ambiente novo pareado e reunião, e os machos dominantes apresentaram, comportamentalmente, mais tensão. Esta inversão de resposta reflete uma resposta dimórfica e provavelmente, decorre de comportamentos adaptativos que os machos utilizam e que funcionam como mecanismos de redutores de tensão, o que não ocorre com as fêmeas, cujo perfil competitivo predomina. Estes resultados corroboram parcialmente a predição três, pois era esperado que as díades HDI

de ambos os sexos apresentassem maiores níveis de tensão, com elevação hormonal e expressão de comportamentos agonistas e indicadores de ansiedade. Este estudo, juntamente com os apresentados no artigo 2, reforçam a importância da análise dos moduladores sociais da resposta ao estresse, evidenciado a influência não apenas dos moduladores positivos (artigo 2), mas também daqueles que possivelmente podem ser eles próprios os agentes causadores do estresse. Além disto, ambos apontam, novamente, para a importância de se considerar o fator sexo em pesquisas relacionadas ao estresse, pois machos e fêmeas podem responder de forma diferente a um mesmo agente estressor (Kajantie & Phillips 2006), o que explica, em parte, em seres humanos, o dimorfismo das patologias dele decorrentes, como por exemplo, a prevalência dos distúrbios mentais (Altemus 2006) bem como quanto à eficácia terapêutica de alguns medicamentos (Leuner *et al.* 2004; Franconi *et al.* 2007).

Por fim, o artigo 4 apontou que não é apenas o cortisol que varia em função de desafios sociais e que as variações nos andrógenos corroboraram parcialmente a predição 4. Foi observado que o parentesco modulou as concentrações de andrógenos dos machos não-parentes cujos níveis de andrógenos foram maiores que os dos parentes, como um provável reflexo da maior competição entre os indivíduos não relacionados geneticamente (Schaffner & French, 2004; Bales *et al.*, 2006). Os resultados da responsividade *macho-macho* não corroboraram a predição 4, apesar de se apresentarem de acordo com as características de agressividade macho-macho da espécie (Lazaro-Perea *et al.*2001; Schaffner & French, 2004), pois os animais aparentados expressaram maior responsividade que os não-parentes, o oposto do que foi predito. A inexistência de responsividade macho-macho entre os animais das díades não-parentes possivelmente, podem ser devidas às concentrações dos andrógenos que já se encontram elevadas na condição anterior. Além disto, os resultados observados para a responsividade ambiental também não corroboram a predição 4, pois era esperada uma

resposta significativa, pois, do ponto de vista da sociobiologia da espécie, no ambiente natural, os machos migram com menos frequência (Araújo, 1996) e deveriam responder às mudanças bruscas no ambiente físico, com consequente modificação nos níveis androgênicos.

Figura 1- Quadro dos resumo dos resultados e suas relações com as predições.

ASPECTOS INVESTIGADOS	PRINCIPAIS RESULTADOS HORMONAIS	PERFIS COMPORTAMENTAIS	PREDIÇÕES
ESTUDO 1			
Sexo	♀ > ♂ (Cortisol)	♀ > ♂ (agonísmo) (dados do estudo 2)	Corrobora parcialmente Refuta: O sexo não modulou a resposta do cortisol.
Cortisol basal			
Baixo	Hiperreatividade do cortisol	Tensão	Corrobora
Alto	Hiporreatividade do cortisol	↓ de agonísmo	
ESTUDO 2			
Tipo do suporte social			
P	= cortisol	Ausente	Corrobora
P	↑ cortisol F3	Tensão	
Suporte social x sexo			
♂ P	$_{M}$P= $_{M}$NP	Afiliação	Corrobora parcialmente Refuta: O suporte social provido por um parente não foi eficaz em tamponar a resposta comportamental nas fêmeas.
♂ NP	$_{M}$P< $_{F}$NP= $_{F}$P	Tensão	
♀ P		Tensão	
♀ NP		Tensão	
ESTUDO 3			
Posto Social x Sexo			
♂ HDI	↑ cortisol F3 e F4	Utiliza RD	Corrobora parcialmente Refuta: Os machos HDI apresentaram-se menos tensos que os dominantes (D).
♂ D	= cortisol	Tensão	
♂ S	= cortisol	Passivo	
♀ HDI	↓cortisol F2 e F4	Tensão	
♀ D	= cortisol	Afiliativo	
♀ S	= cortisol	Passivo	
ESTUDO 4			
Relação de parentesco	NP> P		Corrobora Parcialmente Refuta: Não foi observada responsividade ambiental e a responsividade macho-macho foi maior para os parentes (P).
R ambiental	(andrógenos)	--	
Rmacho-macho	= andrógenos P: ↑ andrógenos		

♀: fêmeas, ♂: machos, P: parente, NP: não-parente, D: dominante, S: subordinado, HDI= díades com hierarquia de dominância indefinida, RD: comportamentos redutores de tensão
↑: aumento, ↓: redução, =: sem variação ou níveis iguais da variável
<: maiores níveis da variável para a díade à direita do símbolo

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

Abbott, D. 1984. Behavioral and physiological suppression of fertility subordinate marmosets monkeys. *Am J Primatol*, **6**, 169-186.

Abbott, D. 1985. Social suppression of reproduction in subordinate marmoset monkeys. In: *A primatologia no Brasil*, 15-31.

Abbott, D. & Hearn, J. 1978. Physical, hormonal and behavioural aspects of sexual development in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus. J Reprod Fertil*, **53**, 155-166.

Abbott, D., Hodges, J.K. & George, L.M. 1988. Social status controls LH secretion and ovulation in female marmoset monkeys *(Callithrix jacchus). J Endocrinol*, **117**, 329-339.

Abbott, D., Keverne, E.B., Bercovitch, F.B., Shively, C.A., Mendoza, S.P., Saltzman, W., Snowdon, C.T., Ziegler, T.E., Banjevic, M., Garland, T. Jr, & Sapolsky, R.M. 2003. Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. *Horm Behav*, **43**, 67-82.

Abbott, D., Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J. & Smith, T. 1997. Specific neuroendocrine mechanisms not involving generalized stress mediate social regulation of female reproduction in cooperatively breeding marmoset monkeys. In: *The Integrative Neurobiology of Affiliation* (219-238). *Annals of the New York Academy of Sciences*.

Abbott, D., Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J. & Tannenbaum, P.L. 1998. Adaptations to subordinate status in female marmoset monkeys. *Comp Biochem Physiol*, **119**, 261-274.

Abbott, D. 1981. Behavioral and Physiological Suppression of Fertility in subordinate Marmoset Monkeys. *Am J Primatol*, **6,** 186.

Altemus, M. 2006. Sex differences in depression and anxiety disorders: Potencial biological determinants. *Horm Behav*, **50**, 534-538.

Anisman, H. & Matheson, K. 2005. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neurosci Biobehav Rev*, **29**, 525-546.

Araújo, A. 1996. Influence des facteurs écologiques, comportementaux et démografhiques sur la dispersion de *Callithrix jacchus. Tese de Doutorado*. *Paris: Université Paris-Nord (parisXIII)* 234p.

Araújo, A. & Yamamoto, M. E. 1994. Reação a intrusos da mesma espécie em *Callithrix jacchus*: influência do status social. *A Primatologia no Brasil*, 4, 15-34.

Arruda, M., Araújo, A., Sousa, M.B.C., Albuquerque, F.S. & Yamamoto, M.E. 2005. Two-breeding females within free-living groups may not always indicate polygyny: Alternative subordinate female strategies in common marmosets *(Callithrix jacchus). Folia Primatol*, **76**, 10-20.

Bales, K., French, J., McWilliamsd, J., Lakea, R.A. & Dietza, J.M. 2006. Effects of social status, age, and season on androgen and cortisol levels in wild male golden lion tamarins *(Leontopithecus rosalia). Horm Behav*, **49**, 88-95.

Barros, M. & Tomaz, C. 2002. Non-human primate models for investigating fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*, 26, 187-201.

Bergman, T.J., Beehner, J.C., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M. & Whitten, P.L. 2006. Interactions in male baboons: the importance of both males' testosterone. *Behav Ecol Soc*, **59**, 480-489.

Brummett, B.H., Barefoot, J.C., Siegler, I.C. & Steffens, D.C. 2000. Relation of subjective and received social support to clinical and self-report assessments of depressive symptoms in an elderly population. *J. Affect Disorders*, **61**, 41–50.

Capitanio, J.P. & Emborg, M.E. 2008. Contributions of non-human primates to neuroscience research. *Lancet*, **371**, 1126-1135.

Carroll, B.J., Cassidy, F., Naftolowitz, D., Tatham, N.E., Wilson, W.H., Iranmanesh, A., Liu, P.Y. & Veldhuis, J.D. 2007. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. *Acta Psychiat Scand*, **115**, 90-103.

Castro, D.C. & Sousa, M.B.C. 2005. Fecal androgen levels in common marmoset *(Callithrix jacchus)* males living in captive family groups. *Braz J Med Biol Res*, **38**, 65-72.

Cilia, J. & Piper, D. 1997. Marmoset conspecific confrontation: an ethologically-based model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, **58,** 85-91.

Charmandari, E., Tsigos, C. & Chrousos, G. 2005. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol*, **67**, 259-284.

Christenfeld, N. & Gerin, W. 2000. Social support and cardiovascular reactivity. *Biomed & Pharmacother*, **54** , 25 l-257

Clara, E., Tommasi, L. & Rogers, L.J. 2008. Social mobbing calls in common marmosets *(Callithrix jacchus)*: effects of experience and associated cortisol levels. *Anim Cogn*, **11**, 349-358.

Creel, S. 2001. Social dominance and stress hormones. *Trends Ecol Evol*, **16**, 491-497.

Cross, N., Pines, M.K. & Rogers, L.J. 2004. Saliva sampling to assess cortisol levels in unrestrained common marmosets and the effect of behavioral stress. *Am J Primatol*, **62**, 114.

Cross, N. & Rogers, L. 2006. Mobbing vocalizations as a coping response in the common marmoset. *Horm Behav*, **49**, 237-245.

Datson, N.A., Morsink, M.C., Atanasova, S., Armstrong, V.W., Zischler, H., Schlumbohm, C., Dutilh, B.E., Huynen, M.A., Waegele, B., Ruepp, A., de Kloet, E.R. & Fuchs, E. 2007. Development of the first marmoset-specific DNA microarray (EUMAMA): a new genetic tool for large-scale expression profiling in a non-human primate. *BMC Genomics*, **8**.

DeRijk, H., Leeuwen, N., Klok, M.D. & Zitman, F.G. 2008. Corticosteroid receptor-gene variants: Modulators of the stress-response and implications for mental health. *Eur J Pharmacol*, **585**, 492-501.

Dettling, A., Feldon, J. & Pryce, C.R. 2002a. Early deprivation and behavioral and physiological responses to social separation novelty in the marmoset. *Pharmacol Biochem Behav*, **73**, 269.

Dettling, A., Feldon, J. & Pryce, C.R. 2002b. Repeated parental deprivation in the infant common marmoset (*Callithrix jacchus*, primates) and analysis of its effects on early development . *Biol Psychiat*, **52**, 1037-1046.

Dettling, A., Schnell, C.R., Maier, C., Feldon, J. & Pryce, C.R. 2007. Behavioral and physiological effects of an infant neglect manipulation in a bi-parental, twinning primate: Impact is dependent on familial factors. *Psychoneuroendocrinol, **32**, 331-349.*

Digby, L. & Ferrari, S.F. 1994. Multiple breeding females in free-ranging groups of *Callithrix jacchus* of *Callithrix jacchus*. *Int J Primatol*, **15**, 389-397.

Dixson, A. & Lunn, S. 1987. Post- partum changes in hormones and sexual behaviour in captive groups of marmosets *(Callithrix jacchus)*. *Physiol Behav*, **41**, 577-583.

Epperson, C., Wisner, K.L. & Yamamoto, B. 1999. Gonadal steroids in the treatment of mood disorders. *Psychosom Med*, **61**, 676-697.

Eslamboli, A. 2005. Marmoset monkey models of Parkinson's disease: Which model, when and why? *Brain Res Bull*, **68**, 140-149.

Franconi, F., Brunelleschi, S., Steardo, L. & Cuomo, V. 2007. Gender differences in drug responses. *Pharmacologic. Res*, **55**, 81–95

Goymann, W., Landys, M.M. & Wingfield, J.C. 2007. Distinguishing seasonal androgen responses from male-male androgen responsiveness - Revisiting the Challenge Hypothesis. *Horm Behav*, **51**, 463-476.

Grillon, C., Baas, J.P., Lissek, S., Smith, K. & Milstein, J. 2004. Anxious response to predictable and unpredictable aversive events. *Behav neurosci*, **118**, 916-924.

Grissom, N., Iyer, V., Vining, C. & Bhatnagar, S. 2007. The physical context of previous stress exposure modifies hypothalamic-pituitary- adrenal responses to a subsequent homotypic stress. *Horm Behav*, **51**, 95-103.

Guyton, A. 2008. Tratado de Fisiologia Médica. 735-746.Guanabara Koogan.

Handa, R., Burgess, L.H., Kerr, J.E. & O'Keefe, J.A. 1994. Gonadal steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Horm Behav*, **28**, 464-476.

Harder, J.A. & Ridley, R.M. 2000. The 5-HT1A antagonist, WAY 100 635, alleviates cognitive impairments induced by dizocilpine (MK-801) in monkeys. *Neuropharmacol*, **39**, 547-552.

Hauser, J., Dettling, A., Pilloud, S., Maier, C., Knapman, A., Feldon, J. & Pryce, C.R. 2007. Effects of Prenatal Dexamethasone Treatment on Postnatal Physical, Endocrine, and Social Development in the Common Marmoset Monkey. *Endocrinol*, **148**, 1813-1822.

Hearn, J. 1983. The Common Marmoset (*Callithrix jacchus)*. In: *Reproduction in new word primates. New models in medical science*. MTP Press Limited.

Hennessy, M., Zate, R. & Maken, D.S. 2008. Social buffering of the cortisol response of adult female guinea pigs. *Physiol Behav*, **93**, 883-888.

Herman, J. & Cullinan, W. 1997. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci*, **20**, 78-84.

Honess, P. & Marin, C. 2006. Behavioural and physiological aspects of stress and aggression in nonhuman primates. *Neurosci Biobehav Rev*, **30**, 412.

Jezova, D., Makatsori, A., Duncko, R., Moncek, F. & Jukubek, M. 2004. High trait anxiety in healthy subjects is associated with low nueroendocrine acivity during psychosocial stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **28,** 1331-1336.

Johnson, O., Kamilaris, C.S., Calogero, A.E. & Chousos, G.P. 1996. The Biobehavioral consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). *Soc Biol Psychiatry*, **40**, 317-337.

Kajantie, E. & Phillips, D. 2006. The effects of sex and hormonal status on the physiological response to acute psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinol*, **31**, 151-178.

Kalueff, A.V., Wheaton, M. & Murphy, D.L. 2007. What's wrong with my mouse model? Advances and strategies in animal modeling of anxiety and depression. *Behavioural Brain Research*, **179**, 1-18.

Keeney, A., Jessop, D.S., Harbuz, M.S., Marsden, C.A., Hogg, S. & Blackbum-Munro, R.E. 2006. Differential effects of acute and chronic social defeat stress hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and hippocampal serotonin release in mice. *J. neuroendocrinol*, **18**, 330-338.

Kohu, K., Yamabe, E., Matsuzawa, A., Onda, D., Suemizu, H., Sasaki, E., Tanioka, Y., Yagita, H., Suzuki, D., Kametani, Y., Takai, T., Toyoda, A., Habu, S. & Satake, M. 2008. Comparison of 30 immunity-related genes from the common marmoset with orthologues from human and muse. *Tohoku J Exp Med*, **215**, 167-180.

Kompagne, H., Bardos, G., Szénési, G., Gacsályi, I., Hársing, L.G. & Lévay, G. 2008. Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats. *Behav Brain Res*, **193**, 311-314.

Kornstein, S., Schatzberg, A.F., Thase, M.E., Yonkers, K.A., McCullough, J.P., Keitner, G.I., Gelenberg, A.J., Ryan, C.E., Hess, A.L., Harrison, W., Davis, S.M. & Keller, M.B. 2000. Gender differences in chronic major and double depression. *J Affect Disord*, **60**, 1-11.

Korte, S., Koolhaas, J.M., Wingfield, J.C. & McEwen, B.S. 2005. The Darwinian concept of stress: Benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neurosci Biobehav Rev*, **29**, 3-38.

Kudielka, B., Buske-Kirschbaum, A., Hellhammer, D.H. & Kirschbaum, C. 2004. HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoneuroendocrinol*, **29**, 83-98.

Lazaro-Perea, C. 2001. Intergroup interactions in wild common marmosets, *Callithrix jacchus*: territorial defence and assessment of neighbours. *Anim Behav*, **62**, 11-21.

Leuner, B., Mendolia-Loffredo, S. & Shors, T.J. 2004. Males and Females Respond Differently to Controllability and Antidepressant Treatment. *Biol Psychiatry*, **56**, 964–970.

Levine, S. 2000. Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Eur J Pharmacol*, **405**, 159-160.

López, F., Akil, H. & Watson, S.J. 1999. Neural Circuits Mediating Stress. *Biol Psychiatry*, **46**, 1461-1471.

Martinez, R., Carvalho-Netto, E.F., Amaral, V.C.S, Nunes-de-Souza, R.L. & Canteras, N.S. 2008. Investigation of the hypothalamic defensive system in the mouse. *Behav Brain Res*, **192**, 185-190.

Marvanova, M., Menager, J., Bezard, E., Bontrop, R.E., Pradier, L. & Wong, G. 2003. Microarray analysis of nonhuman primates: validation of experimental models in neurological disorders. *Faseb Journal*, **17,** 929.

McEwen, B. 1998. Stress, Adaptation and Disease. *Ann Ny Acad Sci*, **840**, 33-44.

McEwen, B. 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res*, **886**, 172-189.

McEwen, B. 2002. Sex, stress and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging*, **23**, 921-939.

McEwen, B. & Wingfield, J. 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm Behav*, **43**, 2-15.

Mendoza, S. & Mason, W. 1986. Contrasting responses to intruders and to involuntary separation by monogamous and polygynous New World monkeys. *Physiol Behav*, **38**, 795-801.

Nelson, R. 2000. *An Introduction to Behavioral Neuroendocrinology.* Sinauer Associates, Inc.

Newton, T.L., Watters, C.A., Philhower, C.L. & Weigel, R.A. 2005. Cardiovascular reactivity during dyadic social interaction: The roles of gender & dominance. *Int J Psychophysiol*, **57**, 219-228.

Norcross, J. & Newman, J. 1999. Effects of separation and novelty on distress vocalizations and cortisol in the common marmoset *(Callithrix jacchus)*. *Am J Primatol*, **47**, 209-222.

Olff, M., Gu¨zelcana, Y., Vries, G.J., Assies, J. & Gersonsa, B.P.R. 2006. HPA- and HPT-axis alterations in chronic posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinol*, **31**, 1220–1230.

Olsson, I. & Westlund, K. 2007. More than numbers matter: The effect of social factors on behaviour and welfare of laboratory rodents and non-human primates. *Appl Anim Behav Sci*, **103**, 229-254.

Orchinik, M. 1998. Glucocorticoids, stress, and behavior: shifting the timeframe. *Horm Behav*, **34**, 320-327.

Overli, O., Korzan, W.J., Hoglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Forster, G.L., Barton, B.A., Overli, E., Renner, K.J. & Summers, C.H. 2004. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Horm Behav*, **45**, 235-241.

Palanza, P. 2001. Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neurosci Biobehav Rev*, **25**, 219-233.

Palit, G., Kumar, R., Chowdhury, S.R., Gupta, M.B., Saxena, R.C., Srimal, R.C. & Dhawan, B.N. 1998. A primate model of anxiety. *Eur Neuropsychopharmacol*, **8**, 195-201.

Peters, M., Godaert, G.L.R., Ballieux, R.E., Vilet, M., Willemsen, J.J., Sweep, F.C.G.J. & Heijnen, C.J. 1998. Cardiovascular and endocrine responses to experimental stress:, Effects of mental effort and controllability. *Psychoneuroendocrinol*, **23**, 1-17.

Pomeroy, I.M., Jordan, E.K., Frank, J.A., Matthews, P.M. & Esiri, M.M. 2008. Diffuse cortical atrophy in a marmoset model of multiple sclerosis. *Neurosci Lett*, **437**, 121-124.

Prasad, S., Humphreys, I., Kireta, S., Gilchrist, R.B., Bardy, P., Russ, G.R. & Coates, P.T.H. 2007. The common marmoset as a novel preclinical transplant model: identification of new MHC class II DRB alleles and prediction of in vitro alloreactivity. *Tissue Antigens*, **69**, 72-75.

Pryce, C.R. 2008. Postnatal ontogeny of expression of the corticosteroid receptor genes in mammalian brains: Inter-species and intra-species differences. *Brain Res Rev*, **57**, 596-605.

Pryce, C., Dettling, A,C,, Spengler, M., Schnell, C.R. & Feldon, J. 2004. Deprivation of Parenting Disrupts Development of Homeostatic and Reward Systems in Marmoset Monkey Offspring. *Biol Psychiatry*, **56**, 72-79.

Pryce, C., Feldon, J., Fuchs, E., Knuesel, I., Oertle, T., Sengstag, C., Spengler, M., Weber, E., Weston, A. & Jongen-Ré, A. 2005a. Postnatal ontogeny of hippocampal expression of the mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the common marmoset monkey. *Eur. J. Neurosci*, **21**, 1521-1535.

Pryce, C., Ruedi-Bettschen, D., Dettling, A.C. & Feldon, J. 2002. Early life stress: long-term physiological impact in rodents and primates. *News Physiol Sci*, **17**, 150-155.

Pryce, C., Rüedi-Bettschen, D., Dettling, A.C., Weston, A., Russig, H, Ferger, B. & Feldon, J. 2005b. Long-term effects of early-life environmental manipulations in

rodents and primates: Potential animal models in depression research. *Neurosci Biobehav Rev*, **29**, 649-674.

Raminelli, J., Sousa, M.B.C., Cunha, M.S. & Barbosa, M.F.V. 2001. Morning and afternoon patterns of fecal excretion of cortisol among reproductive and non-reproductive male and female common marmosets, *Callithrix jacchus. Biol Rhythm Res*, **32,** 159-167.

Richmond, C.A.M. & Ross, N. A. 2008. Social support, material circumstance and health behaviour: Influences on health in First Nation and Inuit communities of Canada. *Soc Sci Med*, **67**, 1423–1433.

Roberts, M., Buchanan, K.L., Hasselquist, D., Bennett, A.T.D. & Evans, M.R. 2007. Physiological, morphological and behavioural effects of selecting zebra finches for divergent levels of corticosterone. *J Exp Biol.*, **210**, 4368-4378.

Rogers, D.C., Costall, B., Domeney, A.M., Gerrard, P.A., Greener, M., Kelly, M.E., Hagan, J.J. & Hunter, A.J. 2000. Anxiolytic profile of ropinirole in the rat, mouse and common marmoset. *Psychopharmacology*, **151**, 91-97.

Rubinow, R., Roca, C.A., Schmidt, P.J., Danaceau, M.A., Putnam, K., Cizza, G., Chrousos, G. & Nieman, L. 2005. Testosterone Suppression of CRH-Stimulated Cortisol in Men. *Neuropsychopharmacol*, **30**, 1906-1912.

Rukstalis, M. & French, J. 2005. Vocal buffering of the stress response: exposure to conspecific vocalizations moderates urinary cortisol excretion in isolated marmosets. *Horm Behav*, **47**, 1-7.

Rutter, M., Caspi, A. & Moffitt, T.E. 2003. Using sex differences in psychopathology to study causal mechanisms: unifying issues and research strategies. *J Child Psychol Psychiatry*, **44**, 1092-115.

Sachser, N., Durschlag, M. & Hirzel, D. 1998. Social Relationships and The Management Of Stress. *Psychoneuroendocrinol*, **23**, 891-904.

Saltzman, W., Pick, R.R., Salper, O.J., Leidi, K.J. & Abbott, D.H. 2004a. Onset of plural cooperative breeding in common marmoset families following replacement of the breeding male. *Anim Behav*, **68**, 59-73.

Saltzman, W., Prudom, S.L., Schultz-Darken, N.J. & Abbott, D.H. 2000. Reduced adrenocortical responsiveness to Adrenocorticotropichormone (ACTH) in socially subordinate female marmoset monkeys. *Psychoneuroendocrinol*, **25**, 477.

Saltzman, W., Prudom, S.L., Schultz-Darken, N.J., Wittwer, D.J. & Abbott, D.H. 2004b. Social suppression of cortisol in female marmoset monkeys: role of circulating ACTH Levels and glucocorticoid negative feedback. *Psychoneuroendocrinol*, **29**, 141-161.

Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J., Scheffler, G., Wegner, F.H. & Abbott, D.H. 1994. Social and reproductive influences on plasma cortisol in female marmoset monkeys. *Physiol Behav*, **56**, 801-810.

Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J., Severin, J.M. & Abbott, D.H. 1997. Escape from Social Suppression of Sexual Behavior and of Ovulation in Female Common Marmosets. *Ann Ny Acad Sci*, 567-570.

Saltzman, W., Schultz-Darken, N.J., Wegner, F.H., Wittwer, D.J. & Abbott, D.H. 1998. Suppression of cortisol levels in subordinate female marmosets: reproductive and social contributions. *Horm Behav*, **33,** 58-74.

Saltzman, W., Hogan, B.K., Horman, B.M. & Abbott, D.H. 2006. Social suppression of cortisol in female marmosets: Role of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin. *Gen Comp Endocr*, **149**, 90-99.

Saltzman, W., SchultzDarken, N.J. & Abbott, D.H. 1996. Behavioural and endocrine predictors of dominance and tolerance in female common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Anim Behav*, **51**, 657-674.

Schaffner, C. & French, J. 2004. Behavioral and Endocrine Responses in Male Marmosets to the Establishment of Multimale Breeding Groups: Evidence for Non-monopolizing Facultative Polyandry. *Int J Primatol*, **25**, 709-732.

Sapolsky, R. 1994. Individual differences and the stress response. *Semin Neurosc*, **6**, 261-269.

Sapolsky, R. 2002. Endocrinology of the stress-response. Em: Becker, J. B., Breedlove, S.M., Crews, D. & McCarthy, M. M. *Behavioral Endocrinology*. 2ª. ed. The MIT Press, Cambridge. Pp. 409-449. In: *Behavioral Endocrinology* (Becker JB, Breedlove SM, Crews D, and McCarthy MM.), pp. 409-449.The MIT Press, Cambridge.

Sapolsky, R. 2004. Social status and health in humans and other animals. *Annu. Rev. Anthropol*, **33**, 393-418.

Sapolsky, R., Romeo, R.D. & Munck, A.U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev*, **21**, 55-89.

Sasaki, E., Hanazawa, K., Kurita, R., Akatsuka, A., Yoshizaki, T., Ishii, H., Tanioka, Y., Ohnishi, Y., Suemizu, H., Sugawara, A., Tamaoki, N., Izawa, K., Nakazaki, Y., Haniada, H., Suemori, H., Asano, S., Nakatsuji, N., Okano, H. & Tani, K. 2005. Establishment of novel embryonic stem cell lines derived from the common marmoset *(Callithrix jacchus). Stem Cells*, **23**, 1304-1313.

Schaffner, C. & French, J. 2004. Behavioral and Endocrine Responses in Male Marmosets to the Establishment of Multimale Breeding Groups: Evidence for Non-monopolizing Facultative Polyandry. *Int J Primatol*, **25**, 709-732.

Schjolden, J., Backstrom, T., Pulman, K.G., Pottinger, T.G. & Winberg, S. 2005. Divergence in behavioural responses to stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with contrasting stress responsiveness. *Horm Behav*, **48**, 537-544.

Seeman, M.V. 1997. Psychopathology in women and men: focus on female hormones. *Am J Psychiatry*, **154,** 1641-1647.

Seeman, T.E & McEwen, B.S. 1996. Impact of social environment characteristics on neuroendocrine regulation. *Psychosom Med*, **58**, 459-471.

Sgoifo, A., Koolhaas, J.M., Boer, D., Musso, E., Stili, D., Buwalda, B. & Meerlo, P. 1999. Social stress, autonomic neural activation, and cardiac acitivity in rats. *Neurosc Biobehav Rev*, **23**, 915-923.

Sousa, M. & Ziegler, T. 1998. Diurnal variation on the excretion patterns of steroids in common marmoset *(Callithrix jacchus)* females. *Am J Primatol*, **46**, 105-117.

Sousa, M.B.C., Araújo, A., Yamamoto, M.E, Albuquerque, A.C., Albuquerque, F.S, Arruda, M.F. (*in press*). Emigration as a reproductive strategy of the Common Marmosets (*Callithrix jacchus*). in: LC Davis, SM Ford, LM Porter. (org.). The smallest anthropoids: the Marmoset/Callimico radiation. 1 ed. Chicago: Springer, p. 1-27.

Staay, F., de Groot, J., Schuurman, T. & Korte, S.M. 2008. Repeated social defeat in female pigs does not induce neuroendocrine symptoms of depression, but behavioral adaptation. *Physiol Behav*, **93**, 453-460.

Stackpole, C., Clarke, I.J., Breen, K.M., Turner, A.I., Karsch, F.J. & Tilbrook, A.J. 2006. Sex difference in the suppressive effect of cortisol on pulsatile secretion of luteinizing hormone in sheep. *Endocrinology*, **147**, 5921-5931.

Stevenson, M. & Poole, T. 1978. An ethogram of common marmoset *(Callithrix jacchus)*: General behavioral repertoire. *Anim Behav*, **24**, 428-451.

Stevenson, M. & Rylands, A. 1998. The marmosets, genus Callithrix. In: *Ecology and Behavior of Neotropical Primates*. Littera Maciel.

Stroud, L., Salovey, P. & Epel, E.S. 2002. Sex differences in stress responses: Social rejection versus achievement stress. *Biol Psychiatry*, **52**, 318-327.

t'Hart, B.A., van Meurs, M., Brok, H.P.M., Massacesi, L., Bauer, J., Boon, L., Bontrop, R.E. & Laman, J.D. 2000. A new primate model for multiple sclerosis in the common marmoset. *Immunol Today*, **21**, 290-297.

Tamashiro, K., Nguyen, M.M. & Sakai, R.R. 2005. Social stress: From rodents to primates. *Front Neuroendocrinol*, **26**, 27-40.

Tauber, S., Schlumbohm, C., Schilg, L., Fuchs, E., Nau, R. & Gerber, J. 2006. . Intrauterine Exposure to Dexamethasone Impairs Proliferation But Not Neuronal Differentiation in the Dentate Gyrus of Newborn Common Marmoset Monkeys. *Brain Pathol*, **16**, 209-217.

Troisi, A. 2001. Gender differences in vulnerability to social stress - A Darwinian perspective. *Physiol Behav*, **73**, 443-449.

Tyrka, A., Mello, A.F., Mello, M.F., Gagne, G.G., Grover, K.E., Anderson, G.M., Price, L.H. & Carpenter, L.L. 2006. Temperament and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in healthy adults. *Psychoneuroendocrinol*, **31**, 1036-1045.

Veenema, A., de Kloet, E.R., Koolhaas, J.M. & Bohus, B.G. 2003. Differences in basal and stress-induced HPA regulation of wild house mice selected for high and low aggression. *Horm Behav*, **43**, 197-204.

Wingfield, J.C., Hegner, R.E., Dufty, A.M., Ball, G.F. 1990. The challenge hypothesis - theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *Am. Nat*, **136**, 829-846.

Ziegler, T.E. & Sousa, M.B.C. 2002. Parent-daughter relationships and social controls on fertility in female common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Horm Behav*, **42**, 356-367.

Ziegler, T., Scheffler, G. & Carson, A.A. 1997. Methods and use of fecal steroide analyses for monitoring reproductive function in marmosets and tamarins. In: *A Primatologia*

do Brasil (Sousa, MBC and Menezes ALL), pp. 269-280. Editora da Universidade federal do Rio Grande do Norte

Zigmond, M., Bloom, F.E., Landis, S.C., Roberts, J. & Squire, L. 1999. *Fundamental Neuroscience*. Academic 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