VANNER BOERE SOUZA

Comissão de Pós Graduação em Psicologia
01 JUL 2002
INSTITUTO DE PSICOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

EFEITOS DO ESTRESSE PSICOSSOCIAL CRÔNICO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM SAGÜIS (*Callithrix penicillata*): UM ESTUDO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICO E FARMACOLÓGICO

INSTITUTO USP PSICOLOGIA BIBLIOTECA T4679 ex.1

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências

São Paulo

2002

VANNER BOERE SOUZA

EFEITOS DO ESTRESSE PSICOSSOCIAL CRÔNICO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM SAGÜIS (*Callithrix penicillata*): UM ESTUDO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICO E FARMACOLÓGICO

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Neurociências e Comportamento

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz

São Paulo

2002

EFEITOS DO ESTRESSE PSICOSSOCIAL CRÔNICO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM SAGÜIS (*Callithrix penicillata*): UM ESTUDO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICO E FARMACOLÓGICO

VANNER BOERE SOUZA

BANCA EXAMINADORA

Tese defendida e aprovada em: 05 / 09 / 2002

Ao Lázaro e ao Ivan Tito,

filhos amados,

meus maiores mestres ...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Carlos Tomaz, pela orientação e ensinamentos sobre ciência, formal e informal.

Aos meus pais, Ivan e Nilza, pelo grande estímulo, confiança e amor que me dedicam.

Aos meus filhos, Lázaro e Ivan Tito, que sempre me ensinam o que é amar e viver. A eles dirijo o meu carinhoso agradecimento por serem as forças motivadoras que me estimularam para escrever esta tese.

A Ita, colega, amiga, amada, que tem sido a pedra basilar da construção deste caminho. Pelo apoio, carinho, compreensão e amor que me dedica, minha gratidão e dedicação para amar-te sempre.

Aos Professores que participam da Banca Examinadora, pela paciência e por enriquecerem este trabalho com suas críticas maduras, meu mais profundo agradecimento.

À minha orientada Taíssa Pianta, sou grato pela dedicação a todo o trabalho, sem o qual não concluiríamos; assim, reconheço também a dedicação do meu ex-orientado, Gustavo Canale, hoje amigo e colaborador nesta jornada científica. Com ambos construí uma amizade e admiração, pelos ensinamentos e amadurecimento que tivemos todos juntos.

A Lívia Almeida e Denise Sampaio, alunas que colaboraram nesta empreitada. A todos os estagiários e ex-alunos que acreditaram no trabalho e o realizaram com grande dedicação.

Aos professores do Departamento de Ciências Fisiológicas, por me apoiarem em muitos momentos difíceis deste trabalho, a minha gratidão e reconhecimento. Meu especial reconhecimento pelo apoio de Eliana Pinheiro e Carlos Gonçalves.

À colega Giane Regina Paludo, pelo apoio e discussões dos trabalhos.

Ao Roberto Carlos Rocha de Moura, irmão de fé, e colega incansável na realização dos ensaios entusiasmados de cortisol. Aos Professores Francisco das Neves e Ralf Ribeiro, do Laboratório de Farmacologia Molecular da UnB (*in memoriam*). Fica o meu pesar pelo passamento deste grande pesquisador, Prof. Dr. Ralf Ribeiro.

Aos funcionários Raimundo de Oliveira (Centro de Primatologia), Jeinaldo e Washington, pelo cuidado dedicado aos animais.

Às Sras. Nara Irléia Siqueira e Daniele Brito, pelo pronto apoio e paciência nas lidas administrativas, meu afetuoso agradecimento. À Marta Mariano pelo apoio no Laboratório Integrado e por sua amizade diária.

À secretaria de Pós graduação do IP/USP, pela atenção e presteza.

À Myriam por sua paciência e apoio em momentos difíceis passados.

À Vânia Diego que me apoiou com sua amizade e coleguismo.

Aos colegas e amigos da UnB, que me apoiaram e que dia após dia estão construindo ciência, ética, coleguismo e amizade. Aos amigos e aos anônimos, aos temporariamente esquecidos, aos esquecidos para sempre, aos que não têm chances, aos condenados em si, e aos que passaram, dedico o meu estudo sobre estresse, para que possa uma semente, ter seara que o tempo espalhe, saciando a fome de saber.

À Capes e UnB pelo apoio financeiro e logístico.

ATENÇÃO!

As figuras das páginas 154 – 165,167 estão com a numeração trocada

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....i
LISTA DE TABELAS.....ii
RESUMO.....iv
ABSTRACT.....v

1.INTRODUÇÃO..... 2
1.1 ESTRESSE: CONCEITUAÇÃO..... 2
1.2 FISIOLOGIA DO ESTRESSE..... 10
1.2.1 SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO E CATECOLAMINAS..... 23
1.3 COMPORTAMENTO E FISIOPATOLOGIA DO ESTRESSE..... 24
1.4 VIAS SEROTONÉRGICAS E RECEPTORES 5-HT..... 30
1.5 A HIPÓTESE DA CASCATA GLICOCORTICÓIDE..... 35
1.6 ALTERAÇÕES SISTÊMICAS..... 40
1.7 REATIVIDADE EMOCIONAL E VULNERABILIDADE..... 46
1.8 ESTRESSE E PSICOPATOLOGIAS..... 49
1.9 LATERALIZAÇÃO DAS EMOÇÕES..... 54
1.10 MODELOS ANIMAIS NO ESTUDO DO ESTRESSE..... 56
1.10.1 MODELO DE IMOBILIZAÇÃO FORÇADA..... 57
1.10.2 MODELO DE NADO FORÇADO..... 57
1.10.3 MODELO DE RESTRIÇÃO ALIMENTAR..... 57
1.10.4 MODELO DE ISOLAMENTO SOCIAL..... 58
1.10.5 MODELO DE SEPARAÇÃO MATERNAL..... 58

1.10.6 MODELO DE CONFLITO SOCIAL..... 60
1.10.7 MODELO DE ESTRESSE PSICOSSOCIAL POR EXPOSIÇÃO AO INTRUSO..... 60
1.10.8 MODELO DA AMEAÇAHUMANA..... 61
1.10.9 MODELO DE EXPOSIÇÃO À NOVIDADE..... 62
1.10.10 MODELO DE SEPARAÇÃO DE UM PARCEIRO PREFERENCIAL..... 62
1.10.11 MODELO DE ESTRESSE IMPREVISÍVEL CRÔNICO (EIC)..... 63
1.10.12 MODELO DO LABIRINTO EM "OITO" (L8) E EXPOSIÇÃO AO PREDADOR..... 63
1.11 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E PLASTICIDADE DO COMPORTAMENTO..... 64
1.12 ESTUDOS NEUROETOLÓGICOS DO ESTRESSE..... 68
1.13 BIOLOGIA DE SAGÜIS DO CERRADO *Callithrix penicillata*.....71
1.14 OBJETIVOS DO ESTUDO..... 74

II MATERIAIS E MÉTODOS..... 76
2.1 SOBRE OS PROCEDIMENTOS DE ESTRESSE E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL..... 76
2.2 SUJEITOS.....78
2.3 ROTINAS..... 80
2.4 ALOJAMENTO E MANEJO..... 80
2.5 MICROCLIMA..... 82
2.6 FASES DO ESTUDO..... 82
2.7 COLETA DE DADOS COMPORTAMENTAIS..... 82
2.8 METODOLOGIA DAS OBSERVAÇÕES, MANIPULAÇÕES E DADOS FISIOLÓGICOS..... 89
2.8.1 A FASE PRÉ-TRATAMENTOS..... 89
2.8.2 ENRIQUECIMENTO..... 92
2.8.3 ESTRESSE..... 92
2.8.4 CONTROLE..... 93

2.8.5 FASE DE HABITUAÇÃO AO LABIRINTO..... 94
2.8.6 TESTE COM A BUSPIRONA..... 95
2.9 ÍNDICES FISIOLÓGICOS DE ESTRESSE E BEM ESTAR..... 96
2.9.1 CORTISOL..... 96
2.9.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS VENOPUNÇÕES..... 97
2.9.3 HEMOGRAMA COMPLETO..... 98
2.9.4 GLICEMIA..... 98
2.9.5 ÍNDICE BIOMÉTRICO..... 99
2.9.6 TEMPERATURA TIMPÂNICA E RETAL..... 99

III RESULTADOS.....105
3.1 COMPARAÇÃO DO COMPORTAMENTO ENTRE OS GRUPOS NA FASE PRÉ E NOS TRATAMENTOS..... 105
3.1.1 FASE PRÉ-TRATAMENTO..... 105
3.1.2 FASE DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS E CONTROLE.....105
3.2 CORRELAÇÕES..... 112
3.2.1 GRUPO C.....112
3.2.2 GRUPO E.....112
3.2.3 GRUPO S..... 116
3.3 DIVERSIDADE DO COMPORTAMENTO..... 122
3.4 NÍVEIS DE CORTISOL.....131
3.5 GLICEMIA..... 132
3.6 ÁCIDOS GRAXOS LIVRES (AGL)..... 133
3.8 PESO..... 135
3.9 HEMOGRAMA..... 137
3.10 TEMPERATURA TIMPÂNICA.....142
3.11 DADOS CLIMÁTICOS..... 149
3.12 CORRELAÇÕES ENTRE FISIOLOGIA E COMPORTAMENTO..... 149
3.13 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS GRUPOS NA FASE DOS TRATAMENTOS..... 150
3.14 TESTE NO LABIRINTO NA FASE DE HABITUAÇÃO.....152

3.15 LATÊNCIA E ERROS DE SAÍDA DO LABIRINTO.....157
3.16 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS GRUPOS NA FASE DE HABITUAÇÃO AO LABIRINTO..... 158
3.17 EFEITOS DA BUSPIRONA NO LABIRINTO EM OITO E EXPOSIÇÃO AO PREDADOR..... 160
3.18 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS GRUPOS NA FASE DE EXPOSIÇÃO AO PREDADOR NO LABIRINTO EM OITO E EFEITO DA BUSPIRONA..... 166
IV DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....
4.1 ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E FISIOLÓGICAS DO ESTRESSE...168
4.2 ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E FISIOLÓGICAS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL..... 176
4.3 ANÁLISE COMPORTAMENTAL NA FASE DE HABITUAÇÃO..... 193
4.4 FASE DE TESTE COM A DROGA..... 200
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 206
ANEXOS..... 238

LISTA DE FIGURAS

Figura n°	Página
1. Representação esquemática da Teoria da Cascata Glicocorticóide (baseada em Sapolsky, 1993).	36
2. Dois sujeitos de sagüis do cerrado (Callithrix penicillata) que participaram do experimento.	79
3. Curso temporal do experimento. Legenda: cada símbolo representa uma sessão; ▲ grupo do enriquecimento; ✦o grupo do estresse; ✻ grupo controle.	104
5. Comparação entre as diferenças do comportamento de descansar (De), comer (Co) e auto-catação (Ac), entre a fase pós e pré, dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S).	106
6. Comparação entre as diferenças do comportamento de ambulação (Am), parar (Pa) e caixa-ninho (Cx), entre a fase pós e pré, dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S).	108
7. Tempo médio (±EPM) dos comportamentos do grupo controle na linha de base (barras negras) e no procedimento de controle (barras brancas).	109
8. Tempos médios (±EPM) dos comportamentos do grupo enriquecido na fase pré (barras negras) e no enriquecimento (barras brancas).	110
9. Tempos médios (±EPM) dos comportamentos do grupo estresse na fae pré (barras negras) e no estresse (barras brancas).	111
10. Correlação entre a variação da concentração de monócitos e a variação na temperatura retal, entre a fase pré e pós, no grupo controle (R^2= 0,96; N=6). Os pontos representam as médias.	114
11. Correlação entre a variação de peso e a variação na concentração de monócitos, entre a fase pré e pós, no grupo enriquecido (R^2= 0,65;N=7). Os pontos representam as médias.	114
12. Correlação entre a variação de cortisol e a variação na concentração de linfócitos, entre a fase pré e pós, no grupo enriquecido (R^2= 0,58; N=6). Os pontos representam as médias.	115
13. Correlação entre a variação da glicemia e a variação na ambulação, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,56; N=8). Os pontos representam as médias.	117
14. Correlação entre a variação da glicemia e a variação em parar, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,54;N=8). Os pontos representam as médias.	117
15. Correlação entre a variação na concentração de leucócitos e a variação em descansar, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,96; N=8). Os pontos representam as médias.	118
16. Correlação entre a variação de explorar e a variação do comer, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,66;N=8). Os pontos negros representam as médias.	119
17. Correlação entre a variação em explorar e a variação em coçar, entre a fase pré e pós, no grupo estresse(R^2= 0,66; N=8). Os pontos representam as	119

médias.
18. Correlação entre a variação na glicemia e a variação na concentração de hemácias, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,64; N=8). Os pontos representam as médias. 120
19. Correlação entre a variação na glicemia e a variação na temperatura retal, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,85;N=8). Os pontos representam as médias. 120
20. Correlação entre a variação da temperatura timpânica esquerda e a variação no peso, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,67; N=8). Os pontos representam as médias. 121
21. Correlação entre a variação na concentração de linfócitos e a variação na concentração de segmentados, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,89; N=8). Os pontos representam as médias. 121
22. Freqüência média (± desvio padrão) de padrões comportamentais observados por sessão, no grupo controle (C), no grupo enriquecido (E) e no grupo estresse (S), na linha de base (barras negras) e nos tratamentos (barras brancas). As diferenças significativas por (U Mann-Whitney), estão assinaladas por asteriscos. 123
23. Freqüência média (± desvio padrão) de padrões comportamentais observados por sessão, no grupo controle (C), no grupo enriquecido (E) e no grupo estresse (S), na linha de base (barras negras) e nos tratamentos (barras brancas). As diferenças significativas (teste U Mann-Whitney), estão assinaladas por asteriscos. 124
24. Correlação entre o delta de ambulação e a variação na diversidade comportamental no grupo controle (R^2= 0,96, N=4), entre a fase pré e pós. Os pontos representam as médias. 128
25. Correlação entre a variação do cortisol plasmático e a variação da diversidade comportamental, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,86; N=8). Os pontos representam as médias. 130
26. Níveis médios e erro padrão da média (±EPM) do cortisol plasmático dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S). As barras negras representam a linha de base e as vazias, a fase dos tratamentos. 132
27. Glicemia média (±EPM) dos saguis do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), na fase pré (barras negras) e nos tratamentos (barras vazias). 133
28. Delta da lipemia média (±EPM) dos saguis do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S) 134
29. Comparação da variação percentual média (± EPM), do peso dos sagüis do grupo controle (C), do grupo enriquecido (E) e do grupo estresse (S), entre a fase pré e os tratamentos. 136
30. Concentrações médias (±EPM) de monócitos do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), na fase pré (barras negras) e nos tratamentos (barras vazias). 138
31. Concentrações médias (±EPM) de linfócitos do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), na fase pré (barras negras) e nos tratamentos 142

(barras vazias).
32. Temperatura timpânica média, esquerda (E), direita (D), na linha de base (LB) e no enriquecimento (E). 144
33. ANOVA das temperaturas retais dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), entre as fases pré e pós-tratamento. 148
34. Mapa Territorial da Análise Discriminante, pelos deltas das variáveis selecionadas (ver texto), do grupo controle (C ou 1), enriquecido (E ou 2) e estresse (S ou 3), na fase pós-tratamento. 151
35. Distribuição do tempo médio do comportamento de ambulação, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo das abscissas), dos grupos controle (AMBULC), enriquecido (AMBULE) e estresse (AMBULS). 154
36. Distribuição do tempo médio do comportamento de descansar, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (DESCC), enriquecido (DESCE) e estresse (DESCS). 154
37. Distribuição do tempo médio do comportamento de explorar, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (EXPLORC), enriquecido (EXPLORE) e estresse (EXPLORS). Valores no eixo das ordenadas representam os tempos médios em segundos. 155
38. Distribuição do tempo médio do comportamento de coçar, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo das abscissas), dos grupos controle (COÇC), enriquecido (COÇE) e estresse (COÇS). 155
39. Distribuição do tempo médio do comportamento de marcar, entre as sete sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (MARCC), enriquecido (MARCE) e estresse (MARCS). 156
40. Distribuição do tempo médio dos comportamentos agonísticos, entre as sete sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (AGOC), enriquecido (AGOE) e estresse (AGOS). 156
41. Tempo médio de latência (±EPM) de saída expontânea do labirinto na fase de habituação, do grupo controle (C), do grupo enriquecido (E) e do grupo estresse (S). 157
42. Porcentagem de erros de saída espontânea do labirinto, na fase de habituação. 158
43. Mapa Territorial da Análise Discriminante, pelos deltas das variáveis selecionadas (ver texto), do grupo controle (C ou 1), enriquecido (E ou 2) e estresse (S ou 3), na fase pós. Os grupos centróides estão representados na figura como: C= 0,488, E=0,861 e S=-1,197. A Função 1 Discriminante Canônica está relacionada pelo eixo das abscissas. A Função 2 Discriminante Canônica está relacionada pelo eixo das ordenadas. 159
44. Efeito de diferentes doses de buspirona e salina, no teste do labirinto em oito com exposição ao predador, no grupo controle. 160
45. Efeitos da administração de buspirona ou salina no grupo enriquecido, para o comportamento de explorar. 161
46. Efeitos da administração de buspirona ou salina no grupo estresse, para o comportamento de explorar. 162
47. Efeitos da administração de buspirona, na proximidade do predador, entre os grupos, na dose de 1,0 mg/Kg. E *vs.* C. 163

48. Efeitos da administração de buspirona ou salina à proximidade ao predador, no grupo controle. Dose de 0,5 mg/Kg vs. 1,0 mg/Kg. 164
49. Efeitos da administração de buspirona ou salina à proximidade ao predador, no grupo enriquecido. Dose de 0,5 mg/Kg vs. salina. 165
50. Efeitos da administração de buspirona ou salina à proximidade ao predador, no grupo estresse. 165
51. Mapa territorial da Análise Discriminante entre os grupos experimentais, durante a fase de administração de buspirona e salina. Os grupos centróides, dados pela Função 1, equivalem -0,601 (grupo C ou 1), a 0,982 (grupo E ou 2) e -0,381 (grupo S ou 3). A Função 1 está espacialmente disposta ao longo do eixo da abscissa. A Função 2 está espacialmente disposta ao longo do eixo das ordenadas. 167

ÍNDICE DE TABELAS

n.		página
1	Etograma que pode representar reações comportamentais frente a uma situação de estresse e situação de bem-estar	81
2	Composição dos grupos experimentais	101
3	Enriquecimentos durante o experimento	102
4	Estresores durante o experimento com o grupo estresse	103
5	Teste Kruskal-Wallis para a comparação das médias (tempos absolutos) comportamentais dos grupos experimentais na fase pré tratamentos.	107
6	Correlações entre os deltas de variáveis comportamentais e fisiológicas do grupo controle, que se diferenciaram significativamente, nas fases pré e pós.	113
7	Correlações entre os deltas de variáveis comportamentais e fisiológicas do grupo enriquecido, que se diferenciaram significativamente, nas fases pré e pós.	115
8	Correlações entre os deltas de variáveis comportamentais e fisiológicas do grupo estresse, que se diferenciaram significativamente, nas fases pré e pós.	116
9	Estatística descritiva e tamanho da amostragem das diferenças entre as variáveis na fase pós e pré do grupo controle	125
10	Estatística descritiva e tamanho da amostragem das diferenças entre as variáveis na fase pós e pré do grupo enriquecido	126
11	Estatística descritiva e tamanho da amostragem das diferenças entre as variáveis na fase pós e pré do grupo estresse	127
12	Correlações entre o delta da diversidade do comportamento e os deltas das variáveis fisiológicas e comportamentais do grupo controle, nas fases de tratamentos.	129
13	Correlações entre o delta da diversidade do comportamento e os deltas das variáveis fisiológicas e comportamentais do grupo E, nas fases pré e pós.	129
14	Correlações entre o delta da diversidade do comportamento e os deltas das variáveis fisiológicas e comportamentais do grupo S, nas fases pré e pós. Índice	130
15	Peso médio e desvio padrão dos grupos experimentais, nas fases pré e pós-tratamentos.	135
16	ANOVA, graus de liberdade , valor de F e nível de significância dos elementos figurados do sangue, na comparação entre os grupos experimentais	137
17	ANOVA, graus de liberdade , valor de F e nível de significância dos deltas dos elementos figurados do sangue, na comparação entre os grupos experimentais.	137
18	Estatística descritiva e valores de Z (Teste Kruskal-Wallis) para a comparação entre a fase pré e o tratamento, dos elementos figurados do sangue, do grupo controle.	139

19	Estatística descritiva e valores de Z (Teste Kruskal-Wallis) para a comparação entre a fase pré e o tratamento, dos elementos figurados do sangue, do grupo estresse.	140
20	Estatística descritiva e valores de Z (Teste Kruskal-Wallis) para a comparação entre a fase pré e o tratamento, dos elementos figurados do sangue, do grupo enriquecido.	141
21	Estatística descritiva e valores de Z (Teste Kruskal-Wallis) para a comparação entre a fase pré e o tratamento, dos elementos figurados do sangue, do grupo estresse	143
22	Valores de t (teste t pareado), graus de liberdade e nível de significância das comparações das temperaturas timpânicas médias do mesmo lado, na fase pré e nos tratamentos.	144
23	Correlações (Pearson) bilaterais das temperaturas timpânicas em cada fase do estudo, de cada grupo experimental.	145
24	Níveis de significância e erro padrão da média, da comparação univariada entre os grupos experimentais, para a temperatura retal na fase dos tratamentos (Teste Tukey).	146
25	Correlações (Pearson) entre a temperatura retal e a temperatura timpânica em cada ouvido dos grupos experimentais, na fase pré e nos tratamentos.	147

RESUMO

SOUZA, Vanner Boere. **Efeitos do estresse psicossocial crônico e do enriquecimento ambiental em sagüis (*Callithrix penicillata*): um estudo comportamental, fisiológico e farmacológico**. São Paulo, 2002. 238 p. Tese (Doutorado). Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.

O estresse é uma resposta adaptativa com componentes neuroendócrinos e comportamentais para manter a homeostase. Sob intenso estresse, pode haver uma ruptura destes mecanismos adaptativos, causando danos na integridade fisiológica e psicológica. O enriquecimento ambiental ameniza os efeitos do estrese. O sagui (*Callithrix penicillata*) é resistente aos glicocorticóides e possui uma série de estratégias defensivas, favorecendo o desenvolvimento de um modelo potencialmente muito interessante para o estudo do estresse. Neste trabalho, se objetivou estudar em saguis, a resposta comportamental, fisiológica e farmacológica ao estresse e às condições enriquecidas do ambiente. Vinte e quatro animais foram observados em uma linha de base durante 9 semanas. Quatorze padrões comportamentais foram analisados, com o método de animal focal e registro contínuo. Seguiram-se 21 dias para sujeitos submetidos ao estresse (N=10), ao enriquecimento (N=7) e sem manipulação (controle, N=7). No estresse os sujeitos foram isolados e expostos diariamente a breves estressores psicológicos. No enriquecimento os sujeitos receberam inovações e tarefas de obtenção de alimentos no viveiro. Após os tratamentos, seguiu-se uma habituação ao labirinto em "8" e exposição ao predador taxidermizado. Após, os sujeitos receberam três doses de buspirona e salina, para avaliar a resposta do sistema serotonérgico, no paradigma do labirinto em "8". Foram coletados dados sobre peso, sangue para hemograma, plasma para dosagem de cortisol, ácidos graxos livres e glicemia. Medidas de temperatura timpânica e retal, também foram coletadas. Os resultados sugerem que o estresse causou uma ruptura dos padrões comportamentais supostamente adaptativos, aumentando o tempo de retraimento na caixa ninho. Houve o aumento na corticosolemia e ácidos graxos livres; ocorreu hipoglicemia e severa perda de peso.

A imunidade aparentemente permaneceu funcional. O grupo estressado teve uma deficiência de aprendizagem na habituação ao labirinto e foi relativamente refratário à ação da buspirona. O grupo enriquecido diminuiu a agressão e aumentou o explorar, mas apresentou uma resposta ansiogênica à buspirona. Os tratamentos alteraram substancialmente a resposta dos indivíduos aos desafios emocionais. Esta alteração atingiu o sistema serotonérgico. Os grupos adotaram diferentes estratégias de defesa e aproveitamento das condições ambientais. Considerando a resistência ao cortisol, este táxon pode ser beneficiado com uma grande plasticidade comportamental. O modelo de estresse pareceu ser apropriado mas o enriquecimento mereceria uma reavaliação para um ganho maior de resistência aos desafios emocionais.

ABSTRACT

SOUZA, Vanner Boere. **Effects of the chronic psicossocial stress and environmental enrichment in marmosets (*Callithrix penicillata*): a behavioral, physiological and pharmacological study.** São Paulo, 2002. Doctoral Thesis. Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.

The stress is an adaptive response with neuroendocrine and behavioural chacarateristics to maintain homeostasis. Under intense stress, it can have a rupture of these adaptive mechanisms. Environmental influences the resistance to the stress. The marmoset, is resistant to the glicocorticoids and have developed a series of defensive strategies. In this work, it aimed at to accomplish a study in marmosets, on the response of behavioral, physiological and pharmacological to the stress and the environmental enriched conditions. Twenty four marmosets were observed in a base line for 9 weeks. Fourteen behavioral patterns were analyzed, with the method of focal animal. 21 days of treatments were followed for subjects submitted to the stress (N=10), to the enrichment (N=7) and without manipulation (controls, N=7). In the stress the subjects were isolated and exposed daily to brief psychological stressors. In the enrichment the subjects received innovations and tasks of obtaining food. It was followed after the treatments, a habituation to the maze in "8" and exhibition to the predator. After the habituation, the subjects received buspirone (three dosis) and saline, in the paradigm of the maze in "8." At the end of the base line and of the treatments, data were collected on weight, blood for blood count, cortisol, free fat acids and glicemya. Measures of timpanic and rectal temperature were also collected. The results suggest that the stress caused a rupture of the behavioral patterns, increasing the time of hide in the box nest. There was the increase in the cortisol and free fat acids; it happened hipoglicemya and severe weight loss. The immunity seemingly stayed functional. In the subsequent phases, the stressed group had a learning deficiency in the habituation to the maze and it was relatively refractory to the action of the buspirone. The enriched group reduced the aggressive behavior, a consistent increase in the tendency of exploring, but an apparent ansiogenic response

to the buspirone. The treatments altered the response substantially of the individuals to the emotional challenges. This alteration reached the response to the buspirone, being supposed that the serotonegic system was sensitized. The groups adopted different defense strategies and use of the environmental conditions. Considering the resistance to the cortisol, marmosets can be benefitted with a great plasticity naural and behavioral. The stress model seemed to be appropriate but the enrichment would deserve a new aproach for a larger earnings of resistance to the emotional challenges.

EFEITOS DO ESTRESSE PSICOSSOCIAL CRÔNICO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM SAGÜIS (*Callithrix penicillata*): UM ESTUDO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICO E FARMACOLÓGICO

JUNHO DE 2002

VANNER BOERE SOUZA

Orientador: Prof. Dr. CARLOS ALBERTO BEZERRA TOMAZ

I. INTRODUÇÃO

1.1 ESTRESSE: CONCEITUAÇÃO

Os efeitos entre a interação do meio ambiente e o organismo sempre preocupou o ser humano. A medicina moderna foi marcada, há mais de um século (em 1879), pelos postulados do eminente fisiologista francês Claude Bernard (1957) sobre o meio interno (*miliéu intèrieur*). Teorizava Bernard que o meio interno de um organismo deve permanecer constante, apesar das mudanças externas. Pode-se considerar este postulado um marco no estudo do estresse, como bem salientou o médico Hans Selye (1974), fundador do estudo sistemático do estresse, há aproximadamente 70 anos. Este autor definiu as bases do estudo do estresse, ao conceituar que estresse é uma resposta biocomportamental do organismo à qualquer desafio (estressor) que perturbe a homeostase, ao ponto de danificar a regulação da resposta, sendo inerente à todos os animais (Selye, 1974). Ele admitia inicialmente que a resposta ao estresse (**RE**) é indistinta, mobilizando sistemas neuroendócrinos da mesma forma, para qualquer que fosse o estressor, como o confronto com um predador, a necessidade de procurar alimentos ou o encontro com indivíduo estranho à sua espécie.

O termo *stress* já era reportado no século XIV como adversidade social e econômica prevalente naqueles tempos na Inglaterra (Brantley & Thomason, 1995). Mais tarde, no século XVIII, baseado nos conceitos de Robert Hooke, o físico Thomas Young definiu o termo no contexto das ciências exatas, objetivamente conceituando que "*stress* é a taxa da força contra um corpo elástico", postulado que foi mais tarde apropriado pela engenharia (Brantley & Thomason, 1995). Em 1936, Hans Selye toma emprestado da engenharia o termo e define, como descrito acima, o termo *stress* como um recurso fisiológico para adaptação a qualquer evento

desafiador da homeostasia (1974). Entretanto, com o avanço do conhecimento sobre o fenômeno, o termo estresse se tornou mundano. Ouve-se ou lê-se em vários recursos de mídia o termo justificando estados emocionais ou físicos relacionados a desconforto e dano. Estresse é reportado nos dias de hoje como o "responsável" por uma pletora de males cotidianos ou clínicos que afligem humanos e animais. Assim se justificam estados e eventos como cansaço, irritação, alterações súbitas do humor, agressividade, desinteresse sexual, depressão, ansiedade, fobias, lesões de esforço repetido, gripe, surtos herpéticos, alergia, melancolia, adicção e tantos outros.

No meio científico, o conceito de estresse sofreu alterações. O uso do termo estresse não encontra consenso entre pesquisadores, em parte porque várias são as áreas do conhecimento investigando o fenômeno, e, por outro lado, o fenômeno é amplamente disseminado no mundo vivo como um mecanismo de adaptação (Breznitz & Goldberger, 1986).

De uma maneira geral, interpretamos que:

estresse *é a interação adaptativa neuroendócrina e comportamental de um organismo, hígida ou patológica, com os desafios que potencialmente possam danificar o equilíbrio entre os sistemas internos.*

Em outras palavras, pode-se dizer que estresse é um mecanismo de defesa do organismo para os desafios cotidianos ou extraordinários, envolvendo primariamente vias neuroendócrinas que sustentam o comportamento adaptativo.

O estresse é composto pela resposta (RE), pelo estímulo e pelo contexto temporal. O estímulo também é denominado como *stressor* em idioma inglês, podendo ser adaptado para um anglicismo com o termo ***estressor***.

Grandes avanços ocorreram desde a época dos estudos de Selye (1974) para o entendimento dos eventos relacionados ao estresse. O que até pouco tempo atrás figurava como uma hipótese, vem se confirmando pela elucidação dos vários passos neurofisiológicos e comportamentais.

Grande parte do conhecimento sobre o fenômeno estresse advém de estudos comparativos, que esclarecem as raízes filogenéticas da plasticidade do comportamento e a interação entre o meio ambiente e o cérebro. Entretanto mais questões surgem à medida que vai se conhecendo o cérebro e o comportamento dos animais frente aos estressores, especialmente aqueles com forte componente psicológico. Considerando que os processos cognitivos e emocionais não são unicamente inerentes aos humanos, os avanços para o conhecimento do impacto do

estresse podem ser bem estudados em primatas não-humanos, devido à proximidade filogenética.

De acordo com Selye (1974), o estresse não é inevitável, pois faz parte da vida de todos os animais, mesmo antes de nascerem. Pode ter como resultado algo prazeroso (denominado por Selye como *eustress*), ou desagradável (*distress*). Adota-se neste estudo o termo **estresse**, como a interação de qualquer desafio e resposta, com ênfase no emocional com alto risco de dano, que possa criar um resultado adaptativo. Alto risco entenda-se como alterações que possam diminuir claramente a aptidão fisiológica, cognitiva e emocional.

O estresse não pode ser evitado e nem deve ser evitado, pois permite aos indivíduos se prepararem para situações em que possa haver a necessidade de enorme gasto energético e capacidade restauradora. Por isso, o estresse tem um significado altamente adaptativo para a sobrevivência dos indivíduos. A sensação desagradável que acompanha certas situações de estresse, ou pelo efeito desse, é um sinal de alerta conspícuo de que danos poderão acontecer ou estão ocorrendo, permitindo que os sistemas se preparam para períodos de intenso desafio físico ou psíquico (Nesse, 1999).

Selye (1974) iniciou o estudo do estresse através de um feliz acaso (para Selye), permeado por uma visão aguçada dos resultados dos seus experimentos. Ainda um jovem médico interessado no efeito de uma determinada substância, Selye iniciou injetando cronicamente em ratos um extrato de glândulas reprodutoras de bovinos que faria um suposto efeito desejado. Como protocolo de qualquer método neste sentido, no experimento havia um grupo controle que era injetado com solução salina. Selye inicialmente ficou entusiasmado com os resultados ao constatar que o seu grupo de ratos injetados com o extrato desenvolveu uma série de alterações como atrofia do timo, perda da condição física, hiperplasia das adrenais e úlceras gastrointestinais. Entretanto, ao verificar o grupo controle (injetado com salina), Selye constatou que os ratos haviam desenvolvido as mesmas alterações que os ratos do grupo injetado com o extrato.

Alguém menos atento poderia simplesmente encerrar por aí o experimento, entendendo apressadamente que ocorrera um erro qualquer e que deveria recomeçar tudo de novo. Mas uma mente arguta como a de Selye, levou-o a concluir que talvez a explicação destas alterações em ambos os grupos pudesse ser algo comum a ambos, como por exemplo, a sua manipulação para as injeções do extrato e da

salina[1]. Selye então realizou uma série de experimentos, submetendo os animais a diversos tratamentos físicos extremos como, por exemplo, frio ou calor intenso, manipulação, contenção, fadiga por atividade física, privação de água e alimentos. A observação dos efeitos, comuns independente do tipo de tratamento aplicado, levou Selye (1974) a concluir que os animais apresentavam uma Síndrome de Adaptação Geral, caracterizada por três fases: Reação de Alarme, Estágio de Resistência e Exaustão. Selye conclui que através destas seqüências, o organismo desafiado por qualquer fator físico que perturbasse a homeostase, desencadeava uma série de respostas fisiológicas, hormonais e comportamentais comuns que levavam o indivíduo a debelar o elemento perturbador e resolver a situação, adaptando-se. Mobilização de energia era uma das principais causas destas reações, pois quaisquer que fossem os desafios, a manutenção da homeostase demandaria um gasto energético.

Mais tarde, Selye (1974) se surpreendeu com as repercussões de seus estudos, especialmente sobre a amplitude de ações a que a reação de estresse demandaria no campo psicológico. Selye (1974) reconheceu que não era apenas uma demanda energética, mas que muitos fatores poderiam estar desencadeando a resposta ao estresse, inclusive aqueles "puramente psicológicos". Grande parte das pesquisas resultou em um desenvolvimento de fármacos que alteravam, facilitavam ou revertiam os efeitos do estresse (Selye, 1986). Por outro lado, houve um avanço no entendimento das forças evolutivas, situacionais, genéticas e ontogenéticas que moldavam a resposta ao estresse e como o meio interagia com estas forças. Selye (1974) deixou claro que através do comportamento poder-se-ia diminuir ou até mesmo evitar os efeitos do estresse. Então, uma abordagem integrada entre a farmacologia e a etologia seria mais vantajosa (Selye, 1986).

O trabalho de Selye (1986) foi decisivo para a elucidação dos mecanismos do estresse e desencadeamento de uma escola de profícua produção científica. Um dos resultados destes estudos posteriores foi verificar que a reação não era inespecífica, que fatores comportamentais, sociais ou psicológicos, poderiam desencadear alterações clínicas tão severas quanto consunção, comportamento mal adaptativo,

---

[1] Selye* mais tarde, em suas palestras, com humor comentava que graças à sua terrível incapacidade de manipular os roedores, freqüentemente deixando-os escapar nos momentos das injeções, foi decisivo para o achado (apud Sapolsky, 1993).

distúrbios emocionais, diabetes, hipertensão, imunosupreesão, osteoporose e uma extensa lista de quadros fisiopatológicos.

A abordagem farmacológica para a modulação dos efeitos do estresse modifica o ambiente interno, a relação fisiológica entre os vários tecidos, neurotransmissores, hormônios e receptores do organismo. O desenvolvimento e, sobretudo as condições de vida em que um organismo vive, teria potencialmente a capacidade de causar alterações tão profundas como aquelas farmacológicas. Um ambiente enriquecido, de suporte social e com oportunidades de pleno desenvolvimento comportamental, por exemplo, seria um pano de fundo para que o indivíduo desencadeasse respostas com menor risco de dano frente a um estressor. De fato, vários estudos têm demonstrado que uma abordagem integrada entre farmacologia e psicoterapia são capazes de exercer um efeito sinérgico na recuperação das desordens afetivas, dos distúrbios do humor e emocionais (Graeff & Guimarães, 1999).

Outro dos fundamentais achados de Selye (1974), foi verificar que o eixo hipotálamo-pituitária-adrenais (**HPA**) estava fortemente envolvido na mediação RE. Em praticamente todos os níveis taxonômicos dos vertebrados é reconhecido o envolvimento das adrenais ou glândulas homólogas na reação de estresse. A encefalização, o aumento e a concentração de corpos neuronais anteriores dominantes, centralizando e integrando a ações mediadas pelo tecido nervoso, tem um crescendo desde invertebrados até os animais mais complexos (Turnbull & Rivier, 1999). Esta encefalização é acompanhada por uma modificação nas funções de estruturas consideradas primitivas em outros táxons como répteis e peixes. A encefalização é acompanhada por um crescimento extraordinário no número de interneurônios, especialmente na região cortical do encéfalo. A porção límbica, não olfativa do arquipálio se torna o hipocampo e o complexo amigdalóide nos mamíferos, com a função de integrar e coordenar as reações emocionais, inclusive com o seu conteúdo aprendido. O hipotálamo já se faz presente em poiquilotermos, integrando e coordenando funções hormonais como a reprodução, o controle hídrico e da temperatura. Embora em Crustacea haja uma íntima relação entre o sistema endócrino e o sistema nervoso, a formação e centralização do controle endócrino na pituitária já se faz presente verdadeiramente em peixes teleósteos, portanto é uma estrutura com muita ancestralidade na história da evolução (Sapolsky, 1993). Em

peixes, o eixo controlador é caracterizado por uma ligação entre o hipotálamo, a pituitária e o tecido interrenal (Eixo HPI), com a secreção de cortisol como principal glicocorticóide em Osteichthyes (Bernier & Peter, 2001). Até mesmo em artrópodes pode se encontrar na hemolinfa, células macrofagocíticas que secretam moléculas citocina-símiles, com receptores e interação com interleucinas clonadas (Turnbull & Rivier, 1999).

Animais diferem em suas relações com o meio, dependendo de reações emocionais e cognitivas. O meio ambiente e as relações sociais podem alterar profundamente o comportamento. Diferenças no perfil comportamental ou no perfil emocional, como todo traço fenotípico, são dependentes da hereditariedade, do desenvolvimento e do contexto em que o indivíduo vive. Este conjunto de variáveis interagem para que o comportamento possa manter a integridade do indivíduo e contribui para a evolução de traços adaptativos importantes. Entretanto, estudos sobre o comportamento freqüentemente tendem a minimizar ou excluir o efeito das diferenças individuais nos resultados observados. Estas diferenças podem ser importantes para explicar variantes na população, que estariam mais ou menos representadas, podendo ser uma das peças chaves dos processos de evolução do comportamento. Ademais, parece provável que pressões ambientais tenham selecionado indivíduos menos suscetíveis, ou menos sensíveis, a certas demandas, o que poderia ser um passo importante para a aquisição de habilidades e melhor adaptação. Estas vantagens podem ser obtidas por um metabolismo mais elástico, maior resistência imunológica, maior plasticidade comportamental, maior adaptabilidade às novas situações, respostas emocionais balanceadas pela demanda e sucesso social. Um substrato neural íntegro e funcional é *conditio sine qua non* para que todas estas vantagens surjam. A interação balanceada e oportuna entre as variáveis neurais, hereditárias, fisiológicas, ambientais e sociais, pode consubstanciar o sucesso em ultrapassar os desafios cotidianos.

Dependendo de hereditariedade, uma sub-população de animais dentro de uma mesma espécie é mais reativa, geralmente caracterizados por comportamento mais agressivo, impulsivo, tímido ou pouco sociável (e.g. camundongos: Clement & Chapouthier, 1998; ratos: Conde et al., 2000; Marissal-Arvy et al., 2000; Sagvolden, 2000; raposas: Trut, 1999; macacos-de-cheiro: Lyons et al., 1999; humanos: Brandon et al., 1989; Roy et al., 2001). Ao nível de espécie também se tem

observado algumas tendências gerais rígidas do comportamento (Mendoza & Mason, 1997; Shepherd & French, 1999).

Além de hereditariedade, o perfil emocional pode ser cunhado ao longo do desenvolvimento do indivíduo ou ser dependente da experiência. Vários fatores ambientais e sociais em determinados períodos do desenvolvimento influenciam os estilos de resposta emocional, às vezes de forma duradoura e impermeável às influências ambientais imediatas.

Os seres humanos e os animais dividem traços fisiológicos e comportamentais comuns. Algumas destas similitudes estão presentes tanto em táxons primitivos (p.ex. salamandras: Lowry et al. 2001) quanto filogeneticamente mais novos e complexos. A RE é um traço adaptativo tão importante, que sem a sua expressão, a sobrevivência ao mais cotidiano dos desafios, como o jejum interprandial, pode ser irreversivelmente comprometida.

A RE não é somente um mecanismo de adaptação comum em animais plenamente formados, mas já se faz presente mesmo na vida fetal e peri-natal, podendo influenciar o desenvolvimento psicomotor e emocional do sujeito (Clarke et al., 1996; Mineka et al., 1986; Schneider & Suomi, 1992; Schneider et al., 1998; Weinstock, 1997). Entretanto, sob determinadas condições, a RE pode levar a um estado descompensado, catabólico, de curso mórbido. Dentre estas condições adversas estão a prolongada exposição a um estressor, a dimensão do estressor e a forma como o estresse é percebido (Sapolsky, 1993).

Primatas não-humanos são dotados de estruturas morfofuncionais semelhantes a humanos. Muitos dos seus padrões comportamentais e reações emocionais possuem bases evolutivas e ontogenéticas comuns. A complexidade comportamental e social de primatas não é encontrada em outras espécies animais de uso em laboratório. A variabilidade de respostas entre os indivíduos é um reflexo desta grande complexidade (Laudenslager & Fleshner, 1994). Por isso, primatas não-humanos têm sido usados em pesquisas biomédicas e comportamentais para se compreender mecanismos comuns subjacentes às respostas emocionais ao estresse.

Vários são os fatores circunstanciais que influenciam a resposta emocional, como por exemplo: ambiente social hostil (Blanchard et al., 1993; Kamarck et al., 1998), a escassez de recursos alimentares (Lyons et al., 1999), densidade demográfica elevada (Erwin, 1979), o estado reprodutivo (Saltzman et al., 1996), a exposição prolongada (ou recorrência) ao estresse (Sapolsky, 1990), a sazonalidade

(Ferrari & Lopes-Ferrari, 1990) e a presença de estímulos ameaçadores (Barros et al., 2000; Barros et al., 2002). Estes fatores circunstanciais se confundem e são interdependentes às vezes com aqueles fatores modeladores ontogenétcos e filogenéticos.

Em laboratório, experimentos bem controlados empregando paradigmas de estresse em primatas, encontraram aumento nos comportamentos agressivos, estereotipia, auto-estimulação, depressão, hiper reatividade, auto-isolamento, auto-agressão e morte (Clarke et al., 1996; Harlow et al., 1971; Sapolsky, 1993). No plano da fisiopatologia, tem-se encontrado diabetes, consunção, osteoporose, aterosclerose, úlceras gastroduodenais, síndrome cushingóide e supressão da imunidade (Sapolsky, 1992). Estas respostas ocorrem quando pressões ambientais e fatores predisponentes do indivíduo interagem para moldar respostas emocionais pouco adaptativas. Estas reações parecem ser comuns à espécie humana, estando presente em neuropsicopatologias aparentemente tão diversas como a depressão, a esquizofrenia, a anorexia nervosa, a doença de Alzheimer, o distúrbio da fadiga crônica e a ansiedade (O'Brien, 1997).

Em adição aos estudos de corticalização em cérebros de animais dependentes de fatores ambientais (Greenough et al., 1973), mais recentemente, estudos com roedores, com prossímios e com antropóides, descreveram uma rápida plasticidade neural de algumas áreas cerebrais, relacionadas à aprendizagem e ao controle emocional (Gould et al., 1998), em função da estimulação (riqueza do ambiente) ou dependentes de estresse. Alterações comportamentais têm acompanhado estas modificações neurais, principalmente relacionadas à aquisição cognitiva.

Chama a atenção que estas regiões com grande plasticidade no cérebro, são comuns ao mecanismo que integra e regula a resposta ao estresse, principalmente em seus aspectos emocionais (Gould & Tanapat, 1999). Estas descobertas estão provocando um redimensionamento na compreensão da interação do meio com o cérebro. Aspectos do *modus vivendi* dos animais, incluindo o ser humano, embora reconhecidos como importantes na modulação dos efeitos emocionais do estresse, não têm sido profundamente investigados. Modelos análogos a situações de grande demanda emocional e psicopatologias usando roedores são preponderantes. Em contrapartida, antropóides são pouco estudados neste sentido.

O sagüi, um antropóide neotropical do gênero *Callithrix*, tem sido usado de forma extensiva na pesquisa biomédica e comportamental (Smith et al., 2001). Este

sucesso se deve ao seu relativo baixo custo, alta taxa reprodutiva, fácil adaptação ao cativeiro e por não se encontrar ecologicamente vulnerável. Reconhece-se que primatas neotropicais são resistentes ao cortisol, possuindo altos níveis basais de glicocorticóides (Brandon et al., 1989), o que supostamente conferiria uma vantagem adaptativa em ambientes instáveis, como aqueles em que provavelmente sagüis foram selecionados (Ferrari, 1993). Apesar disto, ainda permanece por se conhecer variantes no comportamento nestes pequenos antropóides que possam, como modelos, ser comparáveis à plasticidade do comportamento humano.

Com isto em mente, iniciou-se um estudo para verificar se sagüis (*Callithrix penicillata*) vivendo sob árduas condições sociais e ambientais estariam mais vulneráveis, podendo desenvolver sinais claros de estresse crônico quando comparados a grupos vivendo sob maior abundância de recursos e oportunidades de desempenhar com grande amplitude o repertório comportamental. Ademais, há o questionamento que sob condições adversas sagüis alterariam o comportamento de esquiva em detrimento de outras atividades "positivas" (que teoricamente aumentariam a aptidão dos indivíduos). Para responder em parte estas questões, realizou-se um estudo com sagüis em cativeiro, adotando primeiramente uma linha de base comportamental para determinar as diferenças e similaridades entre os mesmos. Após, seguiram-se fases com condições de estresse e enriquecimento e um teste emocional/cognitivo no labirinto em oito, desenvolvido por Barros et al., 2000.

1.2 FISIOLOGIA DO ESTRESSE

Em qualquer animal homeotermo, a alta eficiência da RE está sustentada por dois eixos: o simpático-adrenal-medular (**SAM**) e o hipotálamo-pituitária-adrenais (**HPA**) (Sapolsky, 1993; Gerra et al., 2001), cujos mecanismos e substratos são conservados por entre os vários táxons, de répteis a humanos (Creel, 2001; Gregory & Schmid, 2001; Hanley & Stamps, 2002; Ledoux, 1998; O'reilly & Wingfield, 2001; Sapolsky et al., 1986). Ambos os eixos podem ser ativados pelos mesmos estressores físicos, mas com diferenças fundamentais com estressores psicológicos. O eixo SAM quando ativado, é estimulado por vias simpáticas que excitam a área medular das adrenais, liberando em maior parte a adrenalina e em menor escala a noradrenalina (**NA**). Estes hormônios conferem uma resposta rápida, explosiva, indistinta e de grande custo energético para o organismo, ao ativar o sistema cardiovascular, pulmonar, muscular e cerebral para uma ação rápida de perigo

iminente. Há uma ativação simpática geral e a reação não se sustenta por muito tempo porque a elasticidade dos sistemas sob a influência destes hormônios é limitada. Interessante observar que a ativação do eixo SAM é aparentemente refratária a processos de habituação e parece independer de estruturas mais elevadas do sistema nervoso central – **SNC** (Gerra et al., 2001). O controle central do eixo SAM localiza-se em núcleos hipotalâmicos e no tronco encefálico, que possuem íntima ligação com estruturas superiores, embora possam ser ativados independentemente destes (Berne & Levy, 1993).

O eixo HPA confere dinâmica e velocidade por sua ação em cascata envolvendo uma seqüência complexa de eventos hormonais e neurohormonais, com vários pontos de retroalimentação negativa, cuja finalidade última, acredita-se, é a mediação pelo cortisol no controle da homeostase.

Em condições fisiológicas o eixo HPA depende de estruturas mais elevadas do SNC, acreditando-se que sua ativação sirva em parte para refrear muitos dos efeitos perigosamente explosivos da resposta do eixo SAM (Sapolsky, 1993). O hipotálamo é uma estrutura de aproximadamente 10 g (em humanos), situada na região basal do cérebro, logo abaixo do tálamo, que serve como núcleo de uma série de funções vitais do organismo como sede, fome, controle térmico, ciclos sexuais e osmorregulação.

O hipotálamo é servido por várias aferências sensoriais, somáticas, motoras, límbicas e corticais, que se comunicam com vários núcleos neste órgão. O hipotálamo pode ser considerado como integrante do sistema límbico e processa a resposta autonômica em situações de maior demanda. Desta maneira, tanto estímulos externos como internos são capazes de estimular os neurônios concentrados nos núcleos hipotalâmicos. Para o estudo do estresse, o núcleo mais importante é o núcleo paraventricular (**PVN**), cujos neurônios são capazes de secretar um conjunto de secretagogos, cujo mais importante é o **CRH** (Hormônio Liberador dos Corticotropos – também denominado de **CRF**). O CRH é um peptídeo de 41 aminoácidos que regula a liberação dos peptídeos derivados da pró-opiomelanocortina da hipófise (Spina et al., 2000)[2]. Após percorrer as projeções

---

[2] O CRH pode induzir alterações autonômicas e comportamentais no SNC para o estresse, independente do eixo HPA; parte desta ação é como neurotransmissor (Spina et al., 2000), em projeções em núcleos noradrenérgicas do loco cerúleo, com ações ansiogênicas (Arborelius et al.,

axonais, o CRH é secretado diretamente na rede de capilares que emergem do hipotálamo, o sistema porta-hipofisário, localizado em uma região no pedúnculo hipofisário, denominada eminência média. Através desta via, o CRH atinge receptores de membrana dos corticotropos. Após a formação do complexo CRH-receptor, por mecanismos de segundos mensageiros (AMPc), há a ativação da síntese e liberação para a circulação sangüínea, do **ACTH** (hormônio Adrenocorticotrópico).

A pituitária é uma pequeníssima glândula (aproximadamente 0,5 g no ser humano), situada no osso esfenóide, em uma depressão denominada célula túrcica. É uma glândula de origem mista, neural e endócrina. A hipófise (ou pituitária) é dividida na maioria dos mamíferos em três porções: a hipófise anterior (adenohipófise), a hipófise média e a hipófise posterior (neurohipófise). No ser humano não se reconhece a hipófise média. Nesta glândula são secretados pelo menos oito hormônios, que influenciam magistralmente tecidos, órgãos e outras glândulas no organismo. Deficiência em alguns de seus hormônios pode facilmente causar alterações mórbidas. Como mencionado, na adenohipófise existe um conjunto de células secretoras (corticotropos) que possuem receptores de membrana para o CRH. Os corticotropos irão sintetizar e secretar na corrente circulatória, o ACTH ou Hormônio Ativador Córtex Adrenal. Como o próprio nome resume, este hormônio vai ativar células na camada fasciculada da cortical das adrenais.

A noção de homeostase tem sido modificada pelas evidências de que os organismos tendem a viver sob maior elasticidade do que tentando se aproximar de um ponto de equilíbrio. Índices fisiológicos como a temperatura e a agregação plaquetária variam ao longo do dia, por exemplo (Menaker et al., 1997). Características do comportamento também podem variar, como a atenção e a sensibilidade à dor (Menaker et al., 1997). Os hormônios e neurohormônios relacionados a RE podem variar amplamente, dependendo de ciclos, demandas e tipo de estressores. Portanto, parece não existir um ponto de equilíbrio, mas uma elasticidade por onde os mecanismos de defesa podem se manifestar ao custo de energia e adiando outras funções. Esta elasticidade é denominada de alostase (*alostasis* sensu Schulkin et al., 1998) e este custo é denominado genericamente

---

1999). Muitas psicopatologias são acompanhadas de aumento nos níveis de CRH (Arborelius et al., 1999).

como fardo alostático (*alostasis load*). A alostase permite que o organismo se adapte à demanda, mas quando os custos ultrapassam a capacidade de adaptação, ocorre um processo de dano e desencadeamento de processos bioquímicos, moleculares, sistêmicos, psíquicos e comportamentais que podem ir minando pouco a pouco a resistência. Os danos são obviamente reconhecidos como patologias associadas ao estresse (McEwen, 1996). Desta forma, a resposta ao estresse tem a capacidade ambígua de reparar e danificar (*wear and tear* sensu McEwen, 1996), conforme as condições em que poderá ocorrer.

O ACTH, via circulação sistêmica, vai ativar células na camada fasciculada da cortical das adrenais, para a síntese e secreção de glicocorticóides (**GCs**), principalmente cortisol e corticosterona.

Os GCs das adrenais são conhecidos como os principais hormônios que estão presentes e desencadeiam uma série de reações da RE. Após a ação do ACTH, os GCs podem ser sintetizados e liberados nas adrenais em questão de minutos. Os GCs desencadeiam respostas imediatas nos tecidos alvos, mas são melhor caracterizados por desencadearem uma ação prolongada, às vezes "modelando" os eventos neuroquímicos cerebrais para o resto da vida, em períodos ditos sensíveis às ações de neurohormônios (Bornstein, 1989).

No dia a dia, os GCs são mantidos em níveis basais por alças de retroalimentação negativa principalmente no hipotálamo, na adenohipófise e com muita ênfase, no hipocampo. A integridade destas estruturas e a manutenção das alças de retroalimentação conferem um ritmo circadiano nos níveis de GCs no organismo. Em animais diurnos, os níveis de GCs são mais elevados pela manhã, antes do despertar e declinam ao longo do dia, tendo um zênite ao anoitecer. Devido ao seu papel glicemiante, ativando a gliconeogênese hepática (Eckert et al., 1988), acredita-se que este ápice nos níveis de GCs ao amanhecer é importante para mobilizar energia no início das atividades de animais diurnos, que raramente encontram fontes alimentares prontamente disponíveis. Contudo, as ações clássicas dos GCs são: modular a glicemia, mobilizar aminoácidos e modular a resposta imunológica (Eckert et al., 1988).

O estudo fenomenológico e do comportamento do SNC esbarra em limitações metodológicas e éticas, resultando na alternativa válida de se investigar metabólitos neurohumorais periféricos (Depue & Kleiman, 1979). Entre estes, os GCs são os melhores indicadores de estresse, principalmente quando associados a outros índices

(Depue & Kleiman, 1979). Os GCs das adrenais são conhecidos como os principais hormônios que estão presentes e desencadeiam a RE. As ações clássicas dos GCs são modular a glicemia, mobilizar aminoácidos e modular a resposta imunológica (Eckert et al., 1988). Estes hormônios são sintetizados do colesterol, por estimulação do ACTH, que se liga a receptores especiais de membrana na região fasciculada do córtex adrenal. Após a ação do ACTH, os GCs podem ser sintetizados e liberados nas adrenais em questão de segundos.

O ACTH é controlado por um conjunto de neurohormônios e hormônios, agindo na adenohipófise, denominados coletivamente de secretagogos. O mais importante dos secretagogos é o CRF, oriundo da clivagem de uma grande molécula denominada proopiomelanocortina (**POMC**), sintetizada principalmente na divisão parvocelular dorsomedial no PVN e no núcleo supraóptico (**SON**) do hipotálamo (Feldman et al., 1995). Sob o estímulo de um estressor, o CRF é secretado pelas terminações axonais, no sistema porta-hipofisário. Conforme o estressor e a estrutura límbica envolvida, várias vias podem convergir para a liberação de CRF pelo hipotálamo na eminência média (Feldman et al., 1995), destacando-se as vias noradrenérgicas e serotonérgicas. As reações comportamentais e fisiológicas que se seguem ao estresse são dependentes em parte, de estruturas localizadas no prosencéfalo, principalmente no hipotálamo, amígdala e hipocampo (Gould & Tanapat, 1999).

O PVN por sua vez, está sob o controle da formação hipocampal (Sapolsky et al., 1991), porém sem ligação direta desta (Feldman et al., 1995). Fibras do hipocampo dorsal se inserem através do fórnix dorsal para o quadrante dorsomedial do núcleo septal lateral; as fibras do hipocampo ventral projetam-se via fimbria para o quadrante ventrolateral do núcleo septal lateral; estas fibras terminam aonde se iniciam as fibras hipotalâmicas, sendo desta maneira, indireta a influência do hipocampo sobre o PVN. Neurônios que a partir do PVN enviam projeções para a eminência média são reconhecidos como receptores de axônios oriundos do septo lateral (Feldman et al., 1995).

A amígdala participa ativamente na resposta ao estresse, acreditando-se receber informações sensoriais e estimular uma resposta de emergência, ativando o PVN hipotalâmico, antes mesmo de ser processada na formação hipocampal (Feldman et al., 1995). A amígdala se conecta ao hipotálamo, diretamente aos neurônios do PVN, através de duas conexões: pela estria terminal conectando-se com o núcleo do leito

da estria terminal (**BSTN**) e área pré-óptica; e pela via amigdalofugal ventral que penetra no feixe medial prosencefálico. A maioria dos estudos implica a amígdala como facilitadora na regulação do eixo HPA. A amígdala participa na ansiedade ao ser estimulada por vias serotonégicas oriundas dos núcleos dorsais da rafe, considerando-se que esta estrutura é fundamental para a aprendizagem do medo (Ledoux, 1996). Assim, pode-se inferir que a amígdala nesta disposição anatômica participa de reações emocionais que possam ser priorizadas em determinados medos muito primitivos, que são primordiais para a sobrevivência do indivíduo. De fato, ficou demonstrado que a amígdala quando estimulada é capaz de eliciar respostas defensivas, de medo e de ansiedade (Eichenbaum et al., 1999). Estas respostas são acompanhadas por um aumento dos GCs plasmáticos. Experiências com forte contexto emocional, podem ser armazenadas e modificarem a RE, sensibilizando tanto a amígdala como o hipocampo (Eichenbaum et al., 1999).

O córtex frontal tem uma importante influência sobre a ativação do eixo HPA. As conexões mais prováveis de influenciarem a resposta do eixo HPA (estimulando o aumento de GCs plasmáticos), são as vias intermediadas pelo núcleo lateral septal, que se projeta para a área pré-óptica do hipotálamo (Feldman et al., 1995). A partir do córtex frontal é que pode se esperar respostas emocionais mais estritamente "psicogênicas".

O Feixe Prosencefálico Medial (**FPM**) possui ligações multissinápticas, sendo a mais importante estrutura límbica carreadora de informações dos impulsos gerados entre o prosencéfalo e o tegmento do mesencéfalo (Feldman et al., 1995). O núcleo septal lateral projeta feixes para o núcleo septal medial enquanto as fibras restantes seguem trajetória ipsilateral no FPM, conectando-se ao hipotálamo. O núcleo septal medial se projeta bilateral via uma rota medial. A condução nervosa que estimula o aumento dos GCs é mediada pelo septo lateral e FPM, enquanto os impulsos do hipocampo ventral são transmitidos do núcleo lateral para o núcleo medial do septo, então daí via septo medial para o PVN. Como já mencionado, devido à inserção de feixes amígdalofugais juntos ao FPM, é plausível também que haja uma ativação adrenocortical por esta via.

A estimulação por adrenoceptores α_1 parece ser marcante nos neurônios do PVN, mas a participação de α_2 e β não está clara. A inervação adrenérgica para o PVN surge de neurônios do tronco encefálico. O efeito modulador de estruturas límbicas no eixo HPA pode depender a presença de **NA** no PVN. Por outro lado,

sabe-se que a NA e seus metabólitos estão aumentados em estresse social em primatas, com concomitante alteração na sensibilidade de receptores α_2 (Flügge et al., 2001). Presume-se que este aumento ocorra em regiões como o loco cerúleo, hipotálamo anterior e sistema límbico. Caracteristicamente, o aumento de NA causa efeitos ansiogênicos e de aumento do estado de alerta (Flügge et al., 2001). Os receptores α_2 podem aumentar ou diminuir, uma alteração ainda obscura (Flügge et al., 2001).

O papel da serotonina no eixo HPA é estimulador, pois o PVN recebe projeções do núcleo medial da rafe que, estimulados, aumentam a resposta defensiva. Além disso, existem conexões serotonérgicas axodendríticas e axosomáticas em neurônios sintetizadores de CRF. Os receptores envolvidos nesta transmissão são o 5-HT_2 e 5-HT_{1A}. Existem evidências de que a enervação serotonérgica do núcleo supraquiasmático é crucial para a manutenção do ciclo circadiano plasmático de GCs em ratos (Feldman et al., 1995) e provavelmente nas demais espécies onde estruturas homólogas ocorrerem.

A RE se caracteriza pela ativação de uma resposta adrenérgica e corticóide, resultando em disponibilização de glicose (efeito glicemiante), ativação/inibição do complexo imunológico humoral e celular, catabolismo positivo e anabolismo impedido (McEwen, 1996). Em suma, o resultado último da RE é o fornecimento de energia rápida para o cérebro e tecidos envolvidos na "Síndrome de Adaptação Geral" (sensu Selye, 1974), pela ação dos GCs.

Dois tipos de receptores estão envolvidos na ação dos GCs: os receptores mineralocorticóides – **MRs** (ou do Tipo I), de alta afinidade, presentes em poucos tecidos sistêmicos, mas abundante em regiões límbicas, especialmente na região piramidal CA3 do hipocampo, camada granular do giro denteado, região septal lateral e amígdala medial e lateral (em roedores: Reul & De Kloet, 1985; em macacos de cheiro: Patel et al., 2000); e os receptores glicocorticóides – **GRs** (ou do Tipo II), presentes em vários tecidos sistêmicos, nas áreas cerebrais e glia (Sapolsky, 1993). Os GRs são particularmente abundante na região hipocampal (regiões CA1 e CA2), giro denteado, região hipotalâmica paraventricular, amígdala lateral e medial e nos corticotropos da pituitária (em roedores: De Kloet et al., 1998; em macacos-de-cheiro: Patel et al., 2000).

Em primatas encontrou-se uma maior densidade de GRs e MRs nas camadas corticais, em relação a roedores e outras espécies de menor complexidade neural

(Patel et al., 2000). Em maior densidade, os GRs têm 10 vezes menor afinidade pelos GCs do que os MRs. Os MRs possuem uma grande afinidade pelos mineralocorticóides adrenais enquanto os GRs são preferencialmente ocupados pelos GCs adrenais quando na presença de concentrações maiores destes. Os MRs mostram uma ampla plasticidade sob a ativação dos peptídeos neurotróficos, tendo sido demonstrado que agem na facilitação da potenciação de longo prazo (**LTP**) (De Kloet, 2000; Pavlides & Mcewen, 1999). Observou-se em ratos que a ativação de MRs aumentou a resposta para LTP enquanto a ativação de GRs diminui a resposta LTP e podem levar à uma LTD (depressão de longo prazo)[3] (Pavlides & McEwen, 1999). Os efeitos dos esteróides na LTP são provavelmente mediados por receptores glutamatérgicos NMDA (Pavlides & Mcewen, 1999). Acredita-se que os MRs estejam relacionados ao ciclo circadiano da secreção de GCs enquanto os GRs estariam mais relacionados à resposta aos eventos estressores (Sapolsky, 1992).

Os MRs e GRs possuem um papel importante na mediação de estados de medo e ansiedade. O bloqueio simultâneo de ambos os receptores por antagonistas aumenta a imobilidade de ratos no teste de ocultação do artefato de choque, uma indicação do aumento da ansiedade (Korte et al., 1996). Neste tipo de estratégia mais passiva, há um maior recrutamento de vias e dos hormônios adrenais, principalmente a corticosterona, quando comparada a uma estratégia alternativa de evitação ativa. Korte et al. (1996) citam que ratos que procuram novidade (novos ambientes, isto é, com uma certa carga de incerteza e ansiedade), estão mais propensos a se auto-administrar corticosterona.

Outro interessante achado é que a manipulação infantil de ratos aumentou os GRs, com subseqüente comportamento menos "ansioso" na vida adulta (Meaney et al., 1988). Entretanto, a mediação emocional pelo balanço dos GRs poderá depender do tipo de teste. Por exemplo, o bloqueio separado dos MRs e GRs por antagonistas específicos, causou comportamento tipo ansiolítico em ratos no teste do labirinto elevado (Korte et al., 1996), e no teste de campo aberto (Bitran et al., 1998). Bitran et al. (1998) relatam que o efeito ansiolítico com antagonistas de MRs depende da presença de corticosterona, mas é abolida por um tratamento prévio com dexametasona em ratos adrenalectomizados (**ADX**). Como se sabe, a dexametasona

em uma fraca afinidade por MRs, mas é fortemente ligada aos GRs. Esses achados, em conjunto, indicam fortemente que os MRs estão primariamente envolvidos na ação ansiolítica dos GCs (Bitran et al., 1998).

Sapolsky et al. (1991) previram que o equilíbrio entre os MRs e GRs seriam críticos para o mecanismo de auto-freio na ativação do eixo HPA. De fato, observou-se em ratos sob estresse crônico e humanos deprimidos (vítimas de suicídio) uma alteração na proporcionalidade entre ambos os receptores, em relação a sujeitos controle (López et al., 1998).

A ação das interleucinas também interfere com a afinidade dos MRs, ao diminuí-la (De Kloet, 2000). Os MRs estão envolvidos na resposta de retroalimentação negativa e controle da secreção dos GCs. Em condições desfavoráveis e prolongadas, que levem a uma forte ativação do eixo HPA, pode haver um decréscimo na eficiência deste sistema de autocontrole, ao diminuir a sensibilidade ou o número dos receptores de GCs na formação hipocampal. A corticosterona em ratos mantém um tônus excitatório sobre neurônios GABAérgicos que envolvem os neurônios sintetizadores de CRH no PVN (De Kloet, 2000). Antagonistas de MRs, administrados dentro dos ventrículos cerebrais desinibem este tônus. Por outro lado, antagonistas de GRs administrados dentro dos ventrículos interferem com retroalimentação negativa, favorecendo o prolongamento da ativação do eixo HPA mediadas pelo estresse (De Kloet, 2000). Esta ação se tornou mais proeminente quando foi observado que o bloqueio de MRs no hipocampo de ratos, causou um aumento de GCs, enquanto o bloqueio de GRs não teve o mesmo efeito (Bitran et al., 1998). O bloqueio simultâneo dos MRs e GRs impediu o retorno do nível basal de corticosterona após o estresse em ratos (Bitran et al., 1998), o que reforça o papel regulador destes receptores hipocampais na resposta aos GCs.

A perda de eficiência também ocorre à medida que o indivíduo vai envelhecendo (Sapolsky, 1992), acreditando-se que a redução do número de receptores causa este desequilíbrio. No primeiro caso, o de estresse prolongado e/ou intenso, haverá a alteração supra normal da síntese e da ação dos GCs, predispondo seletivamente a formação hipocampal às conseqüências nefastas de distúrbios metabólicos tais como hipóxia, hipoglicemia e isquemia (Stein-Behrens et al., 1994).

---

[3] LTP e LTD são os dois mecanismos neuromorfoquímicos que alteram as propriedades de membrana, aumentando ou diminuindo a eficiência da transmissão sináptica; é o mecanismo celular putativo mais

Este aumento da vulnerabilidade da formação hipocampal a insultos metabólicos, assim como altas concentrações de GCs que acompanham a senilidade, aceleram a morte celular programada (*apoptose*). Curiosamente, o fornecimento de fluidos glicosados a animais submetidos à exposição de grandes concentrações de GCs, é capaz de atenuar a degeneração das células hipocampais, quando comparadas a animais controle submetidos às mesmas concentrações mas sem suplementação energética (Sapolsky, 1986).

Além de se ligarem aos receptores nucleares ou citosólicos, existem evidências de que os GCs são capazes de se ligar também a algum possível receptor de membrana (Haller et al., 1998; Lowry et al., 2001; Orchinik et al., 1991; Sapolsky, 1992). Desta forma, os GCs não somente alteram a cadeia de eventos que modificam a expressão gênica da célula (Sapolsky, 1993) como modificam a velocidade das reações enzimáticas intracelulares imediatas da RE. Esta ação putativa na membrana explicaria algumas das rápidas respostas dos animais sob o efeito imediato dos GCs, como por exemplo, o aumento agudo de monoaminas no hipotálamo dorsomedial após a injeção de corticosterona em salamandras (Lowry et al., 2001). Devido ao envolvimento da formação hipocampal nos processos cognitivos e emocionais, se espera que a morte celular e os processos de regulação dos receptores (sub-regulação: *down-regulation*; supra-regulação: *up-regulation*, etc) alterem a RE e, em última análise, o comportamento do indivíduo.

Os receptores para os GCs estão intrinsecamente acoplados ao comportamento emocional e cognitivo. Em uma revisão realizada por De Kloet (2000) dos trabalhos desenvolvidos por aquele grupo, o autor descreve estudos onde a extinção forçada em ratos é efetiva quando mediadas por pequenas doses de corticosterona, sendo ineficaz tanto a adrenalectomia quanto o tratamento com dexametasona. Conclui-se que este comportamento aprendido é mediado pelos MRs pois dexametasona somente se liga aos GRs, e animais adrenalectomizados, obviamente, não possuem corticosterona. De Kloet (2000) relata que uma resposta de esquiva passiva aumentada por injeções de adrenalina em ratos pode ser diminuída em um milhão de vezes com baixas doses de corticosterona, mas não de dexametasona, o que faz supor uma ação ansiolítica mediada por MRs.

---

razoável para explicar a formação de memórias (Beggs et al., 1996).

Korte et al. (1995) observaram que ratos sob um teste emocional de choque associado a um compartimento escuro, sob a ação de antagonista dos MRs, injetado via intracerebroventricular (i.c.v.), atenuaram a imobilidade induzida pelo medo. Neste mesmo teste, o protagonista de GRs, ou deste associado ao antagonista de MRs, não teve efeito na imobilidade. Dando prosseguimento a esta investigação, Korte et al. (1995) realizaram com ratos o teste de labirinto elevado, logo após condicionarem os sujeitos ao choque inescapável na caixa escura, encontrando que tanto o antagonista de MRs como de GRs alteraram o tempo de exploração (entradas) nos braços abertos, concluindo que em situações onde o animal não tem controle, os MRs estariam envolvidos na mediação da imobilidade. Por outro lado, a responsividade dos ratos no labirinto elevado, com prévia exposição ao condicionamento aversivo, sugere que ambos os receptores estariam envolvidos na modulação de ansiedade. Estes autores sugerem que GRs estariam envolvidos nos processos de consolidação da memória, enquanto os MRs mediariam o aprendizado de esquiva inibitória. Isto poderia ser tanto pelo papel de influenciar a percepção como o resultado de uma interação entre vias serotonérgicas e GCs, entre o hipocampo e núcleos da rafe. Pertinente a isso, vários estudos têm corroborado um consenso de que GRs seriam críticos para o armazenamento de informações enquanto MRs mediariam o comportamento precedendo o processamento da informação (Oitzl et al., 1997).

De Kloet (2000) relata que GCs fornecem um efeito prolongado na ação antinociceptiva de morfina e β-endorfina. Em contraste, a adrenalectomia ou elevadas doses de corticosterona (por estresse ou injeções) reduz este tempo de nocicepção induzida por morfina e β-endorfina. O aprendizado emocional (Teste do Nado de Porsolt) é piorado pela administração de antagonistas seletivos dos GRs no hipocampo ou por via i.c.v., mas não no PVN ou mesencéfalo. Estes achados são condizentes com a assunção que baixos níveis de GCs (níveis basais) são facilitadores da memória emocional e/ou espacial/temporal. Os MRs ativados por esta condição basal mantêm um tônus excitador na circuitaria hipocampal enquanto a ação dos GCs via GRs (em níveis suprabasais) suprime a excitabilidade induzida por MRs. Acredita-se que a máxima resposta cognitiva e emocional dependente do hipocampo, seria obtida por um balanço entre alta ocupação dos MRs e baixa ocupação dos GRs da formação hipocampal, condição que se assemelharia a

ritmicidade circadiana dos GCs sob condições isentas de maiores estressores (De Kloet, 2000).

A razão adaptativa da dependência entre MRs e GRs, é que qualquer que seja a novidade a que um animal seja exposto, há uma ativação do sistema HPA, o que predisporia o indivíduo a um processo de aprendizagem e adaptação (De Kloet, 2000). Os MRs estariam primariamente envolvidos neste processo, inclusive na seletividade e recuperação de memórias mediadas pelo hipocampo (De Kloet, 2000). Acredita-se que os efeitos mediados pelos GRs induzidos por estresse seriam importantes para o armazenamento e consolidação da memória como foi demonstrado em humanos por Buchanan & Lovallo (2001). Entretanto, sob altas concentrações de GCs, como uma situação de estresse intenso e prolongado, pode haver uma diminuição na capacidade de evocação (em ratos: Quervain et al., 1998).

Os GRs também serviriam para manter a homeostase, refreando alguns mecanismos de defesa (imunológica, metabólica, comportamental), que poderiam causar danos ao organismo. Quando os GRs são ativados fora de contexto, os GCs são cronicamente elevados ou quando os mecanismos de transcrição gênicos dos receptores são deficientes, o efeito passa para uma reposta comportamental pouco adaptativa ou adia uma resposta apropriada (De Kloet, 2000). Desta forma, a perda do equilíbrio entre MRs e GRs poderia incapacitar o indivíduo a manter a homeostase quando adventos potencialmente estressantes surgissem (De Kloet, 2000). De fato, em macacos-de-cheiro, Patel et al. (2000) relataram que altos níveis de glicorticóides impedem uma resposta adequada ao estresse

Dentro desta perspectiva teórica e empírica, a proposta de que há um balanço entre MRs e GRs, dependendo e interferindo nos níveis de GCs e conseqüentemente no comportamento, é muito pertinente. Outros estudos complementam este papel entre os dois receptores. Oitzl et al. (1997), comentaram que em uma investigação ocorream as injeções de antagonistas de MRs e GRs via i.c.v. em ratos, e coletas de sangue para amostragem de GCs imediatamente após a injeção na condição de ambiente familiar para todos os ratos, e depois em vários tempos, manipulando metade dos animais ao expô-los em um novo viveiro. Os resultados foram contundentes: (i) um maior pico de resposta ao estresse foi observado no novo ambiente; (ii) com o antagonista de GRs a RE no novo ambiente foi atenuada; (iii) com o antagonista de MRs houve um aumento do pico de corticosterona; (iv) o bloqueio de MRs e GRs causou um persistente aumento de corticosterona; (v) no

grupo controle houve uma RE com aumento de corticosterona, mas seguiu-se uma normalização da concentração plasmática após 2 horas de exposição.

A interpretação de tais resultados foi que MRs são importantes na mediação da fase inicial da RE e aumento de GCs; o alto e persistente nível de corticosterona, resultante do bloqueio simultâneo de MRs e GRs, indica que para a eficiência das alças de retroalimentação é necessária integração deste dois tipos de receptores. Outra importante conclusão deste estudo, é que o nível de GCs *per se*, não é capaz de explicar a interação entre os dois tipos de receptores (Oitzl et al., 1997).

Um outro estudo demonstrou que o bloqueio de GRs diminuía o desempenho de ratos no Teste Morris com plataforma submersa, 24 h após a primeira exposição (Bitran et al., 1998). O bloqueio de MRs neste mesmo estudo, não teve efeito, mas desencadeou maior exploração na piscina quando havia a retirada da plataforma, exatamente próximo do local onde previamente estivera submersa. Isto foi interpretado como um efeito ansiolítico mediado pelo bloqueio de MRs.

Como pode ser visto, GRs mediam processos de consolidação de informação em longo prazo, enquanto MRs afetam o comportamento em novas situações. Então, como Oitzl et al. (1997) enfatizaram, a funcionalidade dos receptores, tempo de ação, estágio no processamento da informação, o comportamento observado, familiaridade ou novidade, são alguns dos fatores envolvidos ao se considerar a ação de receptores para os GCs.

Os GCs podem estar envolvidos na modulação do comportamento agressivo, pois níveis altos pela administração aguda de GCs exógenos aumentam ataques em situações de conflito social, mas níveis cronicamente elevados podem inibir o comportamento agressivo (revisado por Haller et al., 1998).

O aumento dos GCs em determinadas horas do dia, de forma natural, parece sinalizar e talvez facilitar determinadas respostas comportamentais. Acredita-se que as variações circadianas, basais, possuam um valor adaptativo, como por exemplo o pico logo antes do despertar, pois prepara o organismo para uma série de atividades que demandam energia, em um período em que o indivíduo está jejuando há várias horas.

O aumento no cortisol desecadeia progressivamente uma dessensibilização dos receptores de insulina. Espera-se que haja como resultado a manutenção da glicemia em níveis supraclínicos. Neste estudo, como será visto nos resultados a seguir, os animais submetidos ao estresse se apresentaram hipoglicêmicos após o tratamento. A

glicemia baixa pode ter sido o resultado de inibição comportamental, de um aumento ainda maior na resistência aos GCs ou pelo efeito das interleucinas. Em roedores se observou que a IL1ß aumentada acarreta uma hipoglicemia (Amrani et al., 1996).

Os ácidos graxos livres são mobilizados em situações de hipercortisolemia (Berne & Levy, 1993), que associada à taquicardia, tensão emocional, com aumento da pressão arterial, pode levar a cardiopatias. Os glicocorticóides diminuem a captação e mobilizam aminoácidos no músculo, impedem a formação de glicogênio e dessensibilizam os receptores de insulina. Em conjunto, estas ações levam à ativação da via gliconeogênica, resultando em hiperglicemia (Eckert, 1988).

1.2.1 SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO E CATECOLAMINAS

O Sistema Nervoso Autônomo (**SNA**) tem uma participação interdependente muito importante com os glicocorticóides, na resposta ao estresse. O SMA faz parte do SNA, e de fato é difícil distinguí-los anatomofuncionalmente. Reconhece-se que algumas respostas autonômicas relacionam-se mais fortemente com os níveis de catecolaminas (e seus metabólitos) do que com os GCs (Kamarck et al., 1998). Em testes de estresse, como a separação maternal, verificou-se um aumento na atividade autonômica, mensurando metabólitos das catecolaminas (Hennessy, 1997), mais do que GCs para dimensionar a resposta emocional.

Entretanto, testes de estresse em humanos resultaram em uma dissociação na resposta ao estresse, entre a ativação adrenomedular e adrenocortical (Liberzon et al., 1999). Mesmo considerando a ativação adrenomedular, a adrenalina tem um tempo de liberação que antecedeu amplamente a da NA, sugerindo diferentes mecanismos neurais reguladores destes sistemas (Liberzon et al., 1999). Sem dúvida, além do tipo de estressor, a suscetibilidade individual deve contribuir fortemente para a especificidade e preponderância das vias ativadas, caracterizando a resposta (Liberzon et al., 1999).

O núcleo do leito da estria terminal, rico em corpos neuronais com CRH, projeta-se para regiões integradoras do SNA no SNC, como o núcleo parabraquial e núcleos dorsais vagais (Arborelius et al., 1999). Estes núcleos autonômicos também são diretamente inervados por projeções (CRH) do núcleo central da amígdala (Arborelius et al., 1999). Basicamente, a adrenalina age se ligando a receptores de membrana ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ e $\beta 2$), preparando o organismo para uma resposta imediata de

enfrentamento ou fuga frente a um evento aversivo. A ação é explosiva, rápida e recruta sistemas especializados. Tanto que aumenta o tônus muscular, a resposta galvânica da pele, aumenta a irrigação da musculatura estriada, reduz a volemia visceral, aumenta o efeito cronotrópico cardíaco, causa bronquiodilatação, miose, hiper-reflexia, aumenta o limiar da dor, aumenta a agregação plaquetária e a migração leucocitária.

No cérebro, a adrenalina aumenta a atenção e o estado de alerta, provavelmente por meio indireto, pois este peptídeo não atravessa facilmente a barreira hemato-encefálica. A ação da adrenalina no metabolismo é de induzir a produção de glicose (glicogenólise) e reduzir o seu uso. A adrenalina ainda estimula a lipólise e a cetogênese, resultando em aumento da glicemia, dos ácidos graxos livres e dos cetoácidos (Berne & Levy, 1993).

1.3 COMPORTAMENTO E FISIOPATOLOGIA DO ESTRESSE

A permanência de um estado crônico de resposta ao estresse, caracterizado por hipercortisolemia, pode levar a graves conseqüências na higidez do animal, tais como úlcera gastroduodenal, hiperplasia das adrenais, suscetibilidade às doenças parasitárias e infecciosas (Leverentz et al., 1999; Sapolsky et al., 1990).

Concomitante, estudos tanto em primatas como em outros níveis taxonômicos, tem encontrado diminuição na eficiência de respostas aos desafios cognitivos e de aprendizagem, quando sob estresse crônico. Estas alterações podem desorganizar de tal maneira o comportamento, precipitando respostas de alto custo (maior tempo de resposta) mal adaptativos, incapacitando o animal. Alguns estudos, sugeriram que este estado crônico de estresse poderia ocorrer em ambiente natural, com conseqüências fatais em alguns casos (Uno et al., 1989; Sapolsky, 1992). A pressão do ambiente caracterizado por falta de recursos alimentares, vulnerabilidade a predadores, alta densidade demográfica e instabilidade social são reconhecidos como fatores naturais que poderiam advir em determinados momentos na vida dos animais, o que, dependendo da elasticidade de resposta, poderia se refletir na seleção de caracteres presentes. Portanto, respostas adaptativas devem estar presentes na amplitude de possibilidades genotípicas e fenotípicas de uma determinada espécie.

Os eventos da domesticação e da civilização trouxeram novos desafios aos animais e aos seres humanos nas demandas adaptativas. Estes eventos são relativamente recentes, mais recentes e conservadores do que os mecanismos que

poderiam estar sendo selecionados para uma resposta adequada. Portanto, os animais criados pelo ser humano e o estilo sócio-cultural da civilização, criaram um ambiente de quase demanda permanente por respostas adaptativas. Respostas estas que estão incrustadas nas reações mais primitivas e primordiais de sobrevivência. Provavelmente por isso, no surgimento do estresse em quase todas as atividades do ser humano, estão permeadas por reações autonômicas e emocionais que preparam o indivíduo para um enfrentamento cotidiano com diferentes cargas de incerteza, falta de controle e canais de escape. A constância deste estado pode levar facilmente o indivíduo aos limites de respostas adaptativas; nestas condições, uma tênue linha separa a saúde da patologia.

Estas alterações sistêmicas são mais comumente registradas em estudos de laboratório. Entretanto, estudos com primatas catarrinos e outros animais, são interessantes pelos resultados sugestivos que o estresse crônico poderia ocorrer em ambiente natural, com conseqüências fatais em alguns casos (Uno et al., 1989; Sapolsky, 1992).

Os mecanismos da RE são bem conhecidos em roedores (Sapolsky, 1993). Em humanos, algumas condições experimentais são dificeis de replicar e inaceitáveis sob o ponto de vista ético. Em outros níveis taxonômicos, há ainda uma escassa literatura. Em primatas, por exemplo, existem poucos trabalhos disponíveis, o que é surpreendente devido à similaridade com a espécie humana e por isso, seriam sujeitos experimentais por excelência para o estudo dos processos envolvendo a RE. Estudos sobre estresse psicológico utilizando calitriquídeos são pouco freqüentes.

Não obstante, estudos retrospectivos em humanos com distúrbios do comportamento, como depressão, doença de Alzheimer e a Síndrome do Estresse Pós-Traumático (**PTSD**, em inglês), vêm acompanhadas com uma história de exposição aos estressores e aumento de cortisol. A PTSD é caracterizada por alguma experiência passada de estresse, labilidade emocional, depressão, déficit cognitivo, amnésia, imunodepressão e maior vulnerabilidade às doenças infecciosas (Sapolsky, 1996). Pessoas submetidas a prolongado estresse ou persistente elevação dos glicocorticóides podem apresentar atrofia hipocampal concomitante ao PTSD (Starkman et al., 1992). Em alguns casos, supõe-se que a atrofia poderia ceder à perda permanente de neurônios. Estes sinais também são observados em animais sob pressão social e cativeiro com pobreza de estímulos ambientais (p.ex. Bartesaghi & Serrai, 2001).

Experimentalmente, alterações morfológicas neurais, particularmente uma diminuição da região hipocampal, foram observadas sob a influência de GCs, tanto em símios como em humanos (Markowitsch et al., 1998; Sapolsky et al., 1990; revisado em McEwen, 1999). Observou-se que o giro denteado, uma região do hipocampo, possui a propriedade de se recompor continuamente durante a vida, ao receber células que migram da camada subgranular e que maturam até apresentarem características de neurônio (Cameron et al., 1995). Nas primeiras semanas de vida de ratos, quando a neurogênese pós-natal está ainda acelerada, a inibição de corticosteróides endógenos pode favorecer uma avultada explosão do processo mitótico e o florescimento de uma grande população de neurônios naquela região (Conrad et al., 1997).

Por outro lado, níveis de corticosteróides suprabasais são capazes de inibir o processo mitótico, acreditando-se que desta forma a remodelagem do hipocampo e particularmente do giro denteado, perca a sua propriedade plástica (Conrad et al., 1997; Gould et al., 1998; McEwen, 1999). Este mecanismo de neurogênese foi observado em animais adultos de várias espécies (camundongos, ratos, cobaias, tupaias, sagüis, catarrinos e humanos) e parece ser uma característica comum a todos os mamíferos (Gould & Tanapat, 1999). A neurogênese inicia-se na vida fetal, tem um florescimento logo após o nascimento e, pelo menos em ratos, milhares de neurônios são produzidos a cada dia (Tanapat et al., 1999). Acredita-se que este processo mitótico é sensível a uma plêiade de estímulos ambientais e sociais, de tal maneira que o estresse diminui a neurogênese (Tanapat et al., 1998; Gould et al., 1998), mas a aprendizagem (Gould et al., 1999c) ou um ambiente enriquecido estimula-a (Bartesaghi & Serrai, 2001), provavelmente o fenômeno se estendendo para outras áreas corticais (Gould et al., 1999a; 1999c).

A influência dos GCs na mediação dos processos mitóticos do giro denteado seria por meio indireto pois, pois as células precursoras não possuem MRs ou GRs dos GCs (Cameron et al., 1993). A regulação seria mediada pelos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (excitatórios) visto que a inibição destes receptores aumenta consideravelmente o florescimento neuronal do giro denteado (Gould et al., 1994; Mathew et al., 2001). Em contrapartida, a ativação prolongada destes receptores NMDA leva à inibição do processo mitótico destas células (Cameron et al., 1995). O feixe perfurante é a via neural mais provável de mediar esta regulação, pois conecta o córtex entorrinal às células do giro denteado, mediado por receptores

NMDA; a lesão nestes feixes aumenta consideravelmente a proliferação celular na camada de células precursoras (Cameron et al., 1995).

Apesar destas evidências celulares, neuroquímicas e comportamentais, uma ligação direta entre causa e efeito da inibição crônica da produção de células granulares e o volume da camada de células granulares, ainda não foi demonstrado (Gould & Tanapat, 1999). Tanto em humanos como em outros primatas faltam evidências diretas de estresse e degeneração hipocampal relacionadas à deficiência cognitiva (Sapolsky, 1992). Há, inclusive, trabalhos colocando em dúvida a ligação direta dos GCs nos distúrbios emocionais e cognitivos precedidos de estresse (Baulieu, 1998; Yehuda, 1997). O tamanho hipocampal em primatas (*Saimiri sciureus*) parece ser mais herdado do que o resultado de efeitos estressantes no desenvolvimento infantil, mesmo que menores hipocampos estejam relacionados a maiores níveis de cortisol em situações adversas (Lyons et al., 2001) Ainda, a relação direta entre o crescimento e inibição dos neurônios granulares e os aspectos funcionais, são pouco conhecidos (Gould & Tanapat, 1999). Entretanto, vários estudos evidenciam que a integridade do hipocampo é importante para a formação de memórias espacial-temporais, contexto-dependentes (memórias declarativas).

As alterações na morfologia do giro denteado, concomitante às alterações na velocidade das mitoses da camada sub-granular, podem se refletir na funcionalidade hipocampal (Gould & Tanapat, 1999). Entretanto, mais estudos relacionando a morfofuncionalidade de células da camada granulosa do giro denteado e comportamento são necessários para esclarecer esta ligação. Estudos utilizando outros paradigmas de estresse, com uma abordagem eminentemente etológica, em situações que espelhassem os desafios cotidianos na vida dos animais e do ser humano, podem resultar em respostas emocionais e desempenhos cognitivos muito similares aos encontrados em disfunções do eixo HPA.

Em condições de forte estresse agudo ou estresse severo crônico, ocorrem profundas alterações na neuroquímica cerebral. Pode haver enfraquecimento das sinapses (em roedores: Bartesaghi & Serrai, 2001; Rosenzweig, 1996), atrofia dendrítica em células piramidais do hipocampo (em roedores: Bartesaghi & Serrai, 2001; Conrad et al., 1999; Sapolsky et al., 1985; Woolley et al., 1990; em humanos: Markowitsch, 1996), aumento da vulnerabilidade de células hipocampais às injúrias metabólicas (Mcewen, 1999; Sapolsky, 1985; Yusim et al., 2000), redução da atividade de neurônios colinérgicos corticais (em estresse crônico: Kaufer et al.,

1998; Mitsushima et al., 1998), piora na formação de LTP ou facilitação na indução de LTD (Xu et al., 1997) alteração da sensibilidade a dopamina (Imperato et al., 1991; Lewis et al., 1990), diminuição do transportador de dopamina (Isovich et al., 2000), alterações na capacidade anti-oxidante de enzimas no SNC (em roedores: McIntosh et al., 1998a; 1998b), redução da proliferação de células do giro denteado (em sagüis: Gould et al., 1998), modificações na expressão de proteínas vesiculares de membrana (diminuição de sinaptofisina e aumento de sinaptotagmina) (Thome et al., 2001), apenas para citar algumas alterações mais importantes. Parte destas alterações é precipitada pelos eventos no eixo HPA, envolvendo o CRF, o ACTH e os glicocorticóides adrenais (GCs). Estas alterações têm um profundo efeito no comportamento, podendo desencadear distúrbios cognitivos, exacerbação ou embotamento da resposta emocional (chamove, 1989), comportamento anti-social, estereotipias, automutilação e morte (Carlstead, 1996).

As reações comportamentais e fisiológicas que se seguem ao estresse são dependentes, em parte, de estruturas localizadas no prosencéfalo, principalmente no hipocampo, amígdala e hipotálamo (Gould & Tanapat, 1999).

Uma das características marcantes dos estressores é a incerteza de sua ocorrência, tanto de forma prospectiva (se aquele evento ocorrerá no futuro) ou quanto à novidade, isto é, algo não reconhecido (Warburton, 1990). Então um estressor qualquer, que não seja endógeno, pode desencadear um processo cognitivo, composto de percepção, análise, aprendizado, memória e resposta adaptativa. Os processos de aprendizagem, avaliação de risco, reação emocional e controle do estresse, têm na formação hipocampal uma estrutura crítica (Bratt et al., 2001). O hipocampo é conhecido por mediar memória em contexto espacial/temporal e memória declarativa (Lupien et al., 1998). Um grande conjunto de estudos, principalmente com roedores, têm demonstrado que deficiências cognitivas são encontradas em animais submetidos ao estresse (Conrad et al., 1999).

Evidências claras demonstram que a partir do hipocampo ocorre o controle do eixo HPA e a caracterização adaptativa ou nociva da resposta ao estresse (De Kloet, 2000; Korte, 2001; Oitzl et al., 1997; Sapolsky, 1993). Um resultado eminente da estimulação continuada do eixo HPA é a atrofia dendrítica apical, um mecanismo que supostamente visa a preservação do hipocampo, ao diminuir a área de contato sináptico com terminações excitatórias (McEwen, 1996, 1999; Sapolsky, 1993). Uma das conseqüências deste mecanismo é uma piora na capacidade cognitiva, ou

seja, aprender, memorizar e executar tarefas (McEwen, 1996). Embora ainda contraditórios, encontrou-se uma correlação entre a atrofia do hipocampo e algumas psicopatologias, como a Síndrome de Cushing, doença de Alzheimer, PTSD, esquizofrenia, depressão, e demência da SIDA (referido por Patel et al., 2000).

A resposta ao estresse não é tudo-ou-nada, mas segue uma curva de dose-resposta; quanto maior o estresse, maior será a liberação de GCs. Os processos de controle retroativo pelo aumento dos níveis de GCs são inibidos a partir de um determinado nível, o que determina um escape na secreção e GCs pelas adrenais. Entretanto estes mecanismos ainda estão sendo compreendidos. Sabe-se, por exemplo, que a inibição é seletiva, ocorrendo por regulação dos receptores hipocampais para os GCs.

Em concentrações basais há em torno de 95% de ocupação de receptores MRs e isto está comprovado ser acompanhado por uma melhora no desempenho em aprendizado e memórias dependentes do hipocampo (Cole et al., 2000a). Não por acaso, a ocupação predominante dos MRs é acompanhado por uma facilitação no potencial de longa duração (LTP) em células hipocampais. Em contrapartida, a ocupação predominante de GRs desencadeia uma facilitação da depressão de longo prazo (Pavlides & Mcewen, 1999). Estes dois mecanismos são os melhores modelos teóricos para explicar ao nível biomolecular na formação de memórias.

Concentrações maiores de GCs faz com seja ocupado maciçamente os GRs, o que desencadeia uma piora na performance em testes cognitivos e aprendizagem associativa (Cole et al., 2000a). Ainda sobre cognição, é interessante notar que alguns trabalhos evidenciaram um melhor desempenho em sujeitos sob estresse ou logo após este. Por exemplo, em tupaias, Ohl e Fuchs (1999) observaram uma facilitação na memória operacional após um período de estresse. De fato, diz-se então que a correlação entre aprendizado e os níveis de cortisol segue uma curva em "U" invertida (McEwen,1999).

Especificamente em primatas, Ohl e Fuchs (1999) observaram em tupaias submetidos ao estresse social crônico uma dificuldade em resolver tarefas dependentes de memória espacial e declarativa; este estado foi acompanhado de hipercortisolúria (níveis supra basais de cortisol e seus metabólitos na urina). Estes autores observaram que mesmo após o cessar do estresse, os sujeitos ainda permaneciam com deficiências de memória, mesmo que os níveis de cortisol tivessem baixado.

1.4 VIAS SEROTONÉRGICAS E RECEPTORES 5-HT

O estudo da interação do eixo HPA e de sistemas serotonérgicos, particularmente do receptor 5-HT1A, podem elucidar muitos aspectos da neuroetologia, do controle e recuperação do estresse (López et al., 1998).

Dois sistemas intimamente ligados, o serotonérgico e as vias HPA, são alvos de vários estudos, pois ambos regulam e são regulados pela interação na resposta ao estresse e na etiologia de psicopatologias afetivas e cognitivas, especialmente a depressão. As vias serotonérgicas são amplamente difundidas no SNC e participam modulando o comportamento emocional, de motivação e cognitivo. Como o nome diz, estas vias têm como principal neurotransmissor a serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT). As vias que possuem serotonina como neurotransmissor têm uma participação majoritária na organização e emissão de respostas neuroendócrinas, mediadas pelos GCs (Maes et al., 1996).

As vias serotonérgicas são caracterizadas por mediar efeitos ora excitatórios, ora inibitórios, em conjunto (e influenciando) uma grande quantidade de núcleos, vias, aferências e eferências. Desta forma, a interação das várias estruturas, dependendo dos neurotransmissores e de estímulos externos e internos, pode resultar em respostas comportamentais no mínimo complexas. Por serem consideradas as mais importantes (Blanchard et al., 1993), as vias serotonérgicas, contudo, são bem estudadas e a participação no comportamento e na resposta farmacológica é investigada continuamente.

De Kloet (2000) publicou um breve resumo sobre a ligação do estresse e 5-HT. Este autor relata que baixas doses de corticosterona em ratos aumentaram a síntese e a liberação de 5-HT no hipocampo, enquanto o receptor 5-HT_{1A} foi sub-regulado. A ocupação de MRs aboliu a hiperpolarização nos neurônios hipocampais, mas altas concentrações de corticosterona, com ocupação dos GRs, obliteraram a sub-regulação de 5-HT_{1A}. Então, em ratos, o aumento da corticosterona facilita o comportamento mediado por receptores 5-HT_{1A} (Meijer et al., 1998).

Segundo Maes et al. (1996), a perturbação destas vias serotonérgicas é caracterizada por: (i) menor atividade de neuronios pré-sinápticos 5-HT; (ii) aumento da função de receptores 5-HT_2 central e periférico, (iii) redução da atividade de receptores 5-HT_{1A} pós-sináptico e (iv) alterações na recaptação de 5-HT.

Em primatas, estudos revelaram uma profunda influência do estresse e GCs nos sistemas serotonérgicos, especialmente relacionado ao receptor 5-HT_{1A}. Em tupaias, utilizando-se de um paradigma de estresse psicossocial durante 28 dias, foi observado uma sub-regulação na densidade e uma redução na sensibilidade de receptores do tipo 5-HT_{1A} nas camadas V e VI do córtex cingulado posterior, no córtex parietal, córtex pré-frontal e na região CA1 do hipocampo (Flügge, 1995). É provável que a sub-regulação observada seja em parte devido à inibição dos mecanismos transcricionais, mediados pelos GCs. Esta inibição tem conseqüências na neurofisiologia de estruturas mediadas por serotonina. Estas alterações podem estar relacionadas às deficiências cognitivas observadas em animais sob estresse, pois receptores do tipo 5-HT_{1A} estão envolvidos no ritmo teta do encefalograma, observado no estresse emocional em ratos (Flügge, 1995). Além disso, a redução dos receptores serotonérgicos 5-HT_{1A} pode estar envolvida na atrofia da região CA3 hipocampal observada em ratos sob estresse. Ainda, a região CA1 do hipocampo, possuidora de um elevado número de receptores 5-HT_{1A}, é muito sensível às injúrias (isquemia, hipoglicemia severa e intoxicações metabólicas), onde se sugere que sinais moduladores de crescimento mediados por estes receptores serotonérgicos poderiam resultar em uma maior preservação neuronal quando íntegros (Flügge, 1995). A redução de receptores do tipo 5-HT_{1A} no córtex frontal pelo estresse psicossocial pode ter implicações em comportamentos agonísticos, oriundos do controle desta região cerebral (Flügge, 1995).

As conseqüências comportamentais desta sub-regulação de receptores do tipo 5-HT_{1A} na formação hipocampal e cortical, não são bem compreendidas. Manipulando os receptores com agonistas 5-HT_{1A} em tupaias, os comportamentos submissos no teste de estresse psicossocial, como evitação social, redução da atividade motora e redução da autocatação, podem ser atenuados. Evidências apontam para a 5-HT e principalmente a estimulação excessiva dos receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos como mediadores principais de ansiedade em animais (Flügge, 1995).

Barros et al. (2001) demonstraram um efeito ansiolítico de um agonista 5-HT_{1A} (buspirona) injetado agudamente, em um paradigma de estresse (o labirinto em oito, L8), ao submeterem sagüis à presença de predadores taxidermizados. Os efeitos da buspirona e drogas relacionadas, específicas nos receptores 5-HT_{1A} são evidenciados

pela reversão de estados de ansiedade generalizada e depressão (López et al, 1998), em humanos e outros animais.

Parece que o balanço das ações entre MRs e GRs, controla de maneira coordenada e em oposição entre si, a modulação dos sistemas 5-HT (López et al., 1998). As evidências experimentais de vários estudos indicam que a ação da serotonina nos receptores 5-HT_{1A} do núcleo mediano da rafe desencadeia um efeito ansiolítico (Andrews et al., 1994). Por outro lado, a ação de agonistas de 5-HT_{1A} no hipocampo dorsal, desencadeia um efeito ansiogênico (Andrews et al., 1994). Este efeito ansiogênico também foi observado quando agonistas 5-HT_{1A} foram injetados na amígdala (Graeff et al., 1993). Andrews et al. (1994) baseados em seus próprios achados e nos de outros estudos, argumentaram que agonistas 5-HT_{1A} agindo localmente nos auto-receptores no núcleo mediano da rafe causam ansiólise enquanto a ação em outras áreas (amígdala e hipocampo dorsal) com ação predominante em receptores pós-sinápticos estimulam estados de ansiedade.

Interessantemente, o efeito dos agonistas de 5-HT_{1A} é estado-dependente, isto é, o estresse pode alterar a ação da droga (Korte et al., 1992). Este fato tem importância em farmacologia clínica, porque deveria se considerar que os efeitos dos agonistas de receptores 5-HT_{1A} administrados perifericamente serão dependentes do balanço fino na ocupação dos receptores deste tipo, dependendo ainda de estados ou condição situacional.

Segundo Deakin e Graeff (1991), a ação da serotonina na amígdala seria o de facilitar o comportamento defensivo, enquanto na Matéria Cinzenta Periaquedutal (**MCPD**), seria o de atenuar estados relacionados ao medo, especialmente aqueles medos primitivos. Pelas evidências experimentais, pode-se verificar que a transmissão serotonérgica, oriunda dos núcleos dorsais da rafe, pode ter dois papéis distintos e/ou complementares, ao eliciar respostas de ansiedade (medo aprendido) com estimulação da amígdala e, ao ativar a MCPD, induzir a abolição de respostas defensivas inatas de medo frente à estimulação fortemente aversiva. Na clínica médica, acredita-se que o papel da serotonina na amígdala estaria relacionado aos sintomas do Transtorno da Ansiedade Generalizada enquanto na MCPD estaria relacionado ao transtorno do Pânico (Guimarães, 1999).

Esta duplicidade de papéis e paradoxo das vias serotonérgicas é altamente adaptativa para a eficiência de defesa, em estimular respostas emocionais apropriadas para determinada situação. Acredita-se que a MCPD estaria envolvida

na resposta defensiva para perigo iminente (defesa proximal), mediando padrões comportamentais primitivos de fuga ou luta, que ativada excessivamente em situação normal, teria pouco valor adaptativo. A amígdala estaria mais envolvida em respostas defensivas para perigos potenciais, em padrões de avaliação de risco e na elaboração de estratégias de defesa. Por isso, esta estrutura estaria mais envolvida no aprendizado motivado por memórias emocionais. O hipocampo tem uma participação ao processar, integrar e consolidar desafios e reações contextualizadas de defesa. Essas estruturas, embora apresentadas isoladas quanto ao papel preponderante, se articulam integradas para a possível resposta emocional. Acredita-se que a ligação entre o Núcleo Mediano da Rafe e o hipocampo está envolvida na mediação de memórias aversivas e de avaliação de risco, relacionadas de alguma maneira, aos estados de ansiedade (Graeff et al., 1997).

Existem trabalhos demonstrando tanto experimentalmente quanto na clínica médica, que os glicocorticóides interagem estreitamente com o sistema serotonérgico. Thakore e Dinan (1995) demonstraram que uma parte de pacientes deprimidos hipercorticosolêmicos pode se recuperar com a terapia de um inibidor da síntese de cortisol (cetoconasol), resultando em normalização dos níveis de cortisol, dos sintomas e dos níveis de prolactina. Como se sabe, a secreção de prolactina depende da estimulação de vias serotonérgicas. Várias investigações clínicas com a administração de agonistas e fármacos que aumentam a recaptação seletiva de serotonina resultam em uma melhora dos sintomas do distúrbio da depressão e normalização da cortisolemia (Graeff & Guimarães, 1999).

Sob condição livre de estresse, a injeção intraperitonial (**i.p.**) de um agonista seletivo de 5-HT_{1A} (ipsapirona) em ratos, causa uma elevação na corticosterona (Korte et al., 1992). A exposição aguda de ratos ao estresse de medo condicionado ou choque inescapável pode desencadear uma exacerbação da resposta emocional e aumento dos GCs, 24 horas depois, com ou sem a ação de ipsapirona, o que é sugestivo de que o estresse pode sensibilizar estes receptores autossômicos sob o efeito dos GCs (Korte et al., 1992). Por exemplo, a exposição ao choque em ratos injetados i.p. com ipsapirona em doses de 5 mg/Kg, não alterou o nível de corticosterona (Korte et al.,1992). A interação entre estados psicopatológicos e deficiência na sensibilidade de receptores ocorre com vários outros hormônios. Pacientes deprimidos têm menor resposta na função endócrina de prolactina e

hormônio do crescimento quando estimulados pelo aminoácido triptofano, o precursor de 5-HT, do que sujeitos saudáveis (Hollmann & Strüder, 2000).

Com o crônico aumento de GCs e a ocupação de GRs, acarreta uma aparente redução da sensibilidade dos neurônios serotonérgicos. Portanto, é possível que altas concentrações crônicas de GCs que acompanham estados de depressão, possam estar relacionadas com esta insensibilidade dos neurônios 5-HT, previamente ao aparecimento do quadro clínico.

Em suma, não é estranho que, sendo a resposta ao estresse uma pletora de comportamentos com forte carga emocional, o envolvimento de vias serotonérgicas seja tão evidente. É reconhecida a participação da 5-HT na etiologia da ansiedade, a começar pela vias que se projetam a partir dos neurônios dos núcleos da rafe para o sistema límbico, o hipotálamo e o córtex (Andrews et al., 1994), que quando manipuladas, exacerbam ou diminuem a ansiedade. No hipocampo, há uma grande densidade de receptores de serotonina, que se localizam superpostos aos GRs e MRs (López et al., 1998). O hipocampo é uma estrutura muito rica em receptores serotonérgicos, especialmente do tipo 5-HT_{1A}. O aumento da disponibilidade de 5-HT ou de agonistas de 5-HT_{1A} em neurônios hipocampais retarda a formação de memórias aversivas. Em parte, este efeito pode ser explicado porque esta estimulação de receptores 5-HT_{1A} diminui a taxa de disparos e impede a formação de potencial de longa duração nas células hipocampais. Forte evidência é a constatação de que drogas antidepressivas clássicas aumentam progressivamente a funcionalidade dos receptores 5-HT_{1A} hipocampais (Guimarães, 1999). Ademais, a depleção aguda de triptofano reverte a um quadro de depressão melancólica em pacientes com anamnese positiva de depressão, antes assintomáticos.

O hipocampo é uma estrutura crítica na formação de memórias contexto-dependente. Em animais sociais, como ratos e primatas, a vida em grupo parece estimular e exercer um efeito protetor das vias serotonérgicas que ascendem ao hipocampo, ao preservar receptores do tipo 5-HT_{1A} (López et al., 1998) que, como comentado (vide supra), é crítico na atenuação do impacto do estresse na função emocional-cognitiva. Ao contrário, o isolamento pode levar a perdas no controle emocional, exacerbando a resposta ao estresse, provavelmente devido à atenuação da função de receptores 5-HT_{1A}.

O hipocampo é rico em outros receptores que estão bastante envolvidos na resposta ao estresse, como os receptores para glutamato e acetilcolina (Silva, 2001).

O cortisol está relacionado à formação de memórias de eventos traumáticos e aversivos (Korte, 2001), supostamente mediados por sistemas colinérgicos e glutamatérgicos.

Como já descrito para os receptores MR e GR, a influencia dos GCs na função hipocampal é preponderante, se argumentando que o sinal biológico mais proeminente da depressão é uma alta dos níveis de GCs (Graeff & Guimarães, 1999). Este aumento se deve a vários fatores mas pode ser representado por uma disfunção no eixo HPA: mecanismos de retroalimentação danificados, escape da cadeia de estimulação da síntese e liberação de GCs. Desta forma, é clamoroso o fato de se obter melhora de sintomas de depressão em indivíduos que se submeteram a drogas que interfiram na síntese e liberação de GCs (Thakore & Dinan, 1995). Por outro lado, a ausência de GCs é incompatível com a vida normal e um tonal, leve estresse, parece aumentar a capacidade dos animais em enfrentar desafios emocionais (Sapolsky, 1993).

Várias evidências apontaram para a participação da 5-HT na etiologia da ansiedade, à começar pela vias que se projetam à partir dos neurônios dos núcleos da rafe para o sistema límbico, o hipotálamo e o córtex (Andrews et al., 1994).

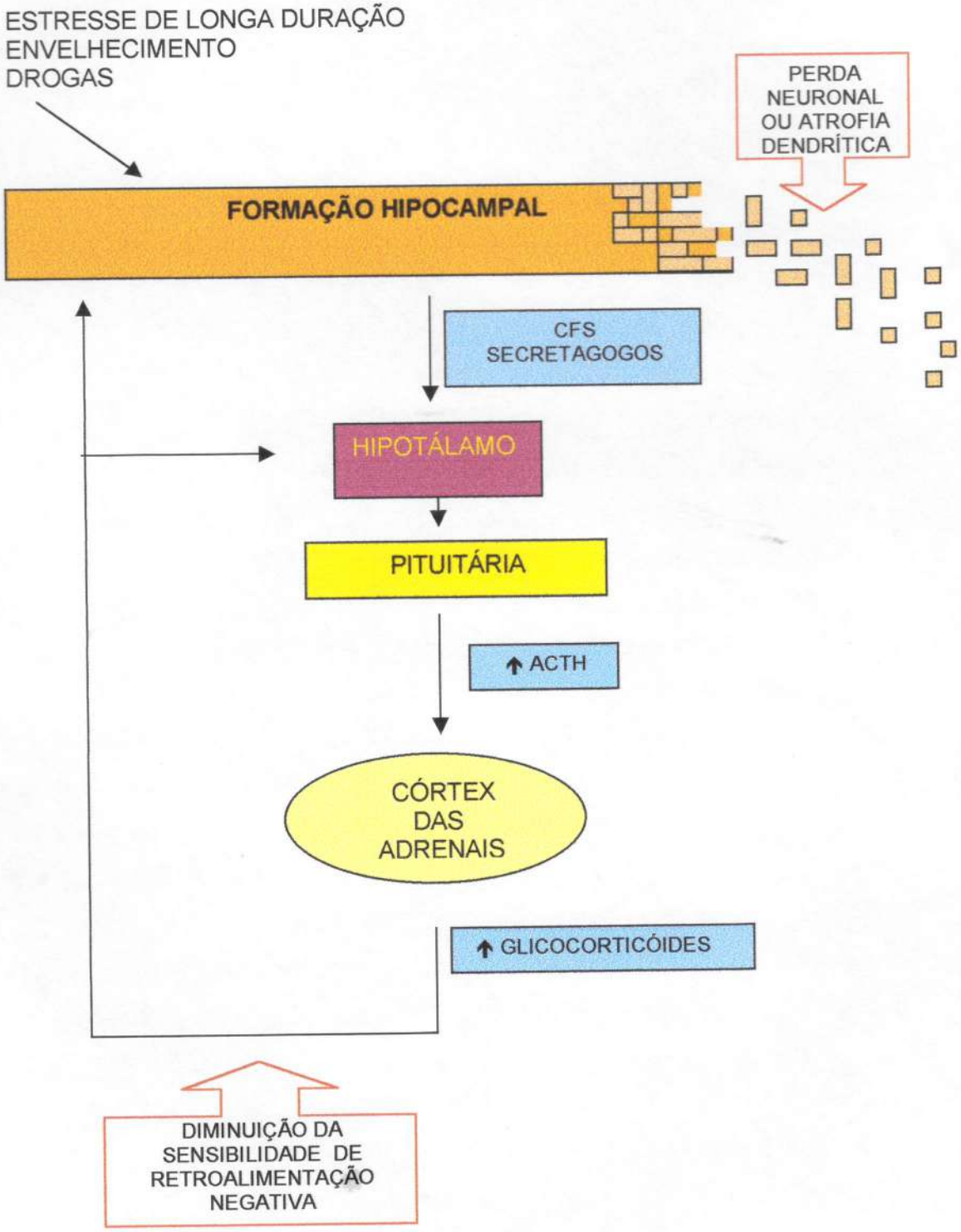
Outras patologias da esfera neuropsíquica são mediadas pelos corticosteróides. A Síndrome da Fadiga Crônica pode inclusive estar relacionada a um distúrbio causado pelo estresse excessivo, pois tem se observado uma exagerada sensibilidade dos receptores dos GCs em vários pontos do sistema de ativação e retroalimentação dos glicocorticóides, levando a uma redução na produção destes (De Kloet, 2000).

1.5 A HIPÓTESE DA CASCATA GLICOCORTICÓIDE

A mediação pelo eixo HPA, com a hierarquização dos mediadores enzimáticos, neurohumorais e de substratos neuroendócrinos é conhecida como a "hipótese da cascata neuroquímica de RE" (Figura 1), apresentada por um artigo seminal em 1986, de autoria de R. M. Sapolsky, L. C. Krey e B. S. McEwen (ver referências). Baseado em fortes evidências de testes nas alças de retroalimentação, sabe-se que o hipocampo é um dos alvos preferenciais dos GCs e a estrutura do SNC com maior riqueza de receptores para os glicocorticóides.

Quando o organismo é desafiado, a informação vinda através das vias sensoriais ou de elaborações cognitivas (córtex frontal) resulta em subprocessamento no hipocampo, onde a ativação tem o papel de integrar, definir e responder

Figura 1: Representação esquemática da Teoria da Cascata Glicocorticóide (baseada em Sapolsky, 1993).



adequadamente à demanda. Acredita-se que o hipocampo exerça uma inibição tônica em áreas hipotalâmicas, especialmente no PVN. Como se sabe, este núcleo concentra um grande número de neurônios sintetizadores e secretores de CRF, que por sua vez podem se ligar aos receptores de membrana dos corticotropos secretores de ACTH.

Um mecanismo de retroalimentação negativa pelo cortisol nos MRs e GRs do hipocampo, resulta no efeito de ativar e alimentar a inibição tônica do hipocampo sobre o PVN. Por outro lado, a amígdala que é fortemente estimulada sob condições que causem medo, possui um papel estimulador no PVN. Portanto, no hipocampo, através do balanço de seus receptores, haverá a modulação da resposta conforme o contexto e o tempo de exposição aos corticosteróides (De Kloet et al., 1998).

Danos hipocampais levariam a uma perda de neurônios e receptores disponíveis para o cortisol, desativando parte dos componentes de servofreio (neurônios hipocampais) e levando à perda da eficiência do sistema. Vários estudos demonstraram que a lesão do hipocampo (ou vias comunicantes) leva ao aumento persistente dos GCs e que a ativação basal de agonistas dos receptores de GCs leva a uma inibição na secreção de cortisol (Sapolsky, 1993). Durante os episódios de estresse, além do aumento dos GCs, neurotransmissores como a serotonina e o glutamato têm seu balanço bastante modificado. O glutamato, o neurotransmissor excitatório mais disseminado no SNC, é localizado principalmente nas células piramidais do córtex e está implicado com a neuroplasticidade e funções cognitivas superiores (Mathew et al., 2001). Acredita-se que o balanço entre os diversos receptores ionotrópicos e metabotrópicos é a diferença entre a plasticidade e patologia. Os neurônios corticais glutamatérgicos possuem projeções para regiões diversas do cérebro como a amígdala e o hipocampo (Mathew et al., 2001). O glutamato causa, via seus receptores ionotrópicos e NMDA, um aumento das reações enzimáticas intracelulares via AMP-c. Nesse processo de ativação celular, é provável que ocorra uma mobilização de Ca^{++} e que haja uma aceleração dos processos enzimáticos, que podem acarretar o disparo de um elemento nuclear para o apoptose ou, por outro lado, concomitante ou não, um esgotamento nas reservas energéticas celulares (Sapolsky, 1993). Esta fragilização, seja qual for o mecanismo, quando causada por estresse intenso, é específica daquela região, não ocorrendo em outras regiões do SNC. Com a perda de neurônios ricos em receptores glicocorticóides que servem como importantes alvos intermediários para a resposta de retroalimentação,

haveria uma diminuição na eficiência do sistema, uma diminuição da inibição tônica do PVN pelo hipocampo, e conseqüentemente um escape persistente e mórbido de glicocorticóides.

Estes mecanismos poderiam ser observáveis em animais senis, pois independente de qualquer outra variável, há uma perda persistente de neurônios com a idade. De fato, há evidências de que o envelhecimento precipita a perda da eficiência, como há relatos em vários estudos, desde humanos até roedores. As evidências indicam que uma parte destes animais e humanos senis possuem hipercortisolismo, perda da capacidade mnemônica, redução dendrítica e/ou volume hipocampal, redução de receptores dos GCs hipocampais e desordens emocionais (Issa et al., 1990; Lupien et al., 1998; Sapolsky et al., 1985).

O envolvimento do hipocampo como estrutura fundamental na regulação dos GCs e alterações associadas, é evidenciado por uma série de estudos clínicos e experimentais. O volume hipocampal está negativamente correlacionado ao tempo de exposição ao estresse e aos níveis de GCs (Sapolsky, 1996). Pacientes com Síndrome de Cushing (**SC**) possuem menor volume hipocampal, com alargamento ventricular e deficiências cognitivas. Encontrou-se uma correlação negativa entre os níveis de cortisol e o volume hipocampal; estas alterações podem ser revertidas com a estabilização basal e circadiana dos glicocorticóides (Starkman et al., 1992).

Estudos empregando técnicas de neuroimagem também demonstraram que há uma redução do volume hipocampal em pacientes com distúrbios do humor ou que tenham se submetido a um acontecimento grave recente (Markowitsch et al., 1998). Estudos com vítimas de estresse violento (abuso infantil, vítimas de desastres ambientais, veteranos de guerra) têm encontrado uma forte correlação entre estresse, diferenças hemisféricas no volume do hipocampo, maior tempo de exposição ao estresse e reincidência de crises relacionadas à perturbação psíquica subjacente (depressão, adicção, etc) (revisado em O'Shea, 2001).

Entretanto, recentemente Lyons et al. (2001) demonstraram em macacos-de-cheiro que o volume hipocampal é o resultado maior de um traço poligênico do que epigenético, embora estes autores não descartem os efeitos parciais do ambiente influenciando a morfologia desta estrutura. Como resultado deste menor volume, Lyons et al. (2001) observaram que maiores índices de cortisol plasmático foram encontrados em sujeitos com menor volume hipocampal em situações de estresse de separação. Em conjunto, estes autores defendem de que o volume hipocampal é

determinado principalmente por predisposições genéticas e que o hipercortisolismo seria o resultado deste menor tamanho.

A redução do volume da amígdala, indicando uma atrofia virtual, também tem sido correlacionada com a magnitude de sintomas na Depressão Maior – **MDD** (Sheline et al., 1998). A atrofia destas áreas críticas não significa necessariamente em morte celular. Pode ser uma condição transiente, com redução dendrítica, diminuição da capacidade de realizar LTP ou uma estase no processo mitótico contínuo da região CA3 (Roy & Sapolsky, 1999). A reversão do quadro atrófico parece ser bastante plausível, pois vários estudos demonstraram que com a recuperação há a melhora dos sintomas de MDD e a reversão do estado atrófico. Entretanto, com a recorrência dos episódios, parece que o indivíduo ficaria vulnerável, pois na clínica se observa a recorrência de episódios depressivos após a primeira crise em pacientes, provavelmente devendo-se a profundas mudanças na expressão gênica no estado de estresse crônico.

Lupien et al. (1998), em um estudo acompanhando idosos por três anos, demostraram uma correlação direta entre o nível de cortisol alto e piora das habilidades cognitivas com o passar dos anos.

A hipercortisolemia tem acompanhado vários estados de deficiência cognitiva e piora em distúrbios do humor e afetivos. Pacientes com Síndrome de Cushing possuem hipercortisolemia e deficiências cognitivas que são revertidas quando se induz inibidores da síntese de GCs (Starkman et al., 1992; Thakore & Dinan, 1995). Em primatas não-humanos se demonstrou que o estresse social reduz a capacidade cognitiva, acompanhada de hipercortisolemia (French & Inglett , 1991).

Não minimizando a importância da teoria da cascata glicocorticóide para explicar uma série de alterações dependentes da integridade no eixo HPA-Hipocampo, existem muitas dúvidas a serem esclarecidas.

Por exemplo, alguns estudos demonstraram que o principal foco de retroalimentação negativa pelos glicocorticóides sintéticos está fora do SNC, mais precisamente na pituitária (Maes et al., 1996), o que poderia ser importante para estados de hipercortisolemia. A tentativa de replicação em primatas da infusão ou administração crônica de dexametasona não obteve sucesso completo em mimetizar a ação dos glicocorticóides na atrofia hipocampal. Estudos sobre volume hipocampal, relacionando-o à depressão e hipercortisolemia, não estão claros desta evidência direta. Aliás, permanece em aberto a demonstração de atrofia hipocampal

com uma hipercortisolemia (os estudos são correlacionais e não um resultado de causa e efeito) (Sapolsky, 1996).

1.6 ALTERAÇÕES SISTÊMICAS

Entre os sistemas mais afetados pelos efeitos do estresse está o **sistema imunológico**. Pode-se se avaliar a resposta ao estresse e sua faceta adaptativa ao se verificar os níveis e a dinâmica leucocitária (Boccia et al., 1992; Collette et al., 2000; Leonard & Song, 1996).

Um dos passos da reação antígeno-anticorpo é a ativação molecular de macrófagos que induzem a síntese e liberação de mensageiros químicos entre as células (as citocinas ou interleucinas), que são cruciais para a integridade e especificidade da resposta imune. Estes mensageiros serão os mediadores de um dos passos moleculares e bioquímicos que irão tentar reconhecer e destruir o agente invasor. Na defesa imunológica e na resposta inflamatória, os glicocorticóides podem exercer influências diretas, caracteristicamente com redução da atividade celular e resposta humoral, devido à inibição da síntese e liberação das interleucinas celulares (p.ex. Boccia et al., 1992).

A resposta imunológica pode ser alterada através de seus vários passos pelos efeitos do estresse. Neste modelo de separação maternal, tem-se observado que pode ocorrer redução na ativação linfocitária por mitógenos. Estas alterações parecem não ocorrer em todos os animais, mas estavam associadas ao aparecimento de alguns padrões comportamentais mais indicativos de perturbação emocional (vocalização, postura de retraimento). As respostas comportamentais mais atenuadas, principalmente pelo suporte social, são seguidas com uma menor mudança no perfil linfocitário (Laudenslager & Fleshner, 1994). De fato, o suporte social parece ser um dos fatores mais importantes influenciando a resposta ao estresse. Por exemplo, o perfil de células *killer* (NKC) e os níveis de IgM estavam positivamente correlacionadas ao suporte social em experimentos utilizando filhotes de *M. nemestrina* e *M. radiata* sob o paradigma de separação maternal e submetidos à desafios imunológicos (injetados com antígeno não replicante) (Laudenslager & Fleshner, 1994).

Dhabar et al. (1995) avaliaram a cinética da resposta celular imunológica em ratos e verificaram que há uma diminuição na resposta imunológica regional e temporal sob a condição de estresse agudo: o número e a percentagem de leucócitos

diminuíram, enquanto os neutrófilos aumentaram rapidamente após o estresse. Entretanto, passadas 3 horas após o estresse agudo, os níveis de linfócitos voltaram ao normal, mas o de neutrófilos não. Os níveis de lactato desidrogenase, uma enzima relacionada à morte celular, não se alterou, indicando não ter havido perda celular, mas provavelmente migração. Estes mesmos resultados foram obtidos administrando-se corticosterona em ratos. Os autores concluíram que deve haver um recuo para tecidos linfóides das células de defesa imediatamente após a exposição a um estressor, local onde pode haver melhores condições para que a defesa imunológica ocorra. Em grande parte, estes efeitos seriam mediados pelos GCs.

Outra importante alteração está na defesa imunológica e na resposta inflamatória, que podem sofrer influências diretas, caracteristicamente com redução mórbida em ambas, devido à inibição pelos GCs da síntese e liberação das interleucinas celulares (p.ex. Boccia et al., 1992).

Infecções são severos estressores, capazes de ativar fortemente a imunidade celular, com a liberação de citocinas que são responsáveis por muitos sintomas como dor, febre, prostração, embotamento cognitivo e alterações do humor. A principal das citocinas envolvidas nestas alterações inflamatórias é a IL-1β (interleucina-1-beta). A IL-1β é capaz de se ligar a receptores localizados nas células hipocampais, uma das áreas críticas para a formação de algumas memórias e controle do eixo HPA. Infecções são capazes de induzir a síntese de IL-1β no hipocampo, como observado em sagüis (Bernardini et al., 2001). Por outro lado, determinados estressores, como o isolamento social, são capazes de induzir a síntese de IL-1β (revisado em Turnbull & Rivier, 1999). A propósito, é interessante notar a semelhança semiológica no humor e atividade em geral, entre a depressão e o estado psíquico nas doenças infecto-contagiosas.

Alterações comportamentais e fisiológicas originadas de um estado enfermo apresentam muitas similaridades com estados de estresse crônico, como prostração, desmotivação, catabolismo, inapetência, falta de atenção, hipertermia, redução da libido e deficiências cognitivas. Não coincidentemente estes mesmos sinais deram origem aos estudos sistemáticos do estresse (Selye, 1986). Intuitivamente pode-se perceber as similaridades no estado enfermo e nos efeitos do estresse, supondo que vias e alterações bioquímicas, neuroquímicas e fisiopatológicas são compartilhadas entre o sistema imune e o sistema neuroendócrino que lida com o estresse. Por esta razão, tem-se investigado por meio de aprendizagem dependente do hipocampo, qual

a dimensão do efeito das interleucinas, das doenças e do estresse sobre a formação de memórias e reação emocional.

Notáveis são os resultados de injeção de IL-1β via i.c.v., em ratos, em testes de memória condicionada: houve uma piora no aprendizado dependente do contexto mas não interferiu no medo condicionado pareado com som condicionado (Pugh et al., 2001). A indução da síntese de IL-1β tem a vantagem de estudar as ações desta interleucina sem provocar alterações relacionadas à doença. Ratos sob o efeito de IL-1β, seja em situação de isolamento social ou por injeção de lipopolissacarídeo (LPS)[4] possuem pior performance na formação de medo condicionado. A ação de IL-1β na formação de memórias é tempo dependente, de forma que uma pré-exposição ao ambiente onde os animais seriam condicionados, quando injetados, não altera de forma significativa a consolidação da memória hipocampo dependente (Pugh et al., 2001). Não existem evidências diretas de que a IL-1β ligando-se a receptores hipocampais vai mediar a piora na formação e consolidação de memórias, mas as evidências experimentais são fortes para apontar neste sentido.

A IL-1β interfere com a LTP, um mecanismo possivelmente relacionado a formação de memórias (Beggs et al., 1996). Em primeiro lugar, a LTP é capaz de induzir a expressão de IL-1β, de forma ipsilateral no hipocampo, o que supõe ser um resultado direto de LTP. Segundo, um aumento na concentração de IL-1β pode piorar a formação de LTP (Pugh et al., 2001). O mecanismo de ação ainda não é bem entendido, mas a IL-1β inibe a liberação pré-sináptica de glutamato, impede a despolarização pós-sináptica ao ativar fortemente os receptores GABA (o que diminui a condutância por aumentar o tempo de influxo de Cl^-) e também inibe a corrente de Ca^{++} através de proteína quinase C.

Testes de indução de estresse, como pinçamento de cauda e imobilização, são capazes de estimular a síntese de IL-1β no hipocampo. Muitas das alterações comportamentais dependentes dos sistemas de serotonina, dopamina, norepinefrina e resultantes da ação do ACTH podem ser minimizados ao se bloquear a formação de IL-1β. Desta forma parece plausível supor que pelo menos em parte, a IL-1β desempenha um papel nas conseqüências do estresse (Pugh et al., 2001).

---

[4] LPS é um componente ativo da membrana de patógenos gram-negativos capaz de induzir uma forte estimulação imune.

Interessante notar que a IL-1β induz a liberação de serotonina, parecendo ter um papel análogo ao de alguns antidepressivos (por exemplo, tianeptina), que realmente protegem o animal dos efeitos de estresse ao induzir um aumento da atividade de serotonina (Pugh et al., 2001).

O **sistema digestório** pode ser severamente afetado pelos efeitos do estresse, principalmente com o aparecimento de úlceras gastrintestinais (p.ex. Suleman et al., 2000; Uno et al., 1989). Entretanto, estas úlceras ocorrem caracteristicamente na porção glandular, diferenciando-se daquelas úlceras do lúmen, causadas por jejum prolongado (Suleman et al., 2000; Uno et al., 1989). Estas lesões gastrintestinais podem ser acompanhadas por melena e gastrorragias. O efeito dos GCs na mucosa é basicamente devido à interferência na síntese de bicarbonato e de mucina, ambas dependentes da ação de prostaglandinas. A síntese de prostaglandinas depende da ação da anidrase carbônica, que é inibida pelos GCs em crônicos e altos níveis. Sob estresse, há uma maior secreção de ácido clorídrico, além de uma contratilidade tônica do estômago pela ação adrenergégica. O resultado é a lesão da mucosa (Berne & Levy, 1993). Este efeito parece ser mediado no SNC pela inervação serotonérgica do núcleo mediano da rafe que se projeta no hipocampo dorsal.

Existe a proposta de que as alterações do estresse afetam diretamente o **sistema cardiovascular** de forma a predispô-lo a danos. A ativação do sistema cardiovascular se dá por intermédio da ação das catecolaminas adrenérgicas. Existem indivíduos que parecem pré-dispostos a uma maior demanda cardíaca e aumentada suscetibilidade a cardiopatias (Kamarck et al., 1998). A presença de um apoio social em situação de alta ameaça, atenua a resposta cardiovascular aos desafios emocionais (Mendoza & Mason, 1997). Deve-se reconhecer que o estresse crônico, inclusive de magnitude leve, com o aumento do cortisol basal, pode predispor o indivíduo a alterações cardiovasculares (arritmia, taquicardia), interferindo ainda com o metabolismo lipídico, o que se supõe ser um fator de alto risco para a aquisição de cardiopatias (Kaplan et al., 1983, 1991).

Por ação do cortisol os receptores de insulina ficam relativamente insensíveis, resultando na ativação da remoção de ácidos graxos para compor as vias neoglicogenólicas (Björntorp, 1999). Neste aporte lipêmico massivo, ocasionado por cortisolemia, pode-se encontrar perfis de triglicérides normais, mas com uma relação muito maior entre LDL e HDL (lipídios de densidade leve e lipídios de alta densidade, respectivamente) em sujeitos com o eixo HPA mais reativo (Kaplan et al.,

1983; Roy et al., 2001). Como se sabe, este balanço é crítico para o desenvolvimento de aterosclerose e vasculopatias. O cortisol tem uma ação permissiva na ativação cardiovascular, mas esta pode não ser uma boa medida para se relacionar ao estresse, haja vista que é um resultado imediato das catecolaminas adrenais mais do que dos GCs (Roy et al., 2001). Contudo, propôs-se que animais com cortisol basal alto poderiam mediar a resposta e talvez a recuperação cardiovascular na situação de ativação por algum desafio (Sapolsky et al., 2000). Estas alterações endócrinas podem ter origem no perfil emocional do sujeito, como sugerido para primatas não-humanos (Sapolsky, 1990) e humanos (Roy et al., 2001).

Alterações metabólicas como o aumento glicemia, podem acompanhar o desafio emocional, como demonstrou Armario et al. (1996) em humanos submetidos a estresse psicológico. Estes autores mensuraram hormônios neste mesmo estudo, onde encontraram um aumento na cortisolemia e na prolactinemia, mas curiosamente, o nível de ansiedade estava mais correlacionado com o aumento da glicemia do que qualquer outro índice. Estes achados em humanos possuem uma congruência com os achados em ratos submetidos a estresse leve crônico, em que lesões hipocampais resultaram em redução significativa da glicemia e da concentração de linfócitos (Bratt et al., 2001). Estes resultados não estão de acordo com os estudos em fêmeas dominantes e subordinadas de sagüis comuns, nas quais a diferença nos níveis de cortisol (maior em dominantes) e o jejum prolongado parecem não influenciar os níveis glicêmicos (Abbott et al., 1998). Isto é curioso, pois os leucócitos dependem do aporte energético advindo da glicose, utilizando apenas esta fonte de energia para seu metabolismo (Feldman et al., 2000). Em outras palavras, baixa glicemia induz uma redução na atividade leucocitária.

No caso do estudo com humanos por Armario et al., (1996), os autores propuseram que a glicemia poderia ser uma alternativa para mensurar indiretamente a ansiedade. Provavelmente a ativação de hormônios adrenomedulares resultaria neste aumento energético, o que não significa necessariamente uma disponibilidade efetiva de energia para as células nervosas, pois depende de carreadores e da ação de outros hormônios como a insulina e o cortisol. Este último é reconhecido como um atenuador da sensibilidade do receptor da insulina, além de diminuir a expressão dos carreadores de insulina (De Kloet et al., 1998).

Portanto, considerando que o aporte de glicose é crítico para a proteção aos insultos cerebrais (Sapolsky, 1986; Stein-Behrens et al., 1994), a verificação dos

níveis glicêmicos pode fornecer indicações da funcionalidade do metabolismo energético neural central. Um aporte insuficiente pode ser a diferença entre a apoptose e a necrose neuronal, os dois mecanismos além da inibição do processo mitótico, que poderiam explicar uma redução na densidade neuronal límbica em situação de estresse (Roy & Sapolsky, 1999).

A ação do cortisol é reconhecida por ser glicemiante e diabetogênica ao diminuir a sensibilidade dos receptores de insulina, aumentar disponibilidade de glicose sangüínea e aumentar a atividade das células beta do pâncreas (Genuth, 1993; Björntorp, 1999). Em um estado de estresse, o papel dos glicocorticóides elevados seria altamente adaptativo para a manutenção da glicemia, tanto para a nutrição cerebral como para o metabolismo das células do sistema imunológico.

A hipercortisolemia persistente pode levar à uma depleção insidiosa dos estoques protéicos, representados por aminoacidemia, deficiências em enzimas, co-fatores e sais minerais. A inibição dos receptores de insulina impede um aporte energético para as células somáticas. Em conjunto, estes eventos metabólicos podem levar à perda progressiva de peso e da condição orgânica.

De fato, a perda de peso é um dos índices clássicos dos efeitos deletérios do estresse, desde os primeiros estudos de Hans Selye. Em vários táxons se observou a perda de peso concomitante aos efeitos do estresse psicológico crônico (Turkkan et al., 1986).

Algumas psicopatologias humanas são acompanhadas de distúrbios do apetite como a bulimia, a anorexia nervosa e a depressão. De forma geral, há uma inibição da motivação para se alimentar, acompanhada de anedonia alimentar. O distúrbio pode ser tão severo, que leva à morte. A perda de peso pode então estar ligada não somente aos efeitos metabólicos diretos, mas à modificação no comportamento alimentar, um dos mais profundos padrões comportamentais de sobrevivência.

Algumas alterações endócrinas são derivadas das condições sociais, como por exemplo o aumento dos glicocorticóides e a diminuição da síntese e liberação de IGF-1 em babuínos subordinados (Sapolsky & Spencer, 1997). O estresse social pode regular a expressão de neurotrofinas em áreas neurais como o hipocampo e o hipotálamo (Cirulli, 2001).

1.7 REATIVIDADE EMOCIONAL E VULNERABILIDADE

A resposta emocional pode ser cunhada ao longo do desenvolvimento do indivíduo, particularmente nos estágios iniciais de consolidação do sistema nervoso central, tanto na fase pré-natal como pós-natal (Bornstein, 1989; Silva et al., 1998). Na infância há uma maior plasticidade comportamental e neuroquímica aos eventos emocionais quando o indivíduo adquire um perfil persistente de resposta. Mais tarde, estas alterações podem ser observáveis, como a maior concentração de CRF ou menor disponibilidade de receptores 5-HT na amígdala e outras áreas límbicas, em sujeitos altamente reativos (Heim & Nemeroff, 1999). Assim, por exemplo, tem-se observado, em primatas, indivíduos emocionalmente mais reativos ou com fraca resposta adaptativa às situações de grande demanda emocional, cujas mães foram previamente expostas a fatores estressantes durante a prenhez (Clarke et al., 1996; Schneider & Suomi, 1992).

A vulnerabilidade adquirida por eventos precoces na vida, parece predispor os sujeitos aos efeitos de estressores psíquicos, mas não físicos (Heim & Nemeroff, 1999). Por outro lado, experiências sociais positivas como interação social, cuidado parental competente e riqueza de estímulos que satisfaçam as necessidades comportamentais são capazes de moldar perfis comportamentais que parecem ser mais adaptativos e potencialmente mais refratários aos estímulos aversivos, sem contudo responder adequadamente ao mesmo (Boinski et al., 1994; Lincoln III et al., 1995; revisado em Boere, 2001). Essas experiências positivas não somente influenciam a resposta emocional, mas parecem dotar os sujeitos com maior capacidade cognitiva, ao acelerar a aprendizagem e a memória (Rosenzweig & Bennet, 1996).

O isolamento social é considerado por uma maioria de estudos como o mais severo estresse para primatas (revisado em Reinhardt & Reinhardt, 2000). Em primatas, estudos de ecologia comportamental enfatizaram que a marginalização social e as dificuldades de acesso a recursos naturais, com constantes episódios de desafio e imprevisibilidade, causam a perda da condição orgânica, maior vulnerabilidade a predação e redução nas oportunidades reprodutivas (Ferrari & Rylands, 1994). Estes estressores e seus efeitos em primatas possuem paralelos com humanos. Por exemplo, estudos indicam que contínuos, recentes e persistentes fatores de estresse podem causar um efeito devastador na saúde mental, predispondo os indivíduos à depressão e distúrbios de ansiedade (Paykel, 1979). Uma hierarquia

instável como aquela encontrada em babuínos por ascensão de machos antes subalternos, com constantes escaramuças e ameaças, mesmo que de menor dimensão, causam um persistente hipercortisolismo e provável queda no sucesso reprodutivo (Sapolsky, 1990). Em humanos, o isolamento social por marginalização e mau tratos tem sido associado à vulnerabilidade para psicopatologias e distúrbios do comportamento (Gibbs, 1997; Lupien et al., 2000). Uma infância marcada por negligência maternal, separação por longo tempo da mãe ou sem parceiros para interação social é reconhecida por alterar o comportamento na vida adulta de primatas (Becker, 1993; Harlow et al., 1971; Schneider & Suomi, 1992). Em sagüis, descreveu-se o impacto negativo na aptidão física e comportamental de animais que receberam menos cuidados quando filhotes (Johnson et al., 1996c). Em crianças, a negligência maternal ou um estado crônico de apatia e depressão das mães são reconhecidos em predisporem os filhos à maior ocorrência de doenças autoimunes e distúrbios de comportamento e depressão (Gibbs, 1997; Lupien et al., 2000).

Da mesma forma, em primatas não-humanos é encontrada uma série de fatores predisponentes e desencadeantes que em essência são os mesmos para humanos. A posição hierárquica, a estabilidade social e principalmente o estilo de lida com os desafios, são importantes fatores que influenciam os comportamentos e efeitos fisiológicos relacionados ao estresse (Sapolsky, 1982). Por exemplo, animais que ocupam postos hierárquicos subordinados apresentam quantidade basal de GCs elevada (babuínos: Sapolsky, 1982; tupaias: Flügge, 1995). Curiosamente, em sagüis (*C. kuhlii*) há o reverso, em que fêmeas dominantes apresentam maior nível de cortisol urinário (Smith & French, 1997b). Em geral, há uma diferenciação na cortisolemia entre animais de diferentes posições sociais, embora mais recentemente, em um estudo com fêmeas de *Macaca fascicularis*, em grupos instáveis, observou-se uma falta de correlação consistente entre cortisolemia e posição hierárquica (Stavisky et al., 2001).

A qualidade do ambiente físico e social, em seus extremos, é capaz de influenciar a capacidade perceptual, as habilidades cognitivas e o metabolismo de primatas, alterando a sua relação com o meio (Mendoza, 1991). Em todos os níveis taxonômicos, tem-se verificado que a pobreza de estímulos pode levar a uma franca diminuição de algumas áreas corticais e límbicas, acompanhada de uma resposta emocional inadequada aos desafios enfrentados (Rosenzweig, 1996; Lyons et al., 2000a).

Em ambiente natural, relatou-se a sazonalidade, a disponibilidade de recursos e mudanças no meio influenciando o comportamento, resultando em maiores índices de comportamentos agonísticos (Ferrari & Lopes-Ferrari, 1990; Lee, 1986). As alterações encontradas em estudos em cativeiro não são unicamente artifícios deste tipo de criação, mas certamente pertencem ao amplo espectro de possibilidades de temperamento em que os indivíduos foram selecionados. Na natureza existem relatos de animais com perfis emocionais bem distintos nas relações sociais, advindos de uma característica temperamental (Sapolsky, 1990). Há razão para crer que em humanos, a vulnerabilidade para determinados eventos estressores (ou o acúmulo deles) possa ter uma função estratégica adaptativa, pois foi selecionado como traço ao longo da evolução e estatisticamente são preponderantes em respostas comportamentais, tanto quanto o traço para a sobrevivência, como o gregarismo e a linguagem (nesse, 1999). Indivíduos mais responsivos estariam adotando uma estratégia alternativa à resposta de indivíduos mais refratários, ambos podendo se adaptar a uma situação particular de perigo (Nesse, 1999). Portanto, na resposta ao estresse poderia haver diferentes e extremos graus de reação para uma situação de demanda emocional.

A interação entre os glicocorticóides e as vias serotonérgicas é o mais forte mecanismo para explicar a vulnerabilidade de humanos e outros primatas. Evidências sobre o papel da serotonina mediando o perfil comportamental e a resposta ao estresse é consistente. A serotonina tem sido relacionada à facilitação da dominância em primatas (Westergaard et al., 1999) e ao aumento da sociabilidade (Knutson et al., 1997; Stein, 1998). Por outro lado, o baixo nível de serotonina tem sido relacionado ao aumento da impulsividade (Mann et al., 2001), aos altos níveis de agressão (em roedores: Blanchard et al., 1998a; em raposas: Trut, 1999) e ao suicídio (Mann et al., 2001). Estas modificações não se referem somente aos níveis de serotonina cerebral mas também à ativação dos receptores: observou-se maior número de receptores em ratos selvagens do que domesticados (Blanchard et al., 1998a), sendo os primeiros mais agressivos ou reativos do que estes últimos.

O estudo das diferenças individuais em primatas não-humanos na resposta ao estresse poderia muito bem compor o quadro explicativo da vulnerabilidade aos efeitos emocionais e afetivos do estresse. Ambientes com maior suporte social, estímulos positivos e satisfação das necessidades comportamentais, como ambientes enriquecidos de cativeiro, se contrapõem ao isolamento e pobreza de estímulos,

situação não raramente encontrada nas criações de animais com distúrbios comportamentais (p.ex. De Jonge et al., 1996; Herskin & Jenssen, 2000).

1.8 ESTRESSE E PSICOPATOLOGIAS

Nas regiões desenvolvidas, desordens afetivas lideram em morbidade e mortalidade (Nesse, 1999). Enquanto é difícil organizar, identificar e modificar a etiologia de tais distúrbios em seres humanos sabe-se que o estresse pode ser o cadafalso para a doença. De fato, o estresse intenso, incontrolável, prolongado ou intermitente tem sido imputado como fator desencadeante de psicopatologias, particularmente a depressão (Guimarães, 1999). O estresse causa diversas alterações também em animais, semelhantes ao que ocorre em humanos, tais como: apatia, alterações do apetite, agitação, imobilidade, distúrbios sexuais, sono alterado, úlceras gastroduodenais, imunodepressão, hipertensão, diabetes, alterações de peso e outras (referidas ao longo desta tese).

Em humanos, fatores psicossociais são importantes desencadeadores de estados afetivos alterados. O curso temporal dos eventos que antecedem o quadro psicopatológico é importante para desencadeá-lo. Por exemplo, investigações clínicas retrospectivas indicam que os três meses antes da primeira crise de depressão são importantes pelo surgimento de eventos que abalam a afetividade (perda de entes queridos, dificuldades financeiras, perda de emprego, etc). Estes fatos parecem ter mais impacto quando em pequenas e constantes ocorrências do que apenas um evento maior. Tanto em humanos como em outros animais, o aparecimento da primeira crise parece facilitar as subseqüentes, ou seja, há uma facilitação no estabelecimento de quadro depressivo (Guimarães, 1999). Acredita-se que isto ocorre por uma modificação na expressão gênica da célula ao ativar ou inibir genes responsáveis pela formação de neurotransmissores, receptores e fatores metabólicos celulares (enzimas, organelas, etc). Os efeitos ambientais e sociais, interagindo com o patrimônio gênico e o desenvolvimento do indivíduo, podem modificar profundamente o balanço entre neurotransmissores, receptores, reações neuroquímicas intracelulares e predominância de determinados agrupamentos celulares neurais.

A **depressão**, um quadro complexo que afeta 40% a 60% das hospitalizações por distúrbios afetivos e 13% a 20% da população em um dado momento da vida (Guimarães, 1999) pode ser classificado como depressão maior, distimia e tipos não

específicos de depressão. A depressão maior é um quadro que se estabelece unicamente ou mais vezes, caracterizado por sinais como desinteresse por atividades prazerosas, perda do humor, perda de interesse por várias atividades rotineiras ou novas. A depressão deve ser acompanhada por pelo menos quatro outros sinais como desesperança, culpa, auto-estima baixa, desamparo, hiperfagia, inapetência e alterações do sono (Guimarães, 1999). Podem ainda contribuir para o quadro os distúrbios sexuais, fadiga, agitação psicomotora, dificuldades de raciocínio lógico e pensamentos recorrentes de morte com ou sem tentativas de suicídio (Guimarães, 1999).

Um sub-tipo da depressão maior é a depressão endógena, geralmente identificada pela falta de interesse, melancolia, anedonia, sentimento de culpa excessivo, retardo no sono terminal, agitação ou retardo motor e anorexia (Guimarães, 1999). Um quadro psicótico pode acompanhar a depressão maior, com idéias distorcidas, delirantes e às vezes com alucinações. A depressão pode ser atípica, com resposta positiva aos eventos recompensadores, mas com distúrbio do apetite, excesso de sono e extrema sensibilidade à rejeição. Alguns tipos de depressão se confundem com ansiedade e podem apresentar uma sintomatologia bastante diversa. Em qualquer caso, os sintomas comportamentais e psicológicos podem ser acompanhados de hipercortisolemia e resistência ao teste da dexametasona.

O risco de ocorrência entre mulheres é de 10% a 25%, mas para os homens está entre 5% a 12%. Depois do aparecimento de um quadro depressivo, geralmente autolimitado, o risco de recorrência de um segundo episódio está entre 50% e 60%. As chances do aparecimento de um quadro depressivo parecem ser maiores quanto maiores sejam as recidivas, havendo uma forma de facilitação. Há um risco aumentado para parentes de pacientes com depressão maior, indicando um fator hereditário no aparecimento do distúrbio.

A Teoria Monoaminérgica da Depressão, elaborada na década de 1960, argumenta que os substratos neurais estariam em vias serotonérgicas e noradrenérgicas, pois se observou que a imipramina, um eficaz antidepressivo, bloqueava a recaptação destes dois neurotransmissores. As vias serotonérgicas que melhor representariam a atividade mediadora na estabilidade do humor e no aparecimento da depressão são as vias que se originam nos núcleos da rafe (mediano e dorsal) que enviam fibras para o hipocampo dorsal, amígdala e córtex frontal. As

vias noradrenérgicas se originam principalmente no lócus cerúleo, que enviam projeções ascendentes por dois feixes (dorsal e ventral) para amplas conexões em áreas do prosencéfalo (Guimarães, 1999).

As evidências que suportam a teoria monoaminérgica da depressão são muitas, destacando-se:

a) pacientes deprimidos têm respondido positivamente ao tratamento com fármacos que aumentam a biodisponibilidade sináptica de serotonina e NA;

b) a reserpina, droga usada no tratamento de hipertensão, causa depressão em 10% a 20% dos pacientes, acreditando-se que isto se deve à depleção dos estoques de monoaminas;

c) o bloqueio farmacológico da monoaminoxidase (MAO), droga que degrada as monoaminas, causa uma melhora em quadros depressivos, sendo uma das alternativas terapêuticas da depressão;

d) o tecido cerebral de suicidas, freqüentemente vítimas de distúrbios depressivos, apresenta menor concentração de 5-HT e seus metabólitos (principalmente o 5-HIAA), do que pessoas vítimas de outras causas;

e) alguns pacientes deprimidos apresentam uma baixa concentração urinária de MHPG (3-metoxi-4-hidroxi-fenilglicol), um metabólito da NA;

f) uma privação aguda de l-triptofano, o precursor da serotonina, causa uma diminuição de prolactina (estimulada por fármacos) ou diminuição na disponibilidade de serotonina estimulada por fenfluramina, droga que induz a liberação de serotonina na fenda sináptica;

Os sistemas serotonérgicos e noradrenérgicos estão intrinsecamente ligados nos distúrbios afetivos e na mediação das emoções. Parte desta integração é entendida pela ação dos antidepressivos clássicos, que são abrangentes, terapeuticamente efetivos e agem em ambos os sistemas. Observou-se um aumento dos metabólitos da NA, no líquor, após o tratamento com antidepressivos em pacientes tratados com amitriptilina, correlacionando-se com as alterações psicomotoras; as mudanças nos metabólitos da serotonina correlacionam-se com uma melhora nos sintomas de ansiedade e no humor (Guimarães, 1999).

A neuroquímica entre estes dois sistemas também apresenta interdependência, como por exemplo, os receptores pré-sinápticos $\alpha 2$ exercem uma inibição tônica na liberação de serotonina; adrenoceptores $\alpha 1$ estimulam neurônios serotonérgicos

localizados nos núcleos da rafe; receptores do tipo 5-HT_3 facilitam a liberação de adrenalina (Guimarães, 1999).

Uma das maiores evidências neuroendócrinas relacionadas aos distúrbios afetivos, principalmente a depressão, é um desequilíbrio no eixo HPA. Em uma grande parte dos pacientes deprimidos ocorre uma hiperatividade do eixo HPA, onde os mecanismos de retroalimentação negativa estão insensibilizados, com o conseqüente aumento dos GCs (Sapolsky, 1993). Os achados clínicos e experimentais, entretanto são contraditórios: pacientes deprimidos, às vezes, podem responder ao teste da dexametasona (Bratt et al., 2001); pacientes com a síndrome do estresse pós-traumático freqüentemente são normocortisolêmicos (Yehuda, 1997); ensaios com animais adrenalectomizados (sem produção adrenal de corticosterona) demonstraram uma ocupação de GCs apenas ao nível cerebral, sugerindo uma síntese e ativação local (Baulieu, 1998).

Apesar de vários testes e modelos animais de depressão terem um alto valor preditivo da ação de uma droga, alguns aspectos sutis do repertório dos animais são negligenciados (Setem et al., 1999), o que enfraquece a validade dos testes. Modelos experimentais apropriados para cada aspecto da depressão ainda precisam ser desenvolvidos.

A **ansiedade** é um estado de medo antecipatório de evento que pode ocorrer ou não, ser real ou imaginário. A ansiedade causa nos seres humanos um profundo desprazer, com pensamentos aterrorizantes, reações autonômicas acentuadas e um viés negativo dos sentimentos e dos fatos. Podem acompanhar sintomas de tensão motora e expectativa apreensiva. A ansiedade pode inibir a motivação, a libido, o apetite e a dor. O estado de vigilância se torna pronunciado e hiperresponsivo, com padrões anormais de sono. A organização do raciocínio lógico pode estar severamente afetada. A ansiedade pode ser sub-classificada em: ansiedade generalizada (ansiedade difusa e persistente, por mais de seis meses), Transtorno do Pânico (com ou sem agorafobia), agorafobia, fobias simples (medo ou esquiva de situações, objetos ou pessoas específicas) e fobia social (medo de pessoas ou multidões). Outras manifestações clínicas relacionadas aos distúrbios da ansiedade são a PTSD – caracterizada por reminiscência vívida de eventos traumáticos, com reações autonômicas, (hipervigilância e esquiva com fatores relacionados ao trauma) – transtorno do estresse agudo (idem ao anterior mas com curso temporal imediato),

Transtorno Obsessivo-Compulsivo (**TOC**), Transtorno por indução de drogas, Transtorno de Ansiedade por doença não especifica e Ansiedade não especificada.

O substrato neural da ansiedade se localiza no sistema límbico, incluindo o córtex frontal. Como a ansiedade deriva do medo, e o medo tem um valor evolutivo altamente adaptativo, a aplicação e a interpretação de testes de ansiedade com animais baseia-se nas predisposições espécie-específicas de estratégias de defesa. Defesa e medo são emoções e é no sistema límbico onde ocorrem os principais substratos que regulam a ansiedade. Baseado nos trabalhos de Blanchard et al. (1993), determinou-se um conjunto de estratégias de defesa e seus respectivos substratos neurais com bastante precisão e validade. Para isso, utilizou-se uma bateria de testes etológicos com ratos se confrontando com predadores, com técnicas imunohistoquímicas e farmacológicas. Participam da resposta de medo e ansiedade o Sistema Cerebral de Defesa (**SCD**) e o Sistema de Inibição Comportamental (**SIC**). O SCD se localiza no hipotálamo, tendo sido identificado por Hess estimulando esta área em gatos em torno de 1930. O SIC se localiza no septo e no hipocampo, onde lesões nesta área causam um abrandamento na resposta emocional, semelhante ao observado pela ação dos benzodiazepínicos (**BZD**). O SIC seria facilitado por projeções noradrenérgicas e serotonérgicas advindas do mesencéfalo. A forte ativação deste sistema causaria a ansiedade. Drogas ansiolíticas diminuiriam a ação facilitadora das vias monoaminérgicas.

Mesmo com os modelos desenvolvidos por Blanchard e colaboradores (Blanchard et al., 1998a, 1998b), apesar da intensa busca ainda não se encontrou um modelo consistente entre o comportamento animal em testes de ansiedade e a correspondência do distúrbio de ansiedade (Martin, 1998).

Apesar do cortisol alto ou de retroalimentação impedida, existem fortes evidências que, em distúrbios psíquicos, o CRH é o elemento chave na desregulação do eixo HPA. O cortisol alto seria um subproduto da ação do CRH. Evidência mais direta do papel nem sempre proeminente dos GCs nos distúrbios do humor e da emoção, está no fato de que uma parte dos pacientes são normocortisolêmicos. O CRH se encontra aumentado em vários distúrbios, o que pode ser um indício forte da mediação dos transtornos por este neuropeptídeo. Além do PVN, vários outros sítios neuronais no SNC sintetizam e liberam o CRF, que estimula a secreção de ACTH; este, então, estimulará as adrenais a secretar os GCs.

1.9 LATERALIZAÇÃO DAS EMOÇÕES

Outra mensuração adicional que pode vir a despertar interesse no estudo da RE, é a mensuração da temperatura da membrana timpânica, supostamente indicativa de ativação de áreas cerebrais adjacentes ao tímpano, especialmente o hipotálamo (Baker et al., 1972; Swift, 1991). O tímpano é uma membrana fina e flexível que separa o meato acústico externo do ouvido médio, possuindo irrigação muito delgada. Por causa de sua espessura esses vasos realizam trocas de calor muito facilmente, conferindo uma temperatura própria ao tímpano, que não são suficientemente calibrosos para mantê-la, sendo facilmente influenciada por estruturas adjacentes como o encéfalo, principalmente o hipotálamo (Baker et al., 1972).

Em um estudo, realizado no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília, pelo grupo de pesquisa ao qual pertence este autor, se observou que em sagüis a temperatura timpânica mensurada em situação de estresse agudo (contenção), está correlacionada à experiência dos sujeitos. Isto é, aqueles sujeitos que possuíam mais histórias de capturas prévias apresentaram uma menor temperatura timpânica no ouvido direito (Tomaz et al., submetido). Considerando que a resposta emocional, estado afetivo negativo e sensibilização à dor estariam mais relacionadas à ativação de estruturas neurais no hemisfério direito (Pauli et al., 1999; Sackeim & Weber, 1986), e estados positivos, juntamente com a interepretação e codificação do ambiente, seriam predominantemente ativados no hemisfério esquerdo (Gazzaniga, 1996), a diferença na temperatura timpânica de sagüis, refletindo diferenças na atividade metabólica, poderia ser um indicativo de que há uma lateralização das emoções nestes primatas neotropicais.

Existem poucos estudos, relacionando lateralidade e temperatura timpânica em humanos (Benzinger, 1969; Meiners & Dabbs, 1977; Swift, 1991) e primatas do Velho Mundo (Boyce et al., 1996; Hopkins & Fowler, 1998). Por exemplo, Hopkins e Fowler (1998) realizaram um estudo com chimpanzés (*Pan troglodytes*); assim como Meiners e Dabbs (1977), eles utilizaram medidas de temperatura para verificar se mudanças no fluxo de sangue do cérebro refletiam mudanças na temperatura da membrana do tímpano. Através deste estudo foi possível identificar que, nesta espécie, alterações na temperatura timpânica refletem mudanças na temperatura cerebral. Os resultados, entretanto não foram consensuais, pois o hemisfério cerebral

mais ativado no estudo de Hopkins e Fowler(1998) pareceu ser o esquerdo enquanto no estudo de Meiners e Dabbs foi o direito.

Ademais, os resultados do estudo de Meiners e Dabbs (1977) mostraram uma correlação entre a variação na temperatura e atividades cognitivas associadas a um dos hemisférios cerebrais. O estudo com chimpanzés diferiu dos estudos com humanos em um aspecto muito importante. A diferença entre as temperaturas dos ouvidos esquerdo e direito, em humanos mostrou ser sutil, com variação de 0,01 - 0.02°C. Em chimpanzés esta diferença foi significativamente maior sendo a variação de 0,27 - 0,51°C. Estes resultados reforçam os resultados obtidos por Boyce et al. (1996) onde também foi encontrada uma grande diferença na variação da temperatura de crianças e macacos rhesus, uma outra espécie do Velho Mundo.

Boyce e colaboradores (1996) mostraram que a temperatura do tímpano também está relacionada com o estresse. Em seu experimento com crianças e macacos rhesus eles verificaram que, em ambas as espécies, os indivíduos que possuíam uma maior diferença de temperatura entre os tímpanos direito e esquerdo mostravam menor capacidade de se adaptar a situações novas ou estressantes. Nos macacos isso foi observado por uma maior agitação motora após a separação do grupo; em crianças que apresentaram maior diferença, os pais relataram casos de depressão, comportamento sexual indevido e outros distúrbios de comportamento.

Swift (1991) investigou, em humanos, a possibilidade da temperatura timpânica refletir diferenças na contribuição dos hemisférios cerebrais durante a execução de tarefas de reconhecimento de faces e palavras, conhecidas como lateralizadas para o hemisfério direito e esquerdo, respectivamente. Observou-se que as diferenças na temperatura dos ouvidos dos voluntários estavam relacionadas com o desempenho nos testes. O tempo de resposta e o percentual de acerto foram menores quando um dos hemisférios estava mais ativo e a autora inferiu que aquele hemisfério teria um papel especial relacionado ao desempenho naquela tarefa.

No presente estudo objetivou-se determinar características biocomportamentais relacionadas à habituação, estresse, enriquecimento e modificações na resposta de drogas que agem no sistema serotonérgico.

Devido às alterações comportamentais, endócrinas e metabólicas que se espera encontrar, dados sobre a temperatura timpânica comparando os sujeitos nestas várias condições poderiam trazer uma importante contribuição no uso deste método para a mensuração do metabolismo cerebral. É interessante notar que, se a temperatura

timpânica pode representar alterações na funcionalidade de um hemisfério cerebral frente ao outro, os possíveis efeitos de alterações metabólicas e biocomportamentais resultantes dos tratamentos de estresse crônico e enriquecimento, poderiam ser correlacionados através da termometria timpânica. Uma diferença entre as medidas dos dois hemisférios poderia sugerir uma lateralização e fornecer indícios se a cronicidade dos tratamentos alteriariam a predisposição metabólica dos indivíduos. A dissociação térmica de regiões do organismo pode estar relacionada ao metabolismo. A mensuração da temperatura retal, índice clínico clássico em Medicina Veterinária, poderá consubstanciar as possíveis variações de temperatura central de cada indivíduo.

1.10 MODELOS ANIMAIS NO ESTUDO DO ESTRESSE

Aproximações experimentais em modelos animais para o estudo do estresse são empregadas obtendo-se alguns padrões comportamentais que denotem o estado ou situação homóloga às psicopatologias humanas. Os modelos utilizam recursos da psicologia experimental (Martin, 1998), mas há uma tendência de se utilizar cada vez mais modelos etologicamente-baseados. Estes últimos consideram padrões comportamentais da espécie contextualizados em situações que ocorreriam naturalmente em populações selvagens (Setem et al., 1999). Os modelos podem utilizar um paradigma (Martin, 1998) ou a combinação de dois ou mais paradigmas diferentes (p.ex. Champoux, 2001). De qualquer maneira, um modelo ideal é aquele que demonstra uma mesma função, comportamento, mecanismos e disfunções do que se observaria em humanos (Bird & Parlee, 2000). Em um extremo, um modelo animal para o estudo de um fenômeno biológico humano, deve seguir os mesmo mecanismos fisiológicos e genéticos. Esta idealização é impossível de ser obtida, mas modelos animais, principalmente com antropóides, se aproximam muito das características encontradas em humanos. Apesar das diferenças entre sagüis e humanos, muitos mecanismos podem ser comuns aos dois, como veremos. Mais ainda, várias psicopatologias e algumas doenças têm como um dos principais mecanismos a elevação persistente de GCs, situação cortisolêmica análoga encontrada em sagüis, mas sem aparente disfunção adrenoesteróide.

1.10.1 Modelo de imobilização forçada

Neste modelo o sujeito é submetido por algum tempo à imobilização em um aparato, uma condição inescapável e de extremos comportamentais, pois raros ou inexistentes são os relatos desta situação em condição selvagem. O sujeito pode ficar por minutos ou horas imobilizado (Cole et al., 2000a; Conrad et al., 1999; Guimarães et al., 1993; Tajima et al., 1996; Ward et al., 2000). Talvez por isso mesmo, este paradigma causa um acentuado aumento nos GCs plasmáticos e efeitos profundos na resposta emocional.

Este modelo é utilizado principalmente com roedores. Em primatas não-humanos, não é comum se utilizar este paradigma, mas alternativamente tem-se utilizado uma contenção mais breve, às vezes manualmente, para mensurações fisiológicas (Clarke, 1991; Tomaz et al., submetido).

1.10.2 Modelo de nado forçado

Modelo utilizado exclusivamente com roedores, em que o sujeito é submetido por um determinado tempo a nadar em um cilindro de 50 cm de raio sem conseguir sair da situação (Huston & Bures, 1983). O animal nada a princípio com vigor, mas vai gradualmente diminuindo os movimentos de pedalar, permanecendo com leves movimentos para manter a flutuação. Com a repetição do teste, o mesmo sujeito realiza movimentos vigorosos de pedalar por tempo menor do que a primeira experiência. Interpreta-se que o sujeito "aprende" a não tentar continuar nadando com vigor, pois não há o "reforço" de sair da situação. Drogas que atenuariam o estresse, como os antidepressivos, reativam o vigor de tentar nadar e sair do recipiente (Guimarães et al., 1993).

1.10.3 Modelo de restrição alimentar

Neste modelo os sujeitos recebem alimentação nutritivamente adequada mas oferecida com graus de dificuldade, em pontos ou em esquemas temporais restritos. Sob um esquema em que os sujeitos devem procurar os alimentos ocultos, com diferentes graus de sucesso (reforçamento), os sujeitos apresentam um aumento da cortisolemia em esquemas de menor disponibilidade (mais erros na procura) do que sujeitos com maior disponibilidade (mais acertos na procura) (Champoux et al., 2001). Supõe-se que estas condições podem se assemelhar a períodos ou regiões com maior disponibilidade de recursos alimentares, o que se espera que ocorra em

ambiente natural. Em pontos restritos, os animais tanto podem disputar uma única fonte como podem despender grande parte da atividade diária para encontrar alimento escondido (Lyons et al., 2000b). No esquema temporal, o alimento é fornecido em curtos espaços de tempo ou em horários imprevisíveis (Coplan et al., 1996). É um modelo utilizado em primatas, onde tem sido observada a disputa pela fonte alimentar, o que causa uma desestabilização e excitação em disputas sociais. Pode ser usado para mimetizar situações de dificuldades de obtenção de recursos em fêmeas prenhes e o desenvolvimento infantil posterior (Lyons et al., 2000b), como se acredita que ocorreria em situações naturais.

1.10.4 Modelo de isolamento social

Modelo amplamente empregado em roedores (Bratt et al., 2001; Maisonnette et al., 1993), primatas (Johnson et al., 1996b; Lewis et al., 1990; Sacket, 1968; Sapolsky et al., 1997; Smith & French, 1997a) e outras espécies (p.ex. em suínos: Herskin & Jensen, 2000), que consiste em retirar o sujeito de um ambiente social e colocá-lo isolado em um pequeno viveiro. Às vezes esta manipulação se confunde com o empobrecimento do ambiente (p.ex. Harlow et al., 1971). É especialmente apropriado para espécies com fortes laços sociais, eliciando uma resposta potente de ativação dos eixos SAM e HPA. Em espécies que tem fortes laços reprodutivos, como primatas monógamos, a ativação causa uma resposta biocomportamental muito acentuada (Mendoza & Mason, 1986).

Interessante observar que a resposta do eixo HPA para sujeitos que são submetidos à condição solitária crônica pode estar associada às menores concentrações plasmáticas de cortisol e comportamentos de automutilação (Tiefenbacher et al., 2000). Se o estressor neste caso é imposto cedo no desenvolvimento do sujeito, acarreta sérios distúrbios do comportamento como agressividade extremada, automutilação, resposta descontextualizada e várias estereotipias (Sacket, 1968).

1.10.5 Modelo de separação maternal

A ligação entre a mãe e a prole é muito forte nas espécies altriciais, e um pouco menos dependentes em espécies precociais. Baseado nesta dependência pode-se testar as reações emocionais, comportamentais e fisiológicas de filhotes separados de suas mães. A separação pode ocorrer por alguns minutos ou por vários dias. Este

modelo é muito usado em roedores e primatas (Champoux et al., 2001), mas outras espécies também têm sido testadas (Heller et al., 1988; Hennessy, 1997).

Nesse modelo as respostas ao estresse são muito evidentes, acompanhadas de ativação do eixo HPA seja por hipercortisolemia ou por atenuação da capacidade de resposta do eixo HPA aos desafios emocionais (Hennessy, 1997). Observou-se que caracteristicamente os filhotes desenvolvem uma resposta comportamental bifásica: inicia-se com uma resposta de agitação e vocalização (protesto-desespero), prosseguida por uma fase de retraimento, com diminuição da atividade, isolamento social, comportamentos auto dirigidos e característica postura de encolhimento (*huddling posture*) (revisado por Laudenslager & Fleshner, 1994). Há também grandes alterações fisiológicas como alterações do sono, aumento do débito cardíaco, arrastamento de fases de alguns padrões circadianos (p.ex. temperatura corporal) e alterações neuroendócrinas (Laudenslager & Fleshner, 1994). Este é um modelo multimodal, pois as reações possuem substratos neuroquímicos diferentes, conforme o tipo de comportamento apresentado (Clarke et al., 1999; Kalin, 1991; Laudenslager & Fleshner, 1994; Lyons et al., 2000a).

Um dos problemas deste modelo é que espécies diferem quanto ao papel materno no cuidado ao filhote. Por exemplo, em *Saimiri sciureus* as mães quase nunca contatam com os machos adultos na fase pós-parto, mas permitem que outras fêmeas aparentadas (*tias*), cuidem de seus filhotes. Na grande maioria dos primatas as mães detêm o cuidado quase exclusivo do filhote. Em sagüi comum (*Callithrix jacchus*) as fêmeas são ajudadas por todos os membros do grupo, inclusive por outras fêmeas em idade reprodutiva. Esta ajuda pode ser dinâmica conforme a composição do grupo e das condições ambientais (Boere, 1994). Essa característica de sagüis é válida para outros calitriquídeos. Neste táxon, o cuidado parental é alocado conforme a experiência no cuidado de filhotes, paridade, tamanho e composição etária-sexual do grupo. Em espécies monógamas como zogue-zogues (*Callicebus moloch*) (Mendoza & Mason, 1986) ou monógamas optativas como sagüis (Silva et al., 1993), a ligação do filhote com a figura paterna ou de outros membros pode ser forte o suficiente para eliciar respostas adrenocorticais e comportamentais muito semelhantes (ou mais intensas) à separação da mãe (Hennessy, 1997). Portanto, embora o modelo acarrete padrões de desconforto emocional e efeitos adrenais muito evidentes, as particularidades de cada espécie e o ambiente social podem alterar as respostas esperadas. Deve-se ainda considerar que

o eixo HPA de filhotes tem um tempo de amadurecimento até se configurar como plenamente responsivo ao estresse (Kalin, 1991).

1.10.6 Modelo de conflito social

Modelo em que dois ou mais sujeitos são simultaneamente submetidos à disputa por algum recurso ou estímulo de alto valor apetitivo (Turkkan et al., 1986). Modelos de restrição alimentar, restrição de acesso a uma única fonte de água e competição por espaço em ambientes superpovoados são algumas das clássicas abordagens desse modelo (Blanchard et al., 2001). Comumente esse modelo se vale da hierarquização das relações sociais para analisar o estresse entre dois indivíduos. Por exemplo, o modelo de exposição ao intruso, quando dois machos de tupaias são expostos em um mesmo ambiente, desencadeia uma contenda entre ambos até que se estabeleça uma hierarquia; esta não deixa de ser uma disputa por espaço e recursos dentro do viveiro (Jöhrens et al., 1991). Vários táxons foram testados, como aves (Carere et al., 2001), roedores (Blanchard et al., 1993a; Mitsushima et al., 1998), suínos (De Groot et al., 2001), cães (Beerda et al., 2000) e primatas não-humanos (Boccia et al., 1992, 1995; Meyer et al., 2001). Nos estudos com primatas é um método empregado para avaliar os efeitos do estresse na resposta comportamental, endócrina e imunológica (Boccia et al., 1992).

1.10.7 Modelo de estresse psicossocial por exposição ao intruso

Neste modelo se explora a incerteza ou a valência das relações sociais ao expor dois animais desconhecidos em contato, com ou sem a presença de um terceiro relacionado. Este modelo se baseia nas condições etológicas naturalmente ocorrentes na socioecologia da espécie, como o conflito residente/intruso (tupaias) ou casal/intruso (sagüis e zogue-zogues).

Em tupaias, o modelo consiste em expor um macho estranho (intruso) a outro macho (residente) dentro do viveiro deste (p.ex. Jöhren et al., 1991; Ohl & Fuchs, 1999). Rapidamente se estabelece uma hierarquia e aquele que assume o posto subordinado apresenta diminuição da movimentação, piloereção, vocalizações de submissão, retraimento, perda de peso e aumento de cortisol urinário. Estes sinais, assumindo um curso crônico, podem se assemelhar muito a um estado de depressão, já que há uma resposta positiva de reversão utilizando-se antidepressivos, mas não com ansiolíticos (Kampen et al., 2000).

Em zogue-zogues há uma forte ligação entre o par reprodutor, que é monogâmico, contrastando com a poliginia e a formação de ligações sociais mais frouxas em macacos-de-cheiro (*Saimiri sciureus*). Nos primeiros, a exposição do par a um macho ou fêmea desconhecidos, estimula respostas comportamentais agonísticas e aumento na cortisolemia para sujeitos do mesmo sexo (Mendoza & Mason, 1986). No comportamento se observou que a movimentação e a freqüência de vocalizações aumentou em relação à linha de base. Para *Saimiri* (fêmeas e machos) que recebem a exposição de outras fêmeas baixam a cortisolemia em relação à linha de base. No comportamento observou-se uma maior abordagem de machos ao intruso enquanto fêmeas permaneceram distantes (Mendoza & Mason, 1986).

Uma variante deste modelo é a apresentação de indivíduos estranhos do mesmo sexo, com contato total, até que se estabeleça uma hierarquia (em *Callithrix jacchus*: Cilia & Piper, 1997; Johnson et al., 1996b; Smith & French, 1997a). Geralmente ocorre uma ativação do eixo HPA, seguida por comportamentos agonísticos. Após há o aparecimento de comportamentos submissos daquele sujeito que assume um posto menor na hierarquia. A tendência, neste caso, é o rápido estabelecimento de uma hierarquia devido à falta de outros indivíduos. Entretanto, quando mais de dois indivíduos estranhos participam, pode haver uma contenda duradoura e fatal (p.ex. *Sagüinus oedipus*: Ossa et al., 1988).

1.10.8 Modelo da ameaça humana

Este modelo se baseia na reação defensiva de sagüis e outros primatas (em macaco rhesus: Kalin, 1997), em desviar o olhar ou demonstrar comportamentos defensivos quando expostos a pessoas estranhas por um breve período (Costall et al., 1988; Carey et al., 1992). Não é propriamente um modelo de estudo das reações e da resposta neuroendócrina de estresse, mas merece ser mencionado, pois estimula reações defensivas relacionadas ao estresse como o aumento na cortisolemia e ativação adrenomedular. Geralmente o sujeito testado desvia o olhar, procura se ocultar (quando possível) ou emite vocalizações características de submissão ou conflito.

1.10.9 Modelo de exposição à novidade

Alguns estudos expõem os sujeitos a novidades, seja um objeto novo ou a mudança para um novo viveiro, partindo do pressuposto de que "novas situações", estimulam uma resposta emocional, às vezes acompanhada de ativação forte do eixo HPA (Hennessy et al., 1995; Smith et al., 1998) e respostas autonômicas (Mendoza & Mason, 1997). Nestas situações, a exposição prolongada leva rapidamente à habituação, se não houver novas manipulações diferentes. Interessante notar que primatas têm uma atenção amplamente dirigida para vários estímulos no ambiente sempre que haja uma exposição à novidade, com predisposições a explorar e interagir com estímulos novos. Esta característica comportamental vem acompanhada de uma ativação de áreas cerebrais relacionadas ao estresse, com aumento, mesmo que temporário e não muito acentuado, dos níveis de cortisol.

1.10.10 Modelo de separação de um parceiro preferencial

Em algumas espécies, díades como o par reprodutor possui uma ligação social muito forte. A separação do parceiro leva a uma clara manifestação de desconforto (*distress*) com agitação e altos níveis de cortisol (Mendoza & Mason, 1986, 1997). Este teste auxilia e definir estilos de vida (*life styles*) e a reatividade emocional, considerando a valência das relações sociais e a ecologia reprodutiva das espécies (Mendoza & Mason, 1997).

1.10.11 Modelo de estresse imprevisível crônico (EIC)

Neste modelo utiliza-se de uma série de estressores psíquicos ou físicos, uma ou duas vezes ao dia, durante pelo menos 14 dias (López et al., 1998). Nesse modelo se enfatiza a imprevisão do sujeito quanto aos eventos, obtendo-se isto ao *se modificar o estressor em cada vez e apresentá-lo em esquemas temporais variados* e pseudoaleatórios. Em primatas não se tem utilizado explicitamente este modelo, muito menos apresentando estressores psicológicos.

1.10.12 Modelo do labirinto em "oito" (L8) e exposição ao predador

Recentemente desenvolveu-se em nosso laboratório (Barros et al., 2000) um aparato de exploração e exposição a estressores denominado "labirinto em oito". Basicamente, este aparato consiste de condutos de metal quadrados dispostos entre si

em ângulos de 90°, formando um retângulo com um braço adicional no meio, quando visualizados de cima (mais detalhes em "Métodos").

O procedimento experimental consistia em introduzir o sujeito pela porta-guilhotina, permitindo que este explorasse livremente o aparato, durante sete sessões de 30 minutos, a cada 72 horas. Na sétima sessão notava-se um achatamento e estabilização de comportamentos emocionais, indicando uma habituação do sujeito ao aparato. Após isso, expunha-se os sujeitos ao labirinto, mas com a presença de um predador (um gato do mato empalhado) em um dos cantos exteriores do aparato. Observou-se nestas condições, que o predador taxidermizado eliciava comportamentos de medo e ansiedade nos animais. A administração de um ansiolítico (diazepam) atenuou comportamentos relacionados com o medo, estresse e ansiedade tais como coçar, exploração, marcação de cheiro e proximidade ao predador (Barros et al., 2000).

Outro estudo, com metodologia semelhante, investigou os efeitos da substância P (SP) no teste do labirinto e exposição ao predador (Barros et al., 2002). Estes autores observaram que a locomoção aumentou sob todas as doses de SP em relação à salina mas não alterou substancialmente o comportamento exploratório e os comportamentos deslocados. Os autores verificaram que ocorreu um aumento significativo naquele qaudrante mais próximo do predador empalhado, sob doses de 5, 50 e 500 μg/Kg, em relação à salina. Isto foi interpretado como um efeito ansiolítico da SP.

A ação da buspirona também foi tstada no mesmo paradigma, á partir de saguis intactos e ingênuos (Barros et al., 2001). Utilizando o mesmo modelo, em doses de buspirona de 0,1 mg/Kg, 0,5 mg/Kg, 1,0 mg/Kg e e salina, Barros et al (2001), observaram um efeito ansiolítico na dose de 0,5 mg/Kg.

O teste do labirinto em oito está em pleno desenvolvimento, mas os resultados obtidos até o momento indicam um alto poder para a validade de face e predição.

1.11 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E PLASTICIDADE DO COMPORTAMENTO

O reconhecimento de estresse em animais pode não ser uma tarefa fácil quando se analisa do ponto de vista psicológico ou em estados subjetivos. Algumas destas abordagens fogem da abrangência e dos métodos científicos disponíveis, mas sinais fisiológicos e comportamentais podem contribuir para desenhar um suposto "estado

interno". O estudo do estresse sob esta ótica, pode ter uma importante contribuição se for realizado com contrastes entre situações aversivas e situações que poderiam satisfazer as necessidades comportamentais dos animais, pressupondo um estado de bem-estar. Para este contraste com o estresse, o enriquecimento ambiental parece ser adequado, além de desejável, pela abrangência e repercussão no estudo do bem-estar animal e zootecnia de animais selvagens. Ademais, condições adequadas de criação, evitando situações de estresse, podem fornecer modelos mais fidedignos em estudos neuroetológicos e etofarmacológicos ao preservarem as estruturas e dinâmica neural homeostática.

Para animais o cativeiro pode ser considerado uma situação de estresse permanente se não houver estímulos apropriados. Ao longo da evolução os animais foram selecionados em ambientes dinâmicos, com interações diárias com o meio físico, sazonalidade de recursos, intempéries, busca de alimentos, proteção contra predadores, busca de ninhos, superação de estados patológicos, reprodução e desafios sociais, apenas para citar alguns. Embora alguns destes eventos possam significar situações extremas, os animais estão constantemente em busca (e mais ou menos predispostos) de novos estímulos.

Investigações científicas iniciadas há mais de meio século, consolidaram o conceito de que um ambiente com estimulação física apropriada, socialmente compatível, podem ter profundos efeitos na resposta emocional dos indivíduos (Rosenzweig & Bennet, 1996). Os indivíduos parecem ficar predispostos à maior poder de resolução da situação, diminuindo os efeitos deletérios, além de uma rápida e íntegra capacidade de se recuperar dos eventos desafiadores. Propugna-se que os efeitos cerebrais da experiência rica, variada e freqüente, induzem os animais a expressarem amplamente o seu repertório espécie-específico (Rosenzweig & Bennet, 1996). Em várias espécies animais, a estimulação física com um ambiente mais enriquecido estimula a diversidade do repertório comportamental, enquanto condições mais pobres parecem inibir a ampla manifestação do comportamento (em sagüis: Schoenfeld, 1989; em suínos: De Jonge et al., 1996).

A estimulação apropriada pode muito bem ser representada por um ambiente enriquecido em cativeiro. No outro extremo, condições ambientais pobres ou socialmente hostis podem alterar o comportamento e a fisiologia, com aparecimento de sinais francos de estresse crônico (em cães: Beerda et al., 2000; em ratos: Greenought et al., 1973; em primatas: Schoenfeld, 1989; em humanos: Gibbs, 1997).

Como já mencionado, tanto o enriquecimento como a perda da qualidade do ambiente físico e social pode levar a alterações neuroquímicas e estruturais no SNC. Estas alterações são conhecidas como plasticidade, ou como definido por Fuchs e Flügge (1998): plasticidade é a habilidade do cérebro para realizar adaptações funcionais relevantes como conseqüência de desafios.

Conforme a constituição genética e a experiência do indivíduo pode-se encontrar diferentes formas de lidar com estes desafios. Talvez uma das formas de resistência à degeneração dendrítica e à perda de capacidades cognitivas pelo estresse crônico esteja na estimulação positiva e prolongada do meio em que o animal vive. Há uma vasta literatura demonstrando que condições inadequadas de vivência levam a distúrbios comportamentais e alteração da neuroquímica cerebral (Mason, 1991).

Acredita-se que estes distúrbios comportamentais teriam como função inicial uma compensação para a frustração ou inadequação do meio às necessidades etológicas do indivíduo (Mason, 1991). Em contrapartida, estímulos ambientais que venham satisfazer as necessidades etológicas dos indivíduos, tais como exploração, manipulação, contato, sociabilidade e outros, podem desencadear mudanças neurais como o aumento da espessura cortical, aumento da razão glial/neural, expansão da área de contato sináptica, aumento dos espículos dendríticos, aumento dos corpos e núcleos neuronais e aumento da ramificação dendrítica (Rosenzweig & Bennet, 1996).

Estas mudanças não ocorrem indistintamente em todo o cérebro, contudo mais especificamente em regiões relacionadas à aprendizagem e memória como o hipocampo, o córtex occipital e córtex cerebelar. Nos neurônios a modificação ocorre nos dendritos basais, aumentando de tamanho, extensão e ramificação, além do aumento nos receptores de membrana, vesículas citosólicas e áreas de contato sináptico (Rosenzweig, 1996). Essas mudanças, embora proporcionalmente pequenas, têm um marcante significado no desempenho em testes de aprendizagem. Incremento na expressão gênica, com crescente capacidade sintética de proteínas e ativação de fatores de crescimento neurais acompanham estas modificações morfológicas, biomoleculares e comportamentais (Rosenzweig & Bennet, 1996). Em suma, as oportunidades positivas de interação com o meio, uma situação definida como enriquecimento, pode aumentar o *tamanho* e/ou o número de sinapses em determinadas áreas cerebrais. Em situações de pobreza de estímulos ocorre o inverso

(revisado por Boere, 2001; Rosenzweig, 1996). Em alguns estudos com roedores e aves, se demonstrou que a riqueza de estímulos pode não somente aumentar a capacidade de resolução de problemas, mas parece capacitar o indivíduo a uma melhor resposta ao estresse (Bartesaghi & Serrai, 2001; Rosenzweig & Bennet, 1996).

O gregarismo é uma condição que favorece o enfrentamento de situações estressantes em primatas (Smith et al., 1998). Desta forma, o agrupamento de animais cativos é desejável, causa bem-estar e é enriquecedor (Boere, 2001). O alojamento com sujeitos familiares ou familiarizados pode ser uma condição comparável ao suporte social encontrado em sociedades humanas. Nestas últimas, o apoio da família ou do meio social favorece o ajustamento, a convivência com o problema e a recuperação de estados clínicos (House et al., 1988). A base teórica desta melhor resposta aos eventos estressores está em uma certa estabilidade e previsibilidade do meio social, favorecendo o desenvolvimento de estratégias melhor adaptadas para o enfrentamento do estresse; o apoio social é contínuo e independente se ocorre ou não estresse (ver a discussão em Smith et al., 1998). Por outro lado, o meio social poderia servir como tampão, diminuindo os efeitos do estresse ao modular a resposta, quando ocorre (House et al., 1988; Smith et al., 1998).

Poucos estudos destacaram a importância dos efeitos do estresse, ou como contraposto, os efeitos de um ambiente apropriado na resposta e efeitos farmacológicos. Entretanto, é crescente a preocupação de que drogas, especialmente de feitos neuropsicológicos, podem ser profundamente alteradas pela condição de estresse ou bem-estar dos indivíduos. Portanto ainda permanece sub-explorada a possibilidade de que drogas sejam afetadas por estados mais ou menos subjetivos de sofrimento ou de bem-estar psicológico.

Alguns estudos exploraram as experiências peri-natais modelando o comportamento e predisposições neurobiológicas. Clarke et al. (1999) tratando macacos rhesus com fluoxetina e desipramina, dois antidepressivos, sob condições sociais diferentes quando separados, obtiveram diferentes reações às drogas, sugerindo que os sistemas aminogênicos seriam diferentemente responsivos nestas condições sociais.

Em roedores, primatas catarrinos, calitriquídeos, prosímios e no ser humano há evidências inequívocas de que as células precursoras das células granulares, localizadas no giro denteado do hipocampo, estão em constante processo mitótico,

sendo capazes de migrar para camadas mais externas (Gould & Tanapat, 1999). Uma experiência de estresse social (exposição ao intruso) é capaz de ter conseqüências duradouras, inibindo o processo mitótico das células desta camada do córtex (Gould & Tanapat, 1999).

Em sagüis demonstrou-se que o suporte familiar ou de um parceiro de sexo oposto reduz significativamente o estresse, abaixando os níveis de cortisol para faixas basais (Smith & French, 1997b). O suporte social em primatas, particularmente sagüis, pode ser considerado um elemento enriquecedor. Coincidentemente, em psicopatologias humanas, o suporte social/familiar tem grande importância em atenuar quadros clínicos ou na recuperação destes pacientes; por outro lado, a falta de suporte familiar predispõe à vulnerabilidade para eventos aversivos e seus efeitos nefastos, como a depressão latente (Pugh et al., 1999).

Os GCs podem estar mediando as modificações comportamentais positivas oriundas do enriquecimento ao promoverem um balanço na função entre os MRs e GRs: concentrações basais aumentariam a ligação com os MRs que são facilitadores neurais de memórias (De Kloet et al., 1998). Além disso, como foi mencionado ao longo do texto (vide supra), a manutenção de concentrações basais de GCs melhora a ativação dopaminérgica, protege células neurais dos danos da exposição prolongada aos aminoácidos excitatórios, estimula a regeneração neural por ativação de neurotrofinas e diminui a ansiedade.

1.12 ESTUDOS NEUROETOLÓGICOS DO ESTRESSE

Uma das linhas de pesquisa mais consistentes dos efeitos do estresse na emocionalidade e na atividade de modelos animais, está no trabalho com roedores desenvolvido pelo casal Blanchard (p.ex. Blanchard et al., 1993b). Estresse social prolongado, representado em ratos pela posição subordinada, pode abreviar o tempo de vida, talvez resultado de uma série de alterações observadas, muito antes do conflito, que caracterizava muito mais um "estilo" de reações comportamentais dos animais, tais como: menos agressividade, engajamento em menor atividade sexual, comer menos, beber menos, diminuição do contato social e menor mobilidade (Blanchard et al., 1993a). Parece portanto, que ratos sob estas condições subordinadas teriam menor possibilidade de sobrevivência.

De fato, evidências diretas têm sido encontradas, tais como o aumento do risco quando em contato ao predador, ao se exporem mais em comportamentos de

avaliação de risco (*risk assessment*, sensu Blanchard et al., 1993b), e diminuírem comportamentos reparadores como catação e comer. Em oposição ao comportamento dos dominantes, que diminuíram a avaliação de risco, os subordinados aumentaram-na, o que é sugestivo de que estes últimos, sob esta intensa experiência emocional de contato com o predador, não são capazes de avaliar corretamente as condições do ambiente. Então, em posição subordinada, ratos são constantemente defensivos às custas de comportamentos apetitivos, semelhante ao que ocorre com humanos e outros animais (Blanchard et al., 1993a; McEwen, 1996; Meaney et al., 1988; Sapolsky, 1982). Ratos subordinados parecem diminuir os seus contatos com o meio externo, uma espécie de auto-isolamento.

Na fisiologia, o estresse da subordinação causa perda de peso (até 25%), aumento do baço, atrofia do timo, menor peso dos testículos, aumento dos glicocorticóides plasmáticos e diminuição de **CBG** (globulina carreadora dos glicocorticóides). Por outro lado, a secreção de mineralocorticóides (das adrenais) se manteve estável. Além disso, houve uma resposta atenuada quando desafiado por agonistas serotonérgicos (Blanchard et al., 1993a). Ainda, a resposta ao estresse de contenção parece ter sido atenuada em torno da metade dos subordinados, com pouca elevação de cortisol quando comparados à outra metade e aos dominantes (Blanchard et al., 1993a).

As investigações de estresse envolvendo primatas utilizaram cinco gêneros de catarrinos: *Pan* (Erwin & Deni, 1979), *Macaca* (Boccia et al., 1992; Cameron, 1997; Clarke, 1991; Gust et al., 1994; Kalin, et al., 1988; Kaplan et al., 1986; Kunes et al., 1990; Line et al., 1989; Puri et al., 1981), *Papio* (Sapolsky, 1990, 1993; Uno et al., 1989), *Cercopithecus* (Suleman et al., 2000) e *Cercocebus* (Sapolsky et al., 1990). Essas investigações trouxeram decisivas contribuições para o estudo do estresse, revelando como as condições ambientais, a posição social, as relações sociais e o tipo de agentes estressores podem influenciar na RE.

Os catarrinos foram os primatas preferidos no estudo do estresse, mas são cada vez mais raros e dispendiosos. O desenvolvimento pleno de um modelo de antropóide para o estudo do estresse ainda permanece em aberto, conforme o nosso ponto de vista. Ademais, um outro grupo de primatas, os platirrinos, ainda pouco conhecidos, podem fornecer importantes contribuições devido às características fisiológicas e comportamentais vantajosas para o estudo do estresse.

Com a exceção de uns poucos estudos recentes analisando os níveis de cortisol, a maioria dos primatas neotropicais (platirrinos) ainda permanece por ser estudada, tanto em condições de cativeiro como em ambiente natural. Isto tanto se refere a RE como ao comportamento e aptidões cognitivas. Estudos neuroanatômicos, biomoleculares, etológicos, funcionais e farmacológicos são escassos, abrangendo os gêneros *Callithrix* (três espécies: *C. jachus*, *C. penicillata* e *C. kuhlli*), *Sagüinus oedipus*, *Aotus trivirgattus*, *Calicebus moloch*, *Saimiri sciureus* e *Cebus apella* (Barros et al., 2000, 2001; Boinski et al., 1994; Coe et al. 1978, 1982; Fragaszy, 1979; Gould et al., 1998; Häggström et al., 1984; Hennessy, 1986; Johnson et al., 1996a, 1996b; Kerl & Rothe, 1996; Mendoza & Mason, 1989, 1997; Reynolds et al., 1999; Saltzman et al., 1994; Smith & French, 1997a; Smith et al., 1998).

Interessante notar que este grupo de primatas menos estudado está aos poucos tomando o interesse de pesquisadores devido às suas características em lidar com o estresse. A começar que as espécies platirrinas até o momento estudadas apresentam altas concentrações de GCs sem alterações sistêmicas aparentes relacionadas com hipercortisolismo (Chrousos et al., 1982). Ao contrário dos demais antropóides, estas espécies são consideradas "resistentes aos GCs". Parte da explicação desta resistência nos platirrinos se deve à presença de uma imunofilina hsp-90, uma proteína *heat-schock* associada ao núcleo, a FKBP51, que inibe a ligação do receptor GR com o cortisol, pelo menos como foi estudado *in vitro* por Reynolds et al. (1999) em células de macacos do gênero *Saimiri*. O exato mecanismo ainda está por ser conhecido, mas supõe-se que outras espécies de platirrinos tenham mecanismos iguais para a resistência aos glicocorticóides.

O estresse pode bem ser representado pelas condições desfavoráveis do ambiente tais como inadequação social ou pobreza de estímulos. Estas condições não são raras nas "criações" em cativeiro, contribuindo para os altos índices de óbitos e baixa reprodução no plantel. Muitas vezes, exames *post mortem* encontram vários distúrbios nestes animais sob condições severamente desfavoráveis: caquexia, ulceração gastroduodenal, hiperplasia das adrenais, freqüente casuística de etiologia infecciosa, entre outros sinais (Leverentz et al., 1999; Sapolsky et al., 1990). Estes distúrbios são acompanhados freqüentemente por hipercortisolemia, indicando fortemente que fazem parte de RE.

Em sagüis existe um flagelo nas criações representadas por uma doença consumptiva, insidiosa e na maioria das vezes irreverssível, denominada genericamente de "Wasting Marmoset Syndrome – WMS". Não se conhece a etiologia desta entidade nosológica, mas Johnson et al. (1996b) propuseram que poderia ser o resultado de condições mal adaptativas em cativeiro, assemelhando-se ao ultrapassado conceito de "estado de exaustão" descrito por Selye (1974). Além da sintomatologia parecida com um processo de queda da condição orgânica por estresse psicossocial, evidências epidemiológicas consubstanciam a proposta de uma etiologia emocional e endócrina proposta por Johnson et al.(1996b): o quadro acomete mais fêmeas e animais subordinados, reconhecidamente indivíduos mais vulneráveis ao estresse em sagüis.

Primatas geralmente vivem em grupos, com relações sociais complexas e organizadas em hierarquias. Demonstrou-se em primatas que sujeitos de mais alto posto hierárquico, em relação aos mais subordinados, demonstram uma resposta adrenocortical igual ou menor, mecanismo de retroalimentação negativa mais sensível e conseqüentemente, mais rápido retorno aos níveis basais após um evento estressor (Abbott et al., 1998; Sapolsky, 1990; Ziegler et al., 1995).

A companhia de outros sagüis, como ocorre em primatas, pode atenuar o estresse causado por algum desafio (Smith et al., 1998). Entretanto, a exposição ou formação de pares sexuais em sagüis pode esbarrar em diferenças específicas e sexuais em que a resposta será consistentemente diferenciada (Smith et al., 1998). A exposição à ambientes novos causa uma reação alta de estresse em sagüis (*C. kuhli*) mas é atenuado quando esta exposição ocorre na presença de um parceiro preferencial (Johnson et al., 1996b; Smith et al., 1998).

A resposta a estressores em primatas parece ainda não ser muito clara. Enquanto alguns autores predizem que aumento da agitação e locomoção é uma resposta generalizada de medo em primatas (Smith et al., 1998), isso contrasta pela estratégia de sagüis frente ao desafio maior (predadores), que é de aumentar o criptismo, caracterizado por imobilidade (Carey et al., 1992; Cheney & Wrangham, 1987; Ferrari & Lopes-Ferrari, 1990).

1.13 BIOLOGIA DE SAGÜIS DO CERRADO *Callithrix penicillata*

Os sagüis comuns (*Callithrix jacchus*) são pequenos primatas neotropicais, da sub-família Callithrichidae. O sagüi do cerrado (*C. penicillata*) é assemelhado

fenotipicamente ao sagüi comum, mas é válido como espécie (Vivo, 1991), pois possui distinções biogeográficas, filogenéticas, fenotípicas e comportamentais que os distinguem. Ambos são classificados em um grupo denominado jacchus, que se assemelha quanto à morfologia, a fisiologia e a ecologia comportamental. Entretanto, ambos são biogeograficamente muito distintos, embora intergradações possam ocorrer (Alonso et al., 1987). *C. penicillata* ocorre nos cerrados do Brasil Central em todos os seus habitats e *C. jacchus* é originário das florestas litorâneas do nordeste brasileiro. Apesar de sua mais ampla distribuição, *C. penicillata* é menos conhecido e existem apenas uns poucos trabalhos de campo relatando a ecologia comportamental (Stevenson & Rylands, 1988). Muito do conhecido sobre a biologia dos sagüis do cerrado é inferido a partir dos estudos com sagüis comuns. Ao longo deste texto, algumas comparações serão utilizadas baseadas nesta semelhança, mas onde ocorram distinções, estas serão destacadas.

O pequeno porte deste antropóide, a rápida reprodução, a alta adaptabilidade aos mais diversos ambientes e o baixo custo de criação são características que lhe confere uma posição especial na pesquisa biomédica (Abbott et al., 1990; Smith et al., 2001). O uso racional destes animais, não comprometendo a sua conservação em ambiente natural, é de maneira geral aceito pela comunidade científica e bem tolerado pela sociedade. Além disso, os sagüis comuns, apresentam complexas relações sociais, são flexíveis em seus padrões reprodutivos e são essencialmente gregários.

Em seu ambiente natural, estes animais teriam como forças evolutivas a constante ameaça de predadores (compensada por maior criptismo), dieta caracterizada por gomivoria e oportunismo alimentar (Ferrari & Lopes-Ferrari, 1989; Rylands, 1986). Sagüis são muito ativos e passam a maior parte do tempo se locomovendo (Miranda, 1997). Uma outra boa parte de seu orçamento diário de atividades é gasta em comportamento de vigilância.

A alta pressão de predação e a instabilidade do meio, sugerem a presença de características adaptativas dotando esta espécie de respostas precisas a eventos estressores. Estudos anteriores (Johnson et al., 1996b) demonstraram que estes animais possuem um sistema diferenciado para respostas rápidas, exigência essencial para um gênero colonizador de ambientes emergentes e instáveis (Rylands, 1986). O sagüi tem apresentado um desempenho satisfatório em testes experimentais envolvendo desafios emocionais e cognitivos (Saltzman et al., 1994; Smith &

French, 1997a). Portanto o uso destes animais como sujeitos experimentais em estudos sobre estresse apresenta uma grande potencialidade.

A fisiologia de sagüis parece ser extremamente eficiente e adaptada para os desafios comportamentais do nicho ecológico característico de uma espécie pioneira em sítios instáveis ou sazonais. São reconhecidos como "economistas" de energia, devido ao seu alto custo metabólico pelo seu pequeno porte e comportamento ativo. São animais que possuem grande labilidade térmica, baixando a temperatura durante a noite em até 2°C a 3°C, o que lhe conferiria economia energética. São capazes de sobreviver aos extremos de seca, como áreas atingidas por fogo, umidade relativa do ar prolongada de 15% a 30% e ausência de fontes hídricas (Canale et al., 2000). São onívoros, explorando obrigatoriamente exsudatos em ambiente natural (Harrison & Tardif, 1994), podendo sobreviver por longos períodos obtendo nutrientes quase que exclusivamente desta fonte (Miranda, 1997). Possuem uma estratégia digestiva mista de reator de alta digestão e reator de baixa digestão, conferida por um duodeno curto e um ceco desproporcionalmente grande (Caton et al., 1996), o que permite ter eficiência na obtenção rápida de nutrientes de alto valor (proteína animal) e obtenção mais longa por fermentação de açucares compostos (gomas).

Estudos biomoleculares demonstraram em sagüis comuns, por exemplo, que há um maior metabolismo na depuração de GCs (Bahr et al., 2000), maior expressão de mRNA para GRs e MRs sob o desafio de alto nível de GCs (Johnson et al., 1996a), resistência ao cortisol (Brandon et al., 1989) e ampla plasticidade endócrina (Abbott et al.,1998) e neural (Gould et al., 1998, 1999a). Assim, supõe-se que este táxon é dotado de um eixo neuroendócrino para a RE, de tal forma elástica que consegue ultrapassar os desafios diários com muita eficiência.

Tanto Saltzman et al. (1994) como Smith & French (1997b) sugerem que o eixo HPA de sagüis é particularmente sensível aos fenômenos psicossociais, tais como a formação de novos grupos e o posicionamento subordinado. A despeito da forte competição intrassexual, no máximo em três dias as fêmeas se ajustam em hierarquias duradouras, onde a dominante mantém níveis de cortisol mais elevados do que as subordinadas (Smith & French, 1997a). A obtenção de postos hierárquicos depende de vários fatores, mas não parece ser acompanhado por uma predisposição do eixo HPA; está mais relacionada ao estilo de enfrentamento social mais agressivo e aos hormônios sexuais (Saltzman et al., 1994).

A dosagem de cortisol plasmático em sagüis foi detectada em concentrações de 5 a 10 vezes maiores do que humanos e catarrinos (Saltzman et al., 2000). A disponibilidade de cortisol livre é bem maior em sagüis do que nos demais primatas, pois este grupo tem relativamente menor síntese e concentração de proteína carreadora de glicocorticóides, a CBG (Johnson et al., 1996b). A maior parte dos glicocorticóides circula livre ou fracamente ligado à albumina (Saltzman et al., 1994). Sob estresse, ainda é pouco compreendido o significado deste padrão de glicorticosolemia e alterações neurais/sistêmicas.

1.14 OBJETIVOS DO ESTUDO

Poucos trabalhos têm investigado em primatas antropóides, de forma conjunta, as relações da exposição aos estressores, das alterações neuroendócrinas, das reações comportamentais e a influência nas habilidades cognitivas. De acordo com o nosso conhecimento, foram praticados apenas dois testes em calitriquídeos: o teste de exposição breve ao intruso e o isolamento (Carey et al., 1992; Costall et al., 1988; Saltzman et al., 1994; Smith & French, 1997b). A reversão dos distúrbios do comportamento, após o término do estresse, foi testada retirando indivíduos (*C. jacchus*) do isolamento e pareando-os com outro sujeito (Johnson et al., 1996b).

Como a resposta ao estresse de alguma forma se diferencia quanto à espécie e até mesmo ao nível individual (p.ex. Conde et al., 2000), as variações deveriam ser mais bem estudadas para acrescentar novos conhecimentos neste importante comportamento defensivo. Apesar de condições ambientais e sociais adversas modelarem a resposta emocional e poderem comprometer a capacidade cognitiva, as relações diretas entre estresse, gerência emocional e cognição, são pouco compreendidas. Acrescida a isto, a maioria dos estudos utilizando testes farmacológicos testa em animais sadios, muitas vezes sem nenhuma alteração que possa justificar um "estado emocional alterado" ou "estressado" (López et al., 1998). Por isso, o estudo da aplicação de drogas no teste do labirinto em "8", paradigma desenvolvido por nosso grupo de estudos (Barros et al., 2000) a ser usado nesta

investigação, utilizando-se de animais oriundos de diversos regimes ambientais, ou seja sob diferentes pressões, podem resultar em situação mais realística da interação da droga com organismo.

No outro extremo estão os ambientes de cativeiro que podem mimetizar determinadas características fundamentais da ecologia comportamental de primatas, ao introduzir elementos enriquecedores. Estabilidade social, oportunidades de interação sexual, afiliativa, comunicação, alimentação adequada, espaço e tridimensionalidade são apenas alguns destes elementos enriquecedores. A compreensão do fenômeno neurobiológico da alteração dos padrões fisiológicos e do comportamento por introdução de elementos enriquecedores está em plena expansão.

A abrangência da interação entre ambiente, cérebro e comportamento tem aplicações práticas na criação de animais, no entendimento da biologia de primatas, na plasticidade neural, na psicofarmacologia, na etiologia e reversão de psicopatologias, além de considerações éticas, econômicas e metodológicas. Mais recentemente tem-se considerado o ambiente enriquecido como importante no desenvolvimento de quaisquer destas áreas do conhecimento. Por isso, ainda é incipiente o conhecimento sobre o enriquecimento ambiental para primatas.

Em suma, este estudo visa esclarecer, pelo menos em parte, a suposta ligação entre alterações neuroendócrinas e comportamento em sagüis, particularmente a funcionalidade, o desempenho e o impacto das manipulações do ambiente nas reações emocionais.

Diante do exposto, de uma maneira geral objetivou-se neste estudo:

1. Desenvolver métodos e um modelo de estudo do estresse em sagüis;
2. Desenvolver métodos e um modelo do estudo do enriquecimento ambiental em sagüis;
3. Verificar a resposta emocional de sagüis vivendo sob diferentes ambientes, quando submetidos a um desafio emocional (labirinto em "8");
4. Verificar a resposta farmacológica de uma droga ansiolítica/antidepressiva em sujeitos sob estresse agudo e crônico.

Estes objetivos gerais demandam avaliações mais pontuais, como:

1. Estabelecer uma linha de base comportamental em sagüis do cerrado (*C. penicillata*) vivendo em cativeiro;

2. Verificar índices fisiológicos em condição padrão, sem manipulação experimental;

3. Verificar alterações comportamentais sob estresse e oriundas do enriquecimento;

4. Verificar alterações fisiológicas sob estresse e oriundas do enriquecimento;

5. Verificar as reações comportamentais e a capacidade de adaptação de sagüis submetidos a um desafio emocional agudo, ou seja, ambiente novo do labirinto e habituação;

6. Avaliar os efeitos do estresse e do enriquecimento na resposta farmacológica a buspirona.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 SOBRE OS PROCEDIMENTOS DE ESTRESSE E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

A definição da metodologia da exposição ao estresse, os estressores e a resposta ao estresse em primatas, principalmente em sagüis.

Vários estudos sobre o estresse em animais utilizam tradicionalmente procedimentos extremos como privação alimentar, imobilização em um aparato, resfriamento, nado forçado e choque elétrico, que são de dificil ocorrência em meio natural. Além de serem eticamente pouco aceitáveis, esses procedimentos causam modificações profundas e desorganizadas no comportamento de primatas, que dificultam o estudo comparativo. Por outro lado, estressores sociais e ambientais como isolamento, exposição à novidade, escassez de recursos, pobreza de estímulos, negligência maternal e ameaça de predadores podem ser situações mais factíveis na rotina de sagüis em seu ambiente natural.

Acredita-se que estressores psicogênicos *per se* sejam capazes de estimular respostas acentuadas de medo e ansiedade em macacos. Esses estressores podem ser ameaças reais ou percebidas como tal. A exposição repetida pode diminuir a intensidade da resposta. Após algum tempo de exposição ao estressor ou a um sinal discriminante, os níveis de GCs tendem a baixar para um patamar basal, devido a um processo de habituação (Sapolsky, 1993). A exposição a um novo estímulo potencialmente aversivo pode elevar novamente os níveis plasmáticos de GCs, muitas vezes de forma mais acentuada e duradoura; quando isto ocorre, são fortes os indícios de que a nova exposição está estimulando uma RE.

Em uma revisão extensa do tema, Sapolsky (1993) definiu as variáveis relevantes para a diferença da resposta ao estresse psicogênico entre indivíduos da mesma espécie: a posição social; a estabilidade das relações sociais no grupo de vivência; a *personalidade* de cada indivíduo; a experiência perinatal do sujeito; a história de exposição recente; o patrimônio genético e/ou exposição freqüente à um estressor.

Devido à sua natureza gregária, o isolamento social é considerado o maior estressor para primatas (Bayne et al., 1991; Lewis et al., 1990; Imperato et al., 1991;

Smith & French, 1997b; Smith et al., 1998). Portanto, esta situação é usada para criar estados alterados na emocionalidade em primatas, com conseqüências na aquisição do repertório característico da espécie (Lewis et al., 1990; Sapolsky et al., 1997).

Outro eficiente paradigma é a exposição a um ambiente estranho, pois exerce uma forte ativação da resposta neuroetológica de estresse (Fragaszy, 1979; French & Inglett, 1991; Hardie & Buchanan-Smith, 2000; Henessy et al., 1995). Outros itens de privação que resultam em forte resposta de estresse são a exigüidade do espaço e a falta de oportunidades para explorar o ambiente (Warburton, 1990).

O cortisol é um excelente índice fisiológico para mensurar o impacto da reatividade à algum estressor, mas este por si só é a ponta de um icebergue da cadeia de eventos neuroquímicos e endocrinológicos que emerge da REs (Hennessy, 1997). Somente a utilização de cortisol como dado fisiológico para avaliar o impacto de estresse não é suficiente para elucidar o fenômeno (Brantley & Thomason, 1995; Stavisky et al., 2001). Os níveis de GCs plasmáticos, excetuando-se distúrbios endócrinos, podem variar conforme a hora do dia, a exposição a um estressor recente, a exposição crônica aos estressores, a dimensão do desafio, a falta de controle e o ambiente social (Sousa & Ziegler, 1998; Roy et al., 2001).

Considera-se ainda que pode haver uma dissociação entre a resposta comportamental e o nível de GCs, como a que ocorre em filhotes de *Saimiri sciureus* separados de mães substitutas, que se apresentam normocortisolêmicos mas com uma forte reação comportamental (Hennessy & Kaplan, 1982; Hennessy, 1997); ou a REs em sagüis expostos ao isolamento seguindo-se uma ressocialização, com dissociação da resposta adrenomedular e dos GCs (Johnson et al., 1996b); ou ainda, em pacientes com PTSD, cujos sintomas não são acompanhados de hipercortisolemia (Barret et al., 1996; Kellner et al., 2000).

O cortisol é um hormônio que possui várias alças de controle retroativo e interage com sistemas de controle homeostático. Por isso, outras mensurações biológicas foram realizadas neste estudo. Além da mensuração do comportamento, optou-se por avaliação endócrina, avaliação da bioquímica sangüínea, avaliação térmica metabólica, manipulação etofarmacológica, avaliação clínica e dados biomorfométricos quando apropriados.

A abordagem laboratorial visou analisar os níveis plasmáticos de cortisol, níveis de ácidos graxos livres, glicemia, contagem e diferenciação celular sangüínea.

A avaliação metabólica, em parte foi testada pela temperatura corporal e timpânica. A abordagem clínica verificou o aspecto geral dos animais e a casuística clínica. Na biomorfometria se considerou o peso. Caso alguns animais viessem a óbito durante a fase de tratamentos, haveria a necessidade de se realizar necropsia, observando as lesões e dimensão de órgãos relacionados à síndrome de estresse, como adrenais e aparelho digestivo.

A temperatura timpânica foi mensurada entre duas fases do experimento para verificar uma possível lateralização do controle emocional. Para investigar a sensibilidade de sistemas serotonérgicos, o principal neurotransmissor envolvido nos distúrbios do estresse, realizou-se um teste (labirinto em oito com exposição ao predador) empregando a administração sistêmica de um agonista de receptores 5-HT_{1A}, a buspirona. Sabe-se que sob determinadas condições esta droga é capaz de atenuar os efeitos nocivos do estresse (ver Guimarães, 1999).

Várias são as manifestações comportamentais estimuladas por uma situação de estresse, agudo ou crônico. Geralmente estas manifestações são observadas em estados que provavelmente envolvam medo, ansiedade e depressão. Adotou-se neste estudo um etograma que pode representar reações comportamentais frente a uma situação de estresse e situação de bem-estar (Tabela 1). Como os comportamentos observados foram mutuamente exclusivos, compondo um orçamento de atividades, o nível de mensuração foi o da média do tempo absoluto, ou seja, a média dos tempos totais alocados em cada atividade, pelo número de sessões nas respectivas fases do experimento.

2.2 SUJEITOS

Considerando uma amostragem mais abrangente alocou-se os sujeitos (*Callithrix penicillata*) (Figura 2) com distribuição homogênea quanto à faixa etária, sexo e composição social. Formaram-se 11 grupos, que depois foram redistribuídos aleatoriamente conforme o tratamento (Tabela 2). Os sujeitos estavam alojados em pares heterossexuais ou trios, sendo que 13 eram originários do cativeiro e 11 possuíam origem incerta, embora vivessem há pelo menos nove meses no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (ver Tabela 2).



Figura 2: Dois sujeitos de saguis do cerrado (*Callithrix penicillata*) que participaram do experimento.

Dois sujeitos (FEI e VAL) pertenciam, cada um, à grupos cujos membros não foram avaliados neste estudo; estes outros membros estavam sendo utilizados em outro experimento de observação comportamental, sem manipulação suficiente para causar estresse. FEI e VAL permaneceram em seus respectivos grupos até a fase do tratamento, quando foram transferidos para a situação de estresse.

2.3 ROTINAS

Os experimentos foram realizados no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (**CPUnB**), localizado na Fazenda Água Limpa, Brasília, DF. O CPUnB é credenciado pelo IBAMA como criadouro científico (Registro Nº. 1/53/1999/000006-2) Este projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília. As manipulações dos animais foram acompanhadas pela presença de Médico Veterinário (este autor, CFMV-0757).

Durante as observações, foi mantida a rotina do CPUnB, zelando-se quanto ao excesso de ruídos ou movimentação de pessoas. Não ocorreram manipulações com outros animais e a alimentação foi previamente servida durante as observações. Os animais estavam alojados dentro de um pavilhão com 24 viveiros adjacentes, separados por um corredor central. Este pavilhão situa-se na borda de uma mata de galeria e é arborizado em torno.

2.4 ALOJAMENTO E MANEJO

Os 24 animais observados estavam alojados em viveiros padrões medindo 2 m de comprimento x 1.3 m de largura x 2 m de altura, todos com condições padrões de estrutura física, composto de dois poleiros, caixa-ninho, um tronco com galhos emergindo do solo, uma plataforma de alimentação de 1,5 m de altura e chão coberto de serapilheira. Os sujeitos de cada viveiro não tinham contato tátil com os de outros viveiros, mas contato auditivo, olfativo e eventualmente contato visual não puderam ser totalmente evitados. A alimentação padrão do Centro de Primatologia (ração para filhotes de cães, frutos diversos picados, enriquecidos com vitaminas e eventualmente com ovos) era servida entre 6:30h e 7:30h, permanecendo dentro dos viveiros até por volta das 17:00h. Água estava disponível *ad libitum*.

Comportamento	Descrição	Nível de mensuração
1. Ambulação	Ou movimentação; o sujeito move-se e troca de posição dos membros anteriores e posteriores	Duração de cada episódio
2. Parar	O sujeito não se movimenta mas não apresenta os membros relaxados; a posição de decúbito dorsal, agarrado à tela, pertence à esta categoria.	Duração de cada episódio
3. Descansar	O sujeito não se movimenta e apresenta os membros relaxados e/ou o corpo estendido	Duração de cada episódio
4. Explorar	O sujeito lambe ou cheira algum substrato, podendo ser um dos indivíduos do grupo; inclui-se manipular, quando o sujeito usa uma das mãos para manipular alimentos ou peças do ambiente	Duração de cada episódio; considera-se o início de um novo episódio, quando ha pelo menos um intervalo de 3 segundos entre dois episódios próximos
5. Comer	Ato de morder e/ou mastigar alimentos	Duração de cada episódio
6. Escarificar	Ato de roer materiais dentro do viveiro	Duração de cada episódio
7. Autocatação	Catação do animal-focal, com os membros ou com a boca, no próprio corpo	Duração de cada episódio; considera-se o início de um novo episódio, quando ha pelo menos um intervalo de 3 segundos entre dois episódios próximos
8. Alocatação	Catação do animal-focal, com os membros ou com a boca no corpo de outro animal	Duração de cada episódio; considera-se o início de um novo episódio, quando ha pelo menos um intervalo de 3 segundos entre dois episódios próximos
9. Coçar	Movimentos vigorosos das mãos ou pés, de coçar o próprio corpo	Duração de cada episódio; considera-se novo episódio quando há troca do membro utilizado para coçar
10. Marcação	Esfregação da região ano-genital ou esternal em algum substrato	Duração de cada episódio
11. Brincar	Perseguições, corre-rola-e-tomba, esconde-esconde e "luta romana", fora de contexto agonístico; raro em adultos, comum em filhotes	Duração de cada episódio
12. Agonísticos	Esfregação da região genital ou esternal em algum substrato, vocalizações específicas (*twitter*, *ehr-ehr*)	Duração de cada episódio
13.Caixa-ninho	Animal entra na caixa-ninho com pelo menos a metade anterior do corpo	Duração de cada episódio

Tabela 1: descrição e nível de mensuração dos comportamentos observados na linha de base. Alguns comportamentos não foram observáveis devido às condições experimentais (ver texto). Todas as categorias comportamentais são mutuamente exclusivas

2.5 MICROCLIMA

O estresse climático é uma das mais conhecidas variáveis que pode afetar o comportamento e a fisiologia de animais (Prosser & Heath, 1991). O clima na região do Planalto Central é bastante estável, mas variações pequenas, relacionadas ao ambiente de vivência, podem afetar alguns padrões do comportamento. Para se avaliar a interferência do microclima durante os tratamentos e na sessão droga, a temperatura e a umidade foram mensuradas através de um termohigrômetro (Extech Instruments, modelo 445702, China), marcando-se a máxima e a mínima diárias, em cada recinto.

2.6 FASES DO ESTUDO

O estudo foi dividido em 4 fases distintas (Figura 3): **fase pré-tratamento (ou linha de base comportamental)**, **tratamentos (enriquecimento – E, estresse – S e controle – C; ou fase pós-tratamentos)**, **habituação ao labirinto (HE, HS e HC)** e **sessões com droga (DE, DS e DC)**. Em uma primeira etapa, antecedendo estas quatro fases, houve a habituação dos sujeitos ao observador. O procedimento consistia em o observador se postar sentado à frente do viveiro, devidamente paramentado com um colete de trabalho e material de registro, simulando uma observação durante 10 minutos. Este procedimento visou diminuir o efeito de novidade do procedimento de coleta de dados etológicos. Nenhum registro foi obtido sistematicamente nesta fase que durou 9 dias em sessões alternadas a cada 72 horas.

2.7 COLETA DE DADOS COMPORTAMENTAIS

Os dados comportamentais foram registrados e avaliados nas fases de pré-exposição, exposição aos tratamentos (enriquecimento, estresse e controle), na habituação ao labirinto e no teste farmacológico com buspirona.

Construiu-se um etograma (Tabela 1) que representasse comportamentos significativos quanto à reação emocional, rotinas do orçamento diário de atividades e quanto ao bem-estar de sagüis (ou comportamentos sócio-positivos: para cobaias, sensu Kaiser & Sachser, 2001), baseado na literatura ou em nossos trabalhos anteriores (por exemplo, Barros et al., 2000). O nível de mensuração foi o tempo total por sessão em que aquele comportamento ocorreu. Para efeitos de cálculo e análise estatística considerou-se as médias dos tempos absolutos por fases do estudo,

agrupando-se por grupo ou categoria quando pertinente (explicitado nas legendas das figuras e tabelas). Alguns dos comportamentos, na ausência de parâmetros fisiológicos imediatos, somente podem ser interpretados quando se conhece o contexto da ação (Maestripieri et al., 1992). Por isso, é necessário que se faça algumas considerações a respeito destes comportamentos, justificando a inclusão no etograma, a seguir

Ambulação: ou movimentar; a forma de locomoção característica de sagüis é andar aos poucos, de forma quadrupedal ou aos saltos, fazendo pequenas paradas; qualquer deambulação por mais de 1 segundo foi considerado um movimento, excetuando os comportamentos em que ocorre movimentação mas o contexto é diferente daquele de deslocamento, como por exemplo, andar arqueado (agonístico) e correr nas brincadeiras. Nestes casos prioritariamente registrava-se o tempo absoluto para o outro contexto. O movimentar pode representar uma parte do orçamento de atividades intercalado com outros comportamentos. Entretanto, estudos com primatas e outros animais, indicam que movimentar pode estar envolvido em reação emocional aversiva (reativa) ou de inquietação, dependendo do contexto (Coe et al., 1982; Costall et al., 1992; Isovich et al., 2000; Kramer et al., 1999; Laughlin et al., 1999; Smith et al., 1998). Desta forma, movimentar afetaria o orçamento de outros comportamentos relacionados às atividade reparadoras e de economia de energia. Contudo, é interessante observar que na situação de estresse, a administração de fármacos ansiogênicos reduziu a locomoção em sagüis comuns (Carey et al., 1992). Movimentação intercalada por breves pausas ou não, em rotas fixas dentro do viveiro, em seqüências invariáveis, aparentemente desprovido de função, pode ser considerado uma estereotipia; quando possível, se diferenciou esta situação do movimentar simplesmente. É interessante observar que sagüis são considerados eficientes aproveitadores de energia (Garber, 1988; Harrison & Tardif, 1994) e portanto, espera-se a alocação equilibrada no orçamento de atividades, da movimentação, no conjunto dos comportamentos, tomando como padrão as observações da linha de base.

Parar: considerando a forma de locomoção característica de sagüis, qualquer imobilidade por mais de 1 segundo, excetuando-se outros comportamentos, era

considerado uma parada, estando o sujeito em pé, sentado ou em postura bipedal. Os comportamentos em que o sujeito não se movimenta e que não é computado como parado, são o descansar, explorar, comer, a catação, escarificar, marcar, brincadeiras e ocultação na caixa-ninho. Portanto estes comportamentos quando apresentados possuem prioridade na hierarquização do presente registro etológico. O parar pode estar associado ao encolhimento (*crouching*) que é um indicativo de medo em primatas (Kalin, 1991) e comportamento defensivo em roedores (Blanchard et al., 1998a). Neste estudo não foi possível distinguir o encolhimento do parar pois a forma de locomoção e a postura de sagüis são muito parecidas com este comportamento de medo. Parar pode ter uma estreita relação com a interpretação de descansar, mas com dois diferenciais: pode ser indicativo do balanço de energia alocado pelo sujeito no elenco de comportamentos ou indicativo de uma falta de estimulação apropriada no ambiente (Schoenfeld, 1989). Neste último caso, se esperaria longos períodos de parado e uma apatia geral do sujeito.

Descansar: o sujeito permanece deitado e relaxado (pelo menos uma das pernas ou braços estendidos). Os comportamentos em que o sujeito não se movimenta e que não é computado como descansar, são o parado, explorar, comer, a catação, escarificar, marcar, brincadeiras e ocultação na caixa-ninho. Portanto estes comportamentos quando apresentados possuem prioridade na hierarquização do registro etológico. O descansar é interpretado como um sinal de bem-estar e relaxamento (Stevenson & Rylands, 1988), mas se analisado no contexto e acompanhado de sinais característicos, também pode ser indicativo de alguma patologia (neurológica, traumática, infecto-contagiosa ou parasitária).

Explorar: o indivíduo dirige o comportamento de lamber/cheirar para algum substrato, objeto, serapilheira ou em relação à outro animal. Pode ser realizado solitário ou em companhia de outro sujeito. Possui um contexto de procura por significado no ambiente (Meyer-Holzapfel, 1968) e geralmente representa um comportamento positivo de bem-estar (Schoenfeld, 1989).

Comer: o ato de comer é interpretado como significativo no repertório de comportamentos reparadores e positivos. Com exceção de compulsão, não relatado

na literatura para sagüis, comer está fora do contexto de desconforto emocional, sendo considerado um sinal de bem-estar (Carey et al., 1992; Novak & Suomi, 1988). Por outro lado, sob uma situação de conflito social, tem-se relatado que há uma inibição de comer em animais estressados (Kramer et al., 1999).

Escarificar: observado tanto em cativeiro como em ambiente natural, neste último observando-se maior freqüência de escarificações em árvores de uso gomívoro (Fonseca & Lacher, 1984). Esse comportamento se mantém em cativeiro mesmo após algumas gerações sucessivas e em substratos que não possuem exsudação. A função e o contexto deste comportamento em cativeiro são desconhecidos, mas observações pessoais preliminares com os sagüis no CPUnB sugerem uma possível atividade deslocada, contextualizada em situação de reatividade emocional. Nestas observações preliminares observamos que alguns animais apresentavam uma alta freqüência de escarificações, às vezes intercaladas com intensa movimentação e exposição de genitália; as escarificações poderiam ocorrer em qualquer substrato, incluindo partes da tela de metal do viveiro.

Autocatação: é considerado um ato reparador (higiene) e positivo, geralmente indicativo de bem-estar (em roedores: Blanchard et al., 1998b; em primatas: Flügge, 1995; Kramer et al., 1999), exceto quando sua representação pode ser muito inferior ou superior no orçamento diário em detrimento de outras atividades (Line et al., 1989). Nessas oscilações extremas a auto-catação pode ser um sinal de estresse, tanto por atividade deslocada como por apatia geral.

Alocatação: padrão muito observado em primatas, neste estudo somente se considerou no animal focal, o agente ativo da catação. A alocatação está relacionada aos comportamentos afiliativos (Boccia et al., 1989), reconciliatórios após enfrentamento (Boccia et al., 1989), reforçador de laços afetivos (Walters, 1987) e reafirmação de situação hierárquica (Walters, 1987). Portanto pode ser um comportamento apresentado em situações pós-estresse agudo mas não durante uma situação de desconforto emocional (Boccia et al., 1989); pelo contrário, a alocatação diminui o débito cardíaco em padrão semelhante a situação de repouso e sem ameaças presentes (Boccia et al., 1995). Nas observações das fases de Tratamentos,

Habituação no Labirinto e nas sessões com Droga, este comportamento não poderia ser realizado. Portanto, comparações longitudinais não foram consideradas quanto à alocatação.

Coçar: é um dos indicadores comportamentais bem estudados, que se relaciona à ansiedade em primatas (Baker & Aureli, 1997; Barros et al., 2000; Easley et al., 1987; Maestripieri et al., 1992; Maestripieri , 2000; Schino et al., 1991; Troisi et al., 1991), embora às vezes possa ser contraditório (Barros et al., 2001). O comportamento de coçar em análise longitudinal pode ser indicativo de instabilidade emocional, conflito e ansiedade (Cilia & Piper, 1991; Das et al., 1998; Troisi et al., 1991). Deve se considerar que algumas dermatopatias desencadeiam vigorosos e prolongados episódios de coçar, por isso se realizou um exame laboratorial de raspado de pele para diagnosticar dermatófitos. A presença de dermatófitos não exclui a possibilidade de reação emocional e ansiedade, pois se considera alguns fungos como saprófitos da pele de animais (Muller & Kirk, 1969). A micopatologia somente é considerada quando ocorrem lesões aparentes tais como alopecia e escaras.

Brincar: poderiam ser brincadeiras sociais ou solitárias; as sociais incluem corrida atrás do outro, saltos para cima, abraços, mordidas, embolação, rolar e esconder-se de outro (Stevenson & Rylands, 1988). Alguns destes comportamentos de brincadeiras são parecidos com comportamentos agonísticos, possuindo inclusive seqüências iguais, mas diferenciando-se fundamentalmente por não serem acompanhados de piloereção (Lipp, 1978), não terminar em injúrias, serem freqüentemente correspondidos pelo outro indivíduo interagente, não terminando em comportamentos de medo e submissão. A brincadeira solitária poderia ser rolar, tentar morder ou perseguir partes do próprio corpo, girar, saltar, corridas, esconder-se, todos os padrões aparentemente sem objetivo; pode estar envolvido em se balançar nos substratos móveis, carregar, empurrar, pular por cima e abordar/afastar de objetos quaisquer dentro do viveiro. Brincar é considerado como sinal de bem-estar (Baldwin & Baldwin, 1977; Thompson, 1996).

Marcação de cheiro: o indivíduo esfrega a região anogenital ou supra-púbica em algum substrato; pode ainda apresentar a esfregação com a região peitoral,

conhecida como marcação esternal. Embora ainda seja pouco conhecida a função, acredita-se que possa ter geralmente um contexto de comunicação intra-grupal e inter-grupal (Lazaro-Perea et al., 1999). Alternativamente, entretanto, outros estudos sugeriram um contexto de excitação geral (*C. kuhlii*: Smith et al., 1998) ou de ansiedade (*C. jacchus*: johnson et al., 1996b; *C. penicillata*: Barros et al., 2000), pois é atenuado com a administração de ansiolíticos.

Comportamentos agonísticos: incluiu-se uma série de comportamentos eliciados em situação de conflito ou competição, seja como comportamentos de defesa, de ataque ou submissão. Estes incluem vocalizações de ameaça ("ehr-ehr", "tsik-tsik"), abaixamento de tufos, piloereção generalizada, exibição genital, andar arqueado, andar com cauda arqueada na base, encarar (*slit stare*), franzir (*frown*), movimentação pendular (*sway*), advertência vocal-postural (*mobbing*), ataque, luta franca, tapas e mordidas (Carey et al., 1992; Lipp, 1978; Saltzman et al., 1994; Stevenson & Rylands, 1988). Agonísticos também incluem abordagem ou retirada com andar resoluto, com as orelhas abaixadas para trás ou orelhas bem erguidas para frente (Stevenson & Rylands, 1988).

Deve-se reconhecer que estes comportamentos agrupados como agonísticos provavelmente possuem substratos neurais distintos e contextos mais refinados (Kalin, 1991) do que a abordagem aqui realizada. Contudo, esses comportamentos defensivos e agressivos representam, no conjunto, situações de desconforto emocional, inclusive com um estudo indicando *loci* neurais no hipotálamo ventromedial (Lipp, 1978), estrutura reconhecida como crítica neste elenco de reações emocionais aversivas. Quando ocorrem reações de agonismo, na maioria das vezes acompanha um alerta e uma forte excitação, com ativação das adrenais, liberando catecolaminas e glicocorticóides. Portanto essa abordagem mais abrangente, seria bastante adequada no estudo do estresse em sagüis.

Caixa-ninho: dentro do repertório de cada espécie, o comportamento de se ocultar em ninhos ou buracos frente à algum estímulo pode ser indicativo de aversão (File et al., 1993; Blanchard et al., 1998a). Sugerimos em um outro estudo (Barros et al., 2002) testando saguis expostos à simulacros de predadores, que a proximidade com a caixa-ninho é um fator de reação de medo, pois quando oportunizado, sagüis

procuram se esconder em algum substrato para ficar fora de vista (*taking cover sensu* Lipp, 1978). Em ambiente natural observou-se que sagüis freqüentemente se escondem por entre a vegetação, atrás de troncos ou em forquilhas altas quando se sentem ameaçados (Canale et al., 2000; Stevenson & Rylands, 1988). Considerando que sagüis possuem um repertório antipredador baseado em fugir e se ocultar, mais do que enfrentar (Cheney & Wrangham, 1987), é plausível que a entrada na caixa-ninho signifique um fator de "segurança psicológica" para o sujeito. De fato, Carey et al. (1992) demonstraram que sagüis se escondem na caixa-ninho por um tempo significativo ao se deparar com a ameaça de captura ou ao ser administrado algum agente ansiogênico. Neste caso, a permanência dentro da caixa-ninho durante as observações pode ser indicativa de que a presença do observador e/ou suas manobras de observação sejam aversivas. Uma vez na caixa-ninho, considerava-se como um padrão comportamental independente do que lá dentro ocorria. Portanto, todos os outros comportamentos somente poderiam ser observáveis se os sujeitos saíssem da caixa-ninho. Na observação do animal focal, não se diferenciava se a entrada era solitária ou acompanhada. Assim como a alocatação, esta categoria não foi mensurada na fase de habituação ao labirinto nem na de teste com droga.

Outras mensurações: Sob estresse psicossocial observou-se que os animais apresentam uma diminuição do repertório comportamental (Blanchard et al., 1998a; Flügge, 1995; Meyer-Holzapfel, 1968), além de retiro social, diminuição da atividade locomotora (Mitsushima et al., 1998) e diminuição de autocatação (Flügge, 1995). O empobrecimento do ambiente também causa uma redução no repertório comportamental (Schoenfeld, 1989; Wemelsfelder et al., 2000). Por esta razão, para analisar a **diversidade comportamental**, observou-se quantos padrões de comportamentos no repertório total foram apresentados ao longo das sessões, comparando-se longitudinalmente cada grupo e os grupos entre si, em cada fase.

Quando quaisquer dos comportamentos fossem apresentados em seqüências mais ou menos fixas, repetitivas e desprovidas de função, foi interpretado como estereotipia, que é sintomático à reação emocional aversiva e de desconforto emocional prolongado (Mason, 1991a). Por outro lado, o aumento de alguns comportamentos, aparentemente descontextualizados, tidos como comportamentos deslocados, podem surgir em situações de estresse e reação emocional (Maestripieri

et al., 1992). Auto-mutilação, comportamento auto-abusivo e movimentação excessiva, indicativas de distúrbios de comportamento também foram observadas e registradas (Line et al., 1989). Foi registrada a freqüência da interação sexual com monta e cópula; como este padrão sexual tem aspectos de imobilidade mais do que outra atividade, apesar do contexto à rigor ser completamente diferente, se registrou no orçamento de atividades como "parado".

2.8. METODOLOGIA DAS OBSERVAÇÕES, MANIPULAÇÕES E DADOS FISIOLÓGICOS

2.8.1 A FASE PRÉ TRATAMENTOS

Para conhecer o comportamento e elaborar um repertório etológico dos sagüis vivendo na colônia do CPUnB, realizou-se observações dos sujeitos em seus respectivos grupos sem nenhuma manipulação experimental que não fosse a observação. Esta abordagem, exclusivamente de observação, visou analisar os sujeitos como seus próprios controles, para compará-los depois da fase de manipulações experimentais. A fase pré tratamento foi realizada para auxiliar a definir a posição social, a estabilidade das relações sociais no grupo e o temperamento de cada indivíduo. A variabilidade individual pode emergir desta abordagem. As diferenças podem ser a chave para a resposta do controle ao estresse (Sapolsky, 1993) ou para a variabilidade que conduz à comportamentos adaptativos (Box, 1990). A variação pode indicar tendências e efeitos dos tratamentos que viriam a seguir, ao nível de grupo.

Todos os procedimentos de coleta de dados foram realizados pela parte da manhã. O método de observação foi o de animal focal com registro de todas as ocorrências (Martin & Bateson, 1986), em sessões de 20 min. Na fase pré tratamentos sentava-se na frente do viveiro e registravam-se os dados até terminar o tempo. Uma vez iniciando-se a observação dos comportamentos em um determinado viveiro, todos os animais daquele viveiro eram sucessivamente observados. A ordem de observação na linha de base foi pseudoaleatória. Ao todo, na fase pré tratamentos (ver adiante), cada sujeito foi observado em 3 sessões na primeira semana, em 2

sessões na segunda, terceira e quarta semanas e 1 sessão semanal nas demais (Figura 3). Ao término da 9ª semana de observações da fase pré tratamentos, realizou-se a primeira coleta de sangue.

Por sorteio, iniciaram-se os procedimentos de pesagem, registro de temperatura timpânica, temperatura retal e coleta de sangue com os sujeitos do **grupo (E)** no 4° dia após o término das observações da fase pré tratamentos. Os sete sujeitos deste grupo, após se recuperarem da anestesia, retornavam aos seus respectivos viveiros, onde já havia sido manipulado o ambiente com o primeiro enriquecimento.

Quarenta e oito horas depois, seguindo a seqüência sorteada, foram realizados os mesmos procedimentos de coleta com os 10 sujeitos do **grupo do estresse (S)**, que após a recuperação da anestesia eram conduzidos para os viveiros empobrecidos, localizados no recinto do tratamento com os estressores. Considerou-se que esta introdução ao viveiro novo, pequeno, empobrecido, em outro recinto, separado do seu meio social original, foi o primeiro estressor deste grupo experimental. Sucessivamente, durante 19 dias, os sujeitos deste grupo foram submetidos aos estressores.

Seguindo-se 48 horas depois destes procedimentos com o grupo S, complementou-se a coleta dos seis sujeitos do **grupo controle (C)**. Após a recuperação da anestesia os sujeitos do grupo C eram reconduzidos aos seus respectivos viveiros onde já encontravam a introdução do primeiro estímulo neutro (tijolo) dentro do viveiro. Assim, sucessivamente, era introduzido e retirado o outro tijolo, por mais 19 dias. Considerou-se essa coleta de dados de peso, temperatura timpânica, temperatura retal e venopunção, como os índices da linha de base.

A biometria e a coleta de sangue marcam, por isso, o início das observações comportamentais nos tratamentos, que por sua vez foram seguidas pelas sessões de habituação ao labirinto e da sessão com droga. Em suma, durante os tratamentos (enriquecimento, estresse e controle), foram introduzidos 20 enriquecimentos, 20 manipulações de estresse e 20 procedimentos neutros, um em cada dia. Durante esse período os sujeitos foram observados em 3 sessões, no 6° dia, no 13° dia e no 20° dia (Figura 3). As sessões de observação sempre precediam as manipulações daquele dia (enriquecimento, estresse e procedimento neutro), de forma à não interferir diretamente no comportamento imediato dos animais frente à manipulação. O método de observação desta fase foi idêntico ao método da fase pré tratamentos.

No 21° dia, após ter cessado os tratamentos, iniciou-se a 2ª coleta (peso, sangue e temperaturas) dos sujeitos, entre 7h e 10h, a cada 72 h para cada grupo. As sessões de observação na habituação ao labirinto e nas sessões droga ocorreram à cada 72 horas, à partir desta 2ª biometria, seguindo-se aquela ordem dos grupos sorteada previamente. Este intervalo de tempo (72h) foi importante porque permitia um período suficiente para a recuperação das manipulações, tanto do comportamento quanto dos GCs (Abbott et al., 1998; Bahr et al., 2000) além de ser um tempo adequado para a depuração da droga (Barros et al., 2001).

Para cada grupo foram realizadas 7 sessões de habituação ao labirinto, tempo determinado por Barros et al. (2000) como suficiente para que haja uma habituação ao labirinto na situação de exploração livre. Após a habituação, seguiram-se quatro sessões de teste com a droga e exposição ao predador, cada sessão referente à uma dose ou condição salina.

Na fase de habituação ao labirinto, o procedimento seguiu a seguinte seqüência: previamente cada sujeito foi capturado e contido em uma caixa metálica de transporte para pequenos animais (medindo 30 cm de altura, 30 cm de largura e 40 cm de fundo), em seu próprio viveiro ou gaiola, durante 30 minutos; a caixa permanecia depositada no chão à espera do transporte até o labirinto. Logo após, era transportado para o labirinto e, encostando a caixa de transporte à guilhotina de entrada do labirinto, deixava-se o sujeito adentrar espontaneamente ao labirinto. A seguir era observado durante 20 min. Na fase de experimentação com droga, o procedimento era idêntico ao do labirinto, mas ao ser contido para introdução na caixa de transporte, era aplicada a droga ou a salina no sujeito, conforme o protocolo. As injeções foram subcutâneas, aplicada sempre pelo mesmo experimentador (este autor) e as observações foram realizadas por um observador que desconhecia a dosagem da droga.

Todas as observações ocorreram sempre pela parte da manhã, tão cedo quanto 7h e no máximo se encerravam às 13 h. As sessões foram filmadas para reavaliação dos comportamentos, com registro simultâneo dos dados etológicos por um observador experiente, em qualquer uma das fases, utilizando um mini computador portátil AeroContura, Compaq 486. O programa Prostcom (Conde et al., 2000) foi utilizado para a coleta e a análise parcial dos dados.

2.8.2 ENRIQUECIMENTO

Três grupos (n=6) receberam diariamente inovações dentro do viveiro, algumas de forma permanente e outras efêmeras (Tabela 3). Os enriquecedores foram introduzidos de forma discreta, procurando não despertar excitação dos animais relacionada à presença do experimentador. Quando foi necessário adentrar o viveiro, este era feito com cautela e movimentos calculados. Em qualquer momento, evitava-se olhar diretamente para os animais, devido à reação emocional de medo que poderia estimular (Kalin, 1997). As inovações seguiram dados da literatura (Crepeau & Newman, 1991) e as condições descritas em Boere (2001): apresentando-se estímulos para a manifestação do repertório comportamental próprio da espécie, atrair a curiosidade, manter a segurança para os animais, segurança para os tratadores e com sanidade.

2.8.3 ESTRESSE

Devido à condição de estresse, que causa sofrimento psicológico, esperava-se utilizar o menor número possível de sujeitos. Os 10 sujeitos do grupo (S) foram isolados em uma dependência afastada do pavilhão onde estavam anteriormente, e alojados individualmente em 10 gaiolas medindo 1 m de altura x 0,5 m de fundo x 0,7 m de frente. As gaiolas distavam 40 cm uma das outras. Dentro de cada gaiola havia uma caixa-ninho colocada em um dos cantos superiores, dois poleiros de madeira, uma vasilha de alimentação e um bebedouro de fluxo contínuo. As gaiolas foram envoltas com plástico opaco, de tal maneira que no período de atividade havia luminosidade mas os sujeitos não poderiam visualizar o meio externo e nem os outros animais alojados neste recinto. A cortina plástica não impediu a ventilação e a luminosidade foi indireta.

A condição essencial para que eventos causem estresse psicológico se baseia na imprevisibilidade, falta de controle e na novidade (Sapolsky, 1993). Ademais, uma seqüência de eventos imprevisíveis, durante mais de duas semanas, pode causar profundas alterações relacionadas ao estresse, acarretando um quadro de depressão-símile (López et al., 1998). Alguns estudos utilizaram este paradigma de imprevisibilidade, denominado de estresse imprevisível crônico (**EIC**) em ratos, para estudar os efeitos do estresse, alterações no eixo HPA, vias serotonérgicas e drogas anti-depressivas (López et al., 1998). O EIC produz uma elevação persistente e

robusta de glicocorticóides em ratos (López et al., 1998) Este método parece ser adequado para uma espécie resistente aos GCs como *Callithrix penicillata*, supostamente refratária aos efeitos de estresse leve e sub-crônico. Por isso, optou-se por uma seqüência de apresentações diárias de estressores, alguns adaptados da literatura (ver por exemplo Blanchard et al., 1998b; Carey et al., 1992; Clarke, 1991; Crepeau & Newman, 1991; French & Inglett, 1991; Kalin, 1991, 1993; Reinhardt, 1991) e outros de observações conduzidas anteriormente em um estudo piloto com outros sujeitos da colônia de sagüis do CPUnB (Tabela 4).

As apresentações dos estressores foram breves, quase todos com duração de 1 minuto, e imprevisíveis (em horários variados). Um minuto é um intervalo de tempo considerado suficiente para produzir estresse (ver por exemplo Bercovitch et al., 1995). Com exceção de "despertar forçado", a apresentação consistia em se levantar o plástico que envolvia as gaiolas, e expor, a seguir, o estressor programado. Passada a exposição do estressor, baixava-se o plástico e se dirigia para uma outra gaiola, realizando-se o mesmo procedimento. Com exceção do procedimento "despertar forçado", cujo horário foi pré-determinado, a hora do dia, a ordem das gaiolas e de apresentações dos estressores foram aleatórias, dentro do período de atividade dos sagüis (entre 6 h e 18 h).

Com estes procedimentos, que são de extrema dureza para o controle do ambiente e a vida social de sagüis, esperava-se uma resposta acentuada ao estresse. De fato, supunha-se que a resistência aos glicocorticóides pudesse fornecer uma certa resistência às condições adversas do estresse, e que apenas manipulações psicológicas tradicionais, como aquelas utilizadas com outras espécies de primatas catarrinos, não induziriam com facilidade uma resposta observável ao estresse em sagüi. Neste modelo que desenvolvemos, não há uma configuração do estresse induzido por drogas (ansiogênicas, por exemplo), nem testes de punição-conflito e nem uma seqüência de frustrações/estimulações aversivas (Martin, 1998).

2.8.4 CONTROLE

Os sujeitos do grupo controle, receberam diariamente um estímulo neutro, ou seja, um tijolo compacto colocado discretamente em um dos cantos do viveiro. O estímulo neutro era trocado diariamente, no mesmo local e sempre pela manhã. Um dos observadores realizava a troca de uma maneira rápida e discreta. Para evitar que

marcações e odores de outros animais pertencentes a outro grupo experimental interferisse, cada viveiro era manipulado com um mesmo par de tijolos. Os sujeitos foram observados nas mesmas condições da linha de base, mas em 3 sessões ao longo deste tratamento, conforme já relatado.

2.8.5 FASE DE HABITUAÇÃO AO LABIRINTO

Três dias após a segunda coleta de sangue e biometria (ocorrida no 24° dia após a 1ª biometria), iniciou-se a fase de habituação ao L8, com sessões de exploração livre. Basicamente, o labirinto consiste de condutos de metal quadrados, dispostos entre si em ângulos de 90°, formando um retângulo com um braço adicional no meio, quando visualizados de cima. Os braços do labirinto medem 103 cm x 125 cm. A forma geral é de um oito. O aparato encontra-se suspenso em uma parede de tal maneira que 1/3 localiza-se de um lado (denominado anterior) e os outros 2/3 do outro lado (denominado posterior). A parede serve como uma barreira visual e possui 8 cm de largura, por 147 cm de comprimento e 218 cm de altura. As laterais no terço anterior, são constituídas de tela firme de metal (malha de 2,5 cm^2), assim como todo o piso do aparato. No terço anterior, há uma abertura, com uma porta do tipo guilhotina, por onde o sujeito é introduzido e retirado. Nos 2/3 restantes, o piso continua sendo de tela mas as laterais são de vidro. Cobrindo todo o aparato há também tela da mesma malha que o piso. Em cada lado da barreira visual existem câmeras de filmagens.

As observações eram realizadas através de um vidro (1 m de largura x 1,5 m de altura), com visão unidirecional, em uma sala contígua ao local onde estavam os 2/3 posteriores do labirinto. Em torno do local onde se encontrava o labirinto, proteções laterais obliteravam estímulos visuais externos.

No dia do procedimento, seguindo uma seqüência pseudoaleatória pré-determinada, o tratador adentrava ao viveiro, capturava rapidamente com um puçá um dos sujeitos e colocava-o em uma gaiola de transporte (medindo 20 cm de atura x 20 cm de largura x 30 cm de fundos), onde permanecia por mais 30 minutos dentro do viveiro. Após, o sujeito era conduzido até o labirinto, com a gaiola vedada para evitar estimulações suplementares.

Por uma porta tipo guilhotina, o sujeito era introduzido no labirinto com livre exploração em seu interior. A partir de então, durante 20 min, o sujeito era observado

em uma sala contígua ao labirinto, através de um vidro unidirecional. Simultaneamente o sujeito era filmado por duas câmeras de vídeo, cada uma situada na parte anterior e posterior do labirinto. Terminado este período, abria-se a guilhotina e esperava-se por 120 s para a saída espontânea do sujeito. A partir da 5ª sessão de habituação ao labirinto, registrou-se o **número de erros de saída** (quando a latência era máxima) e **latência de saída espontânea**, dois índices de facilitação no aprendizado, em relação à rota de escape e saída de dentro do labirinto. Quando a saída não se realizava dentro do tempo máximo permitido, um dos observadores adentrava ao recinto e gentilmente estimulava o sujeito a sair para o recinto onde se localizava a porção anterior do labirinto. Após a saída o sujeito era reconduzido ao seu respectivo viveiro.

Assim como relatado por Barros et al. (2000), na exploração livre analisou-se a **preferência por lugar** nos quadrados dentro do labirinto. Para isso computou-se o tempo absoluto em que cada quadrado era ocupado por cada sujeito por sessão. Os comportamentos observados nesta fase foram selecionados para que permitissem uma interpretação sobre a atividade (movimentar, descansar) e reação emocional (explorar, marcação, agonismo e coçar). Importante notar que estes comportamentos podem ser indicativos tanto de reatividade defensiva como de nível de atividade geral, como movimentar, por exemplo. O tempo computado para efeitos estatísticos refere-se às médias calculadas para cada grupo nos tratamentos. Nesta fase se explorou a evolução da habituação, comparando os grupos em cada sessão de observações.

Na análise dos **efeitos da droga** realizou-se uma abordagem apenas para comportamentos selecionados, significativos de ansiedade e medo, como descrito por Barros et al. (2000, 2001): movimentar, coçar, marcação e exploração. Observou-se ainda o posicionamento do sujeito em relação ao predador empalhado. Neste caso, considerou-se que a permanência média dos sujeitos de cada grupo experimental no quadrante mais próximo do predador, foi a máxima proximidade, comparada com os outros quadrantes.

2.8.6 TESTE COM A BUSPIRONA

Nesta fase, logo após a captura em seu próprio viveiro, antecedendo a introdução na caixa de transporte, o sujeito era injetado com buspirona diluída em

solução salina, via subcutânea. As concentrações utilizadas foram: 0,1 mg/Kg, 0,5 mg/Kg, 1mg/Kg e salina, em volume igual a 1 ml por Kg, em seqüência pseudo-aleatória. Previamente, colocava-se um gato-do-mato (*Felis tigrina*) empalhado em um dos cantos externos do labirinto, opostos ao braço de entrada; o simulacro permanecia à altura do labirinto e no canto escolhido aleatoriamente para cada sessão.

Decorridos 30 minutos na caixa de transporte, o sujeito era introduzido no labirinto e realizava-se a observação por mais 20 minutos, de acordo com a metodologia descrita na fase de habituação e exploração livre.

2.9 ÍNDICES FISIOLÓGICOS DE ESTRESSE E BEM ESTAR

2.9.1 CORTISOL

As coletas ocorreram para cada grupo ao final da fase pré tratamentos e ao término dos tratamentos (E, S e C). Para dosar cortisol, aproveitou-se a amostra sangüínea para dosificação metabólica. Como será mencionado adiante, as venopunções foram realizadas pela parte da manhã visando reduzir o efeito circadiano dos níveis de cortisol plasmático.

A indução anestésica por cloridrato de quetamina não parece alterar os níveis de GCs induzidos pelo estresse da contenção em primatas, sendo mais próximo do basal, quanto mais rápida for a venopunção após a indução anestésica (Fuller et al., 1984). De fato, relato na literatura sobre macacos rhesus, indica que a anestesia com cloridrato de quetamina (8 mg/Kg, intramuscular) somente induziu um aumento significativo após 30 minutos da indução (Fuller et al., 1984). Portanto as dosagens de cortisol expressas neste estudo, devido ao método de contenção e ao tempo de indução anestésica até a venopunção, podem estar mais relacionadas à resposta de cada grupo experimental ao estresse agudo (da contenção) do que os níveis basais. Assim, deve-se considerar neste estudo que os valores médios expressam a dinâmica dos GCs na resposta emocional frente a um estressor agudo (contenção). Este paradigma de contenção é utilizado em outros estudos para avaliar a RE (p.ex. Conrad et al., 1999; Gregory & Schmid, 2001; O'Rilley & Wingfield, 2001).

O ensaio para dosagem de cortisol foi realizado com conjuntos de reagentes para radioimunoensaio – marca CORT-CT2 (CIS Bio International, França). A

preparação dos reagentes e a leitura foram realizadas pelo Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Francisco Neves, Prof. Dr. Ralph Ribeiro e com a colaboração do Farmacêutico e Bioquímico, Roberto Carlos Rocha de Moura.

Os valores expressos na representação das dosagens de cortisol, referem-se à média entre os valores encontrados em cada ensaio duplicado, considerando-se como referencial uma curva padrão previamente determinada. Uma curva padrão foi elaborada para cada dia de ensaio. Como a concentração de cortisol é alta em sagüis, as amostras foram diluídas para que a mensuração da concentração estivesse dentro do padrão e sob uma área de confiança abaixo da curva. As médias finais dos níveis de cortisol, referem-se ás médias de cada ensaio e replicação, devidamente corrigidas pelo índice de diluição.

2.9.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS VENOPUNÇÕES

Como a manipulação prévia de sujeitos experimentais pode modificar a resposta comportamental e parâmetros neuroendócrinos (por exemplo, Morato & Brandão, 1996), se faz necessário uma descrição mais pormenorizada do procedimento de contenção e coleta de amostras fisiológicas.

Ocorreram duas venopunções, uma logo após o término das observações da linha de base e outra logo após o término dos tratamentos (antes da sessão de habituação ao labirinto) (Figura 3). As venopunções foram realizadas pela manhã, entre 7:00 h e 10:00 h. O grupo de cada tratamento a ser manipulado seguiu a seqüência previamente escolhida e em sucessão. A ordem dos indivíduos para venopunção foi pseudoaleatória, entretanto uma vez que um dos sujeitos de um determinado viveiro fosse manipulado, todos os sujeitos naquele viveiro seriam manipulados sucessivamente.

A venopunção para o hemograma completo e a bioquímica sanguínea foi realizada em tempo curto: (Média $\pm$ Erro Padrão) de 41,28 $\pm$ 28,28 s na primeira biometria, e média de 58,5 $\pm$ 40,9 s na segunda biometria. Não ocorreram diferenças estatísticas quanto aos tempos de captura ($p \leq 0,091$).

Para a venopunção os sujeitos foram capturados com um puçá, contidos em seus respectivos viveiros e seguros firmemente pela mão, para a mensuração da temperatura timpânica e retal, duas vezes cada, em sucessão. Logo após, aplicava-se

a anestesia com cloridrato de quetamina (10 mg/Kg, i. m.; Vetaset, Baton Rouge, Estados Unidos da América), sendo introduzidos em uma pequena gaiola de transporte, onde se aguardava o efeito da anestesia (entre 1 a 3 minutos). Este anestésico, além de seguro e efetivo, não interfere com a curva de cortisol plasmático em primatas (Puri et al., 1981).

A seguir os indivíduos eram conduzidos para uma mesa de contenção situada em uma sala adjacente ao pavilhão de criação. Na venopunção seguiu-se os procedimentos padrões com assepsia e uso de seringas descartáveis de tuberculina de 1cc.

O material coletado era depositado em 2 tubos, um contendo EDTA (ácido edético) e outro contendo heparina (para hemograma e bioquímica sangüínea respectivamente); conservado em ambiente refrigerado (caixa de isopor com gelo) e levado para processamento em laboratório. No Laboratório Integrado do Departamento de Ciências Fisiológicas da UnB, as amostras foram centrifugadas (5000 rpm durante 10 minutos), colocadas em frascos e congelados à -20° C.

2.9.3 HEMOGRAMA COMPLETO

No hemograma realizou-se a contagem de hemácias, leucócitos totais e subpopulações de leucócitos, antes e após os tratamentos. Na série branca, mensurou-se as concentrações de linfócitos, monócitos, eosinófilos e segmentados. A contagem após a fase pré tratamentos foi realizada pelo Laboratório Veterinário ArtDog (Brasília, DF), por meio de um contador automático de células sangüíneas para veterinária (CC 550, Celm, São Paulo), sob a responsabilidade e colaboração da Dra. Médica Veterinária Denize Salgado. O hemograma completo após os tratamentos foi realizado no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da UnB, utilizando um contador automático para células sangüíneas para veterinária (CC 550, Celm, São Paulo), sob a responsabilidade e colaboração da Profa. Dra. Médica Veterinária Giane Regina Paludo.

2.9.4 GLICEMIA

Desde que o estresse age no metabolismo intermediário alterando a glicemia, regula a sensibilidade à insulina e fragiliza os neurônios em estados hipoglicêmicos (Tajima et al., 1996; Yusim et al., 2000), verificou-se a resposta glicêmica na

contenção logo após a fase pré tratamentos e ao término da fase experimental dos tratamentos. A glicemia foi mensurada através de um ensaio colorimétrico, usando-se um conjunto de reagentes comerciais (Glucox 500, Doles Ltda., Goiânia), empregando o método da glicose hexoquinase (Pagana, 1992). Basicamente, o método pode ser descrito como:

$$\text{Glicose} + O_2 + H_2O \Rightarrow \text{GOD} \Rightarrow \text{Ácido glucônico} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + 4\ \text{AAP} \Rightarrow \text{POD} \Rightarrow \text{4- Antipirilquinomina} + 4H_2O$$

A oxidação da 4-aminoantipirina se torna avermelhada e sua intensidade é proporcional à concentração de glicose. Usou-se um aparelho espectrofotômetro Shimadzu UV-1201(Japão), com leituras na faixa de 510 nm tanto para as leituras de absorvância dos padrões, como das amostras e brancos. As amostras foram lidas em duplicatas ou triplicatas.

2.9.5 ÍNDICE BIOMÉTRICO

Neste estudo, avaliou-se o peso dos sujeitos como uma medida adicional de estabilidade da condição orgânica ou emocional frente aos tratamentos. Por isso pesou-se os animais na biometria antes e após a introdução aos tratamentos. Utilizou-se uma balança para recém-nascidos (Welmy, Ind. Comércio Ltda, São Paulo), devidamente aferida.

2.9.6 TEMPERATURA TIMPÂNICA E RETAL

Partindo do pressuposto de que a medida da temperatura timpânica pode indicar maior ativação em um dos hemisférios cerebrais, investigou-se a possível ocorrência desta predominância e se os tratamentos alteraram as temperaturas timpânicas de cada lado do cérebro. Adicionalmente, a temperatura timpânica ou retal fornece um índice de atividade metabólica regional ou corporal.

As coletas foram realizadas no período da manhã, entre 7:00 h e 10:00 h. Três experimentadores estavam presentes, sendo que cada um deles realizava um dos procedimentos (captura, manipulação do aparelho e anotação de dados). Os animais foram capturados com um puçá e contidos firmemente com as mãos. Imediatamente

a temperatura foi mensurada através de um termômetro timpânico digital (ThermoScan, Braun, Alemanha) por duas vezes em cada ouvido (direito e esquerdo), alternadamente, para cada sujeito.

Em seguida, com um termômetro digital clínico (Normo, Porto Alegre, Brasil), mensurou-se a temperatura retal por duas vezes consecutivas. Registrou-se ainda a duração e a ordem da captura. A ordem de captura e mensuração foi ao acaso dentro de cada conjunto de animais em seus respectivos tratamentos. Cada conjunto de animais em seus respectivos tratamentos foi mensurado em um dia, não coincidindo com os dias de mensurações de outro conjunto.

Tabela 2: Nome dos sujeitos experimentais, faixa etária, sexo, grupo original, origem do animal e obituário. Considera-se juvenil entre 5 e 12 meses e adulto à partir de um ano (Boere, 1994); Cativeiro privado significa que é uma doação de criação particular e autorizada pelo IBAMA. Origem incerta significa que o sujeito foi doado ou apreendido pelo IBAMA, originalmente fazendo parte do estoque excedente do Jardim Zoológico de Brasília.

Sujeito	Idade	Sexo	Viveiro*	Grupo Experimental	Origem	Observação
Zeu	adulto	macho	3	Enriquecido	CPUnB	
Gov	adulto	fêmea	3	Enriquecido	CPUnB	
Mia	adulto	fêmea	3	Enriquecido	CPUnB	
Cas	adulto	macho	6	Enriquecido	Incerta	
Leo	adulto	macho	6	Enriquecido	Incerta	
Bac	juvenil	macho	9	Enriquecido	Incerta	
Bob	juvenil	macho	9	Enriquecido	Incerta	
Bet	juvenil	macho	9	Estresse	Incerta	
Zel	adulto	macho	17	Estresse	Incerta	
Mag	adulto	fêmea	17	Estresse	Cativeiro privado	
Val	juvenil	fêmea	22	Estresse	CPUnB	
Fei	juvenil	fêmea	21	Estresse	CPUnB	Óbito em14/11/2000
Iso	adulto	fêmea	18	Estresse	Incerta	Óbito em 20/11/2000
Juv	adulto	macho	18	Estresse	Incerta	
Xex	adulto	macho	5	Estresse	Incerta	
Sul	adulto	fêmea	5	Estresse	Incerta	
Gre	adulto	fêmea	7	Estresse	Incerta	
Chi	juvenil	macho	7	Controle	Cativeiro privado	
Cho	juvenil	macho	7	Controle	Cativeiro privado	
San	adulto	macho	4	Controle	Cativeiro privado	
Dal	adulto	fêmea	4	Controle	Cativeiro privado	Óbito em 7/11/2000
Lat	adulto	macho	23	Controle	CPUnB	
Lic	adulto	fêmea	23	Controle	CPUnB	
Lec	adulto	macho	23	Controle	CPUnB	

* refere-se aos viveiros originais; durante o tratamento de estresse, os sujeitos foram transferidos para o isolamento.

Tabela 3: Elementos enriquecedores utilizados no experimento com saguis. Cada manipulação corresponde a um dia.

Nome	Código	Descrição	Hora
Recolocação	1° dia	Após a biometria, os sujeitos são recolocados em seus respectivos viveiros de origem, acrescentando uma plataforma de sol e dois poleiros em altura média	11h -12h
Tubo de pvc	E1	Colocação de um tubo de PVC (100 mm), curto (30 cm) pendurado no teto, à 40 cm	11h -12h
Corda	E3	Adição de um corda de sisal, pendurada no teto, até o solo	10h – 11h
Diversidade de alimentos	E4	Colocação no recipiente plástico transparente, diminutas quantidades de ameixa escura e kiwi, picados	11h –12h
Tenébrios	E2	Colocação de um pequeno recipiente plástico transparente (prato de alpiste para pássaros) pelo lado de fora, colocando à seguir 5 tenébrios por sujeito	11h - 12h
Móbile	E5	Colocado um móbile de madeira, pequeno, no teto	11h –12h
Bastão de periquito	E6	Colocado um bastão de alimento para periquito(Trill, Waltham, Effem, Eldorado do Sul, RS), pendurado no teto do viveiro	9h – 10h
Aparato de exploração	E7	Colocado no chão, uma garrafa PET de 600 ml, solta, transparente, sem a tampa, com 5 larvas de tenébrios por sujeito no interior	9h – 10h
Rearranjo de poleiros	E8	Rearranjo dos 2 poleiros médios para maior altura, assim como da posição do tubo de pvc	10h – 11h
Pescaria	E9	Garrafas PET de refrigerante (600 ml), vazadas na lateral com uma pequena janela, afixada ao viveiro pela tela, lado de fora; coloca-se água e 2 alevinos por sujeito no viveiro	10h –11h
Diversidade de alimentos	E10	Colocação no recipiente plástico transparente, de diminutas quantidades de pêra e nêspera picadas	8h – 9h
Tubos de papel	E11	Colocação de 4 tubos de papelão, para enrolar papel alumínio, no solo	11h – 12h
Diversidade de alimentos	E12	Colocação no recipiente plástico transparente, diminutas quantidades de gelatina picada	8h – 9h
Catação de tenébrios	E13	Colocação no recipiente (pequena bandeja de papel), de 5 tenébrios por sjeito, escondidos por folhas secas	11h – 12h
Ninho de passarinho	E14	Colocação em um ninho de pássaro comercial, em posição alta na grade adjacente ao corredor, com 3 ovos de codorna cozidos, não descascados	10h –11h
Barra de papagaio	E15	Colocação de uma barra de alimentos para papagaio (Trill, Waltham, Effem, Eldorado do Sul, RS), pendurada no teto	11h – 12h
Cana	E16	Uma vara de cana de açúcar, descascada, pendurada no teto	11h – 12h
Rearranjo	E17	Rearranjo dos poleiros altos para altura média (1) e em outra posição (1); modificar a posição do tubo de pvc	8h – 9h
Ninho de passarinho	E18	Repete E14	9h e 10 h
Bambu de goma ("gum-tree")	E19	Um pedaço de bambu oco, com mel dentro, tampado e na vertical, imitando uma árvore de goma	11h – 12h

Tabela 4: Estressores e horários das manipulações utilizadas no experimento com saguis. Cada manipulação corresponde a um dia. Os estressores foram em sucessão, durante 20 dias.

Nome	Código	Descrição	Observação
Recolocação	1° dia	Após a biometria, ainda sob a anestesia com quetamina, o sujeito é colocado isolado, no recinto de estresse, em uma gaiola, com água, alimento, 2 poleiros paralelos, em altura média. Uma cortina plástica envolvendo todo o viveiro, evitou contato visual e estímulos exteriores	11h
Luvas	S1	Exposição do par de luvas de contenção, sobre uma plataforma, próximo 20 cm da face frontal do viveiro,	14h -15h
Jaleco	S2	Exposição de um jaleco armado na espalda de uma cadeira, próximo 20 cm da face frontal do viveiro,	10h - 11h
Pessoa estranha	S3	Pessoa estranha se coloca à vista do sujeito, na parte frontal do viveiro, mirando-o fixamente, nos olhos	16h - 17h
Despertar forçado	S4	Despertar os sujeitos em hora avançada da noite (22 h), ao ligar a luz e deixar deste modo por 10 minutos	22h - 23h
Lona	S5	Colocação de uma lona preta, por cima do viveiro do sujeito, durante 1 min	12h - 13 h
Puçá	S6	Expor o puçá de captura á frente do viveiro	10h - 11h
Despertador	S7	Sobre uma plataforma com visão possível pelo sujeito, próximo 20 cm da face frontal do viveiro, exposição de um despertador programado para despertar em 1 min; esperar o término do alarme e retirar à seguir	12h - 13h
Arrastamento	S8	Arrastar o viveiro do sujeito durante 1 min, recolocando-o no lugar original após	10h - 11h
Batidas	S9	Batidas na janela e porta do recinto durante 1 min	12h - 13 h
Lanterna	S10	Com uma lanterna ligada, introdução por entre a cortina, o foco em direção ao sujeito	10h - 11 h
Velas	S11	Exposição em um banco, colocado à 50 cm do viveiro, uma bandeja com velas acesas	12h - 13h
Pessoa com jaleco	S12	Expor uma pessoa estranha vestida com o jaleco	12h - 13h
Luvas	S13	Repetir S1	12h - 13h
Pessoa estranha	S14	Pessoa estranha se colocada à vista do sujeito, na parte frontal do viveiro, mirando-o fixamente, tanto mais nos olhos quanto possível	18h - 19 h
Puçá	S15	Repetir S6	13h - 14 h
Arrastamento	S16	Repetir S8	14h - 15 h
Logro	S17	Simulação da colocação da alimentação no horário habitual, com o mesmo "ritual", mas com o vasilhame vazio; após 20 minutos, realizar a troca por vasilhames cheios	7h - 8 h
Velas	S18	Repetir S11	6h - 7h
Arrastamento	S19	Repetir S18	11h - 12 h

1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana	6ª semana	7ª semana	8ª semana	9ª semana
▲▲▲	▲▲	▲▲	▲▲	▲	▲	▲	▲	▲
✦✦✦	✦✦	✦✦	✦✦	✦	✦	✦	✦	✦
✻✻✻	✻✻	✻✻	✻✻	✻	✻	✻	✻	✻

9 semanas - (linha de base) ▲✦✻	1º ao 3º dia - sem manipulação	4º dia - 1º biometria ▲	5º dia - sem manipulação	6º dia - 1ª biometria ✦ /início do enriquecimento	7º dia - sem manipulação	8º dia - 1º biometria ✻ / início do estresse
9º dia - sem manipulação	10º dia - inicio do procedimento controle/ 1ª observação de ▲	11º dia - sem observação	12º dia - 1ª observação de ✦	13º dia - sem observação	14º dia - 1ª observação de ✻	15º dia - sem observação
16º dia - sem observação	17º dia - 2ª observação de ▲	18º dia - sem observação	19º dia - 2ª observação de ✦	20º dia - sem observação	21º dia - 2ª observação de ✻	22º dia - sem observação
23º dia - sem observação	24º dia - 3ª observação/ término do tratamento de ▲/ coleta de urina ▲	25º dia - coleta de urina ▲	26º dia - 3ª observação/ **término do tratamento de ✦/ coleta de urina ▲✦**	27º dia - coleta de urina ✦/ 2ª biometria de▲	28º dia - 3ª observação/ término do tratamento de ✻/ coleta de urina ✦✻	29º dia - coleta de urina ✻/ 2ª biometria de ✦
30º dia - coleta de urina ✻/ 1º labirinto livre ▲	31º dia - 2ª biometria de ✻	32º dia - 1º labirinto livre ✦	33º dia - 2º labirinto livre ▲	34º dia - 1º labirinto livre ✻	35º dia - 2º labirinto livre✦	36º dia - 3º labirinto livre▲
37º dia - 2º labirinto livre ✻	38º dia - 3º labirinto livre ✦	39º dia - 4º labirinto livre▲	40º dia - 3º labirinto livre ✻	41º dia - 4º labirinto livre ✦	42º dia - 5º labirinto livre▲	43º dia - 4º labirinto livre ✻
44º dia - 5º labirinto livre ✦	45º dia - 6º labirinto livre ▲	46º dia - 5º labirinto livre ✻	47º dia - 6º labirinto livre ✦	48º dia - 7º labirinto livre ▲	49º dia - 6º labirinto livre ✻	50º dia - 7º labirinto livre ✦
51º dia - 1ª sessão droga ▲	52º dia - 7º labirinto livre ✻	53º dia - 1ª sessão droga ✦	54º dia - 2ª sessão droga ▲	55º dia - 1ª sessão droga ✻	56º dia - 2ª sessão droga ✦	57º dia - 3ª sessão droga ▲
58º dia - 2ª sessão droga ✻	59º dia - 3ª sessão droga✦	60º dia - 4ª sessão droga ▲	61º dia - 3ª sessão droga ✻	62º dia - 4ª sessão droga ✦	63º dia - sem manipulação	64º dia - 4ª sessão droga ✻

Figura 3: Curso temporal do experimento. Legenda: cada símbolo representa uma sessão; ▲ grupo do enriquecimento; ✦o grupo do estresse; ✻ grupo controle.

III. RESULTADOS

3.1 COMPARAÇÃO DO COMPORTAMENTO ENTRE OS GRUPOS NA FASE PRÉ E NOS TRATAMENTOS

3.1.1 FASE PRÉ-TRATAMENTO

Na fase pré, os grupos se mostraram significativamente diferentes apenas no comportamento de escarificar (X^2= 7,71 gl= 2, p=0,021). Esta diferença foi observada do grupo enriquecido (**E**) em relação ao grupo controle (**C**) (n_C= 6, n_E= 7, U = 4,0, p=0,015) e ao grupo estresse (**S**) (n_E= 7, n_S= 8, U = 8,0, p=0,021). Entre o grupo controle e o grupo estresse não ocorreram diferenças significativas (n_C= 6, n_S= 8, U = 19,5, p=0,57). Em relação aos outros comportamentos, não se observou diferença significativa entre os três grupos experimentais (Tabela 5). As médias, desvio padrão (±DP) e o tamanho da amostra (N), estão nos Anexos 1 (grupo controle), 2 (grupo enriquecido) e 3 (grupo estresse).

3.1.2 FASE DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS E CONTROLE

É importante notar que a alocatação não poderia ser realizada no grupo estresse, na fase do tratamento, quando houve o isolamento. A alocatação é um índice de comportamento afiliativo, mas devido à sua baixa manifestação na fase pré e à impossibilidade de verificar diferenças ao longo dos tratamentos, não se procedeu a análise deste comportamento.

Levando em consideração a diversidade do comportamento e o arrazoado acima, realizou-se a comparação entre os grupos, verificando possíveis efeitos dos tratamentos, pelos deltas, isto é, a diferença calculada dos índices da fase pós pelos índices da fase pré.

Os grupos diferiram significativamente nos comportamentos de ambulação (ANOVA, gl=2, F=6,45, p=0,008), parado (gl=2, F=10,0, p=0,001), descansar (gl=2, F=3,93, p=0,038), explorar (gl=2, F=3,304, p=0,05), comer (gl=2, F=4,85, p=0,021), auto-catação (gl=2, F=6,92, p=0,006) e caixa-ninho (gl=2, F=30,83, p=0,0001).

Em um teste *post hoc* Tukey, comparando grupo *versus* grupo, observou-se que o grupo controle e o grupo enriquecido se diferenciaram nas alterações de comer e autocatação (Figura 5). O grupo controle reduziu o tempo médio de comer (-3,31±28,26 s), mas a redução do grupo enriquecido (-87,78±14,29 s) foi significativamente maior (p=0,039). O grupo controle diminuiu a autocatação (-2,24±1,72 s) em contraste com o aumento significativo (12,09±5,58 s) da autocatação do grupo enriquecido (p=0,037).

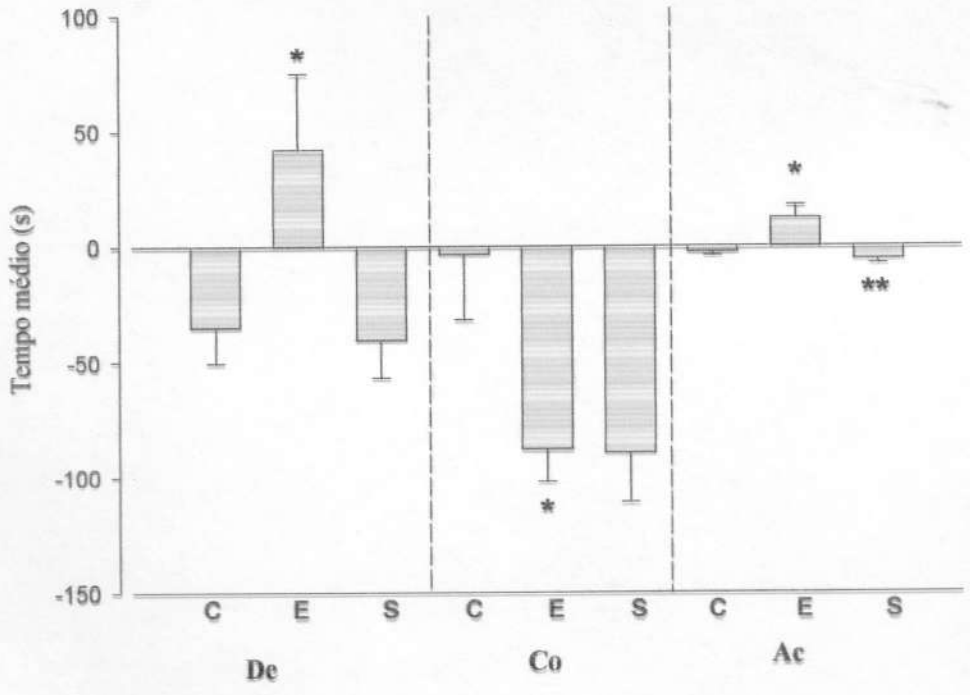


Figura 5: Comparação entre as diferenças do comportamento de descansar (De), comer (Co) e auto catação (Ac), entre a fase pós e pré, dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S). De: * E *vs.* S, p=0,048. Co: *C *vs.* E p=0,039. Ac: *C *vs.* E, p=0,037; **E *vs.* S, p=0,006).

Tabela 5: Teste Kruskal-Wallis para a comparação das médias (tempos absolutos) comportamentais dos grupos experimentais (C, E e S), qui-quadrado (X^2), graus de liberdade (gl) e nível de significância (p), na fase pré tratamentos.

	Ambulação	Parar	Descansar	Explorar	Comer	Auto catação	Alocatação	Coçar	Marcar	Brincar	Agonismo	Caixa ninho
X^2	,358	1,344	1,297	3,318	,068	,856	5,312	2,462	1,264	2,792	,894	5,074
gl	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
p	,836	,511	,523	,190	,966	,652	,070	,292	,531	,248	,639	,079

O grupo controle e o grupo enriquecido se diferenciaram do grupo estresse nas alterações ocorridas na fase pós (Figura 6), nos comportamentos de ambulação (C= 13,61±29,64 s; E= -7,23±13,27 s; S=-83,14±18,29 s; C *vs.* S, p=0,01; E *vs.* S, p=0,036), parar (C= -39,54±109,94 s; E= -94,8±75,41 s; S= -560,41±92,74 s; C *vs.* S, p=0,003; E *vs.* S, p=0,005) e caixa-ninho (C= 40,08±73,85 s; E= -2,05±1,27 s; S= -867,34±125,52 s; C *vs.* S, p=0,0001; E *vs.* S, p=0,0001).

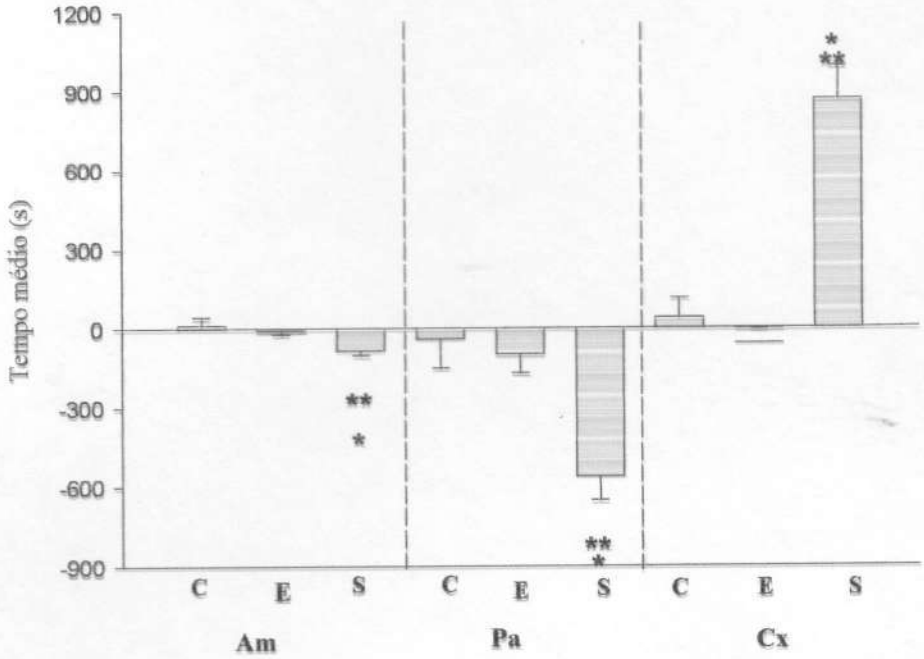


Figura 6: Comparação entre as diferenças do comportamento de ambulação (Am), parar (Pa) e caixa-ninho (Cx), entre a fase pós e pré, dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S). Am: *C *vs.* S, p=0,01; **E *vs.* S, p=0,036. Pa: *C *vs.* S, p=0,003; **E *vs.* S, p=0,005. Cx: *C *vs.* S, p=0,0001; **E vs. S, p=0,0001.

O grupo enriquecido se diferenciou ainda em outros comportamentos em relação ao grupo estresse. Enquanto o grupo E aumentou o tempo médio de descansar (41,75± 33,09 s), o grupo S (-40,42± 16,49 s) reduziu significativamente o descansar (p=0,048) (Figura 6). Da mesma forma, enquanto o grupo E aumentou o tempo médio de autocatação (12,09± 5,58 s), o grupo S (-5,43± 2,04 s) reduziu significativamente a autocatação (p=0,006) (Figura 6).

Algumas diferenças podem não ter emergido com a análise do comportamento entre os grupos, tanto na fase pré como nos tratamentos. Isto conduz à necessidade

de uma análise das modificações no comportamento em cada grupo, ao comparar as modificações no comportamento ocorridas entre a fase pré e o tratamento.

Comparando a fase pré com a fase de tratamento do grupo controle, pode se observar (Figura 7) que ocorreu uma diminuição substancial nos comportamentos de descansar (pré= 37,58±14,35 s; pós= 2,6±2,6 s; Z=-2,2, p=0,028), marcar (pré= 4,44±1,49 s; pós= 1,33±0,69 s; Z=-1,99, p=0,046), brincar (pré= 32,15±18,03 s; pós= 1,55±1,55 s; Z=-2,02, p=0,043) e agonístico (pré= 4,37±1,85 s; pós= 0,77±0,46 s; Z=-2,2, p=0,028).

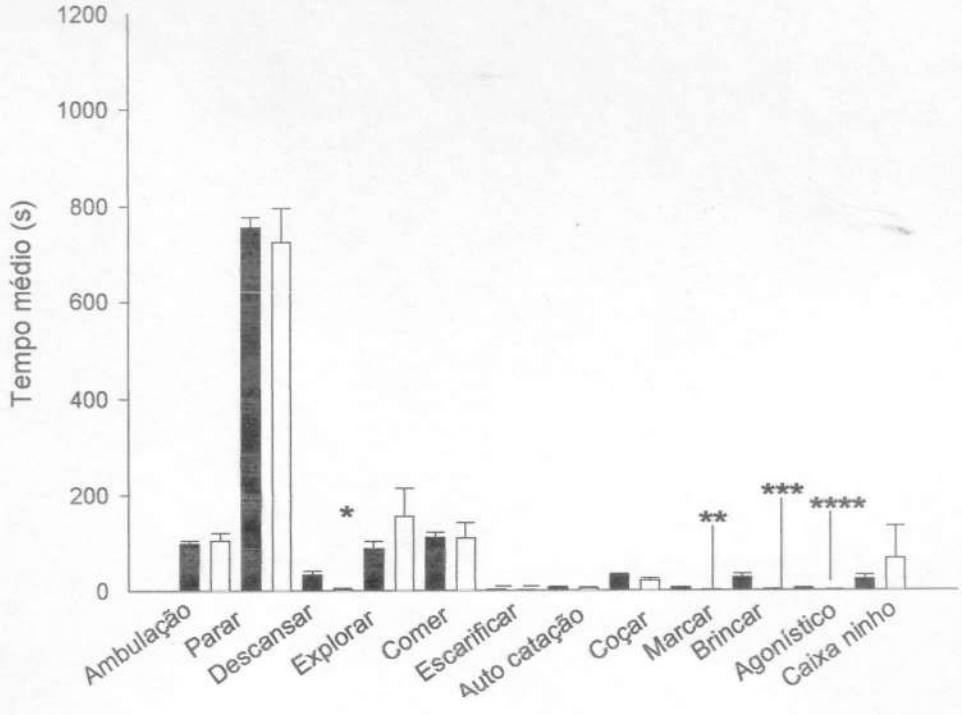


Figura 7: Tempo médio (±EPM) dos comportamentos do grupo controle na linha de base (barras negras) e no procedimento de controle (barras brancas). * p=0,028, **p=0,046, *** p=0,043, **** p=0,028 (Teste U Mann-Whitney).

No grupo enriquecido, conforme pode ser observado na Figura 8, os comportamentos agonísticos diminuíram significativamente da linha da base (4,13 ±1,35 s) para o enriquecimento (0,88 ±0,71 s; Z= -2,366, p=0,018). Observou-se uma tendência de queda nas médias de escarificar (pré= 13,58±6,2 s; pós= 3,45±1,0 s) e de caixa-ninho (pré= 2,05±1,27 s; pós= 0,08±0,05 s), entre as fases pré e pós (escarificar: Z=-1,85, p=0,06; caixa-ninho: Z=-1,78, p=0,07).

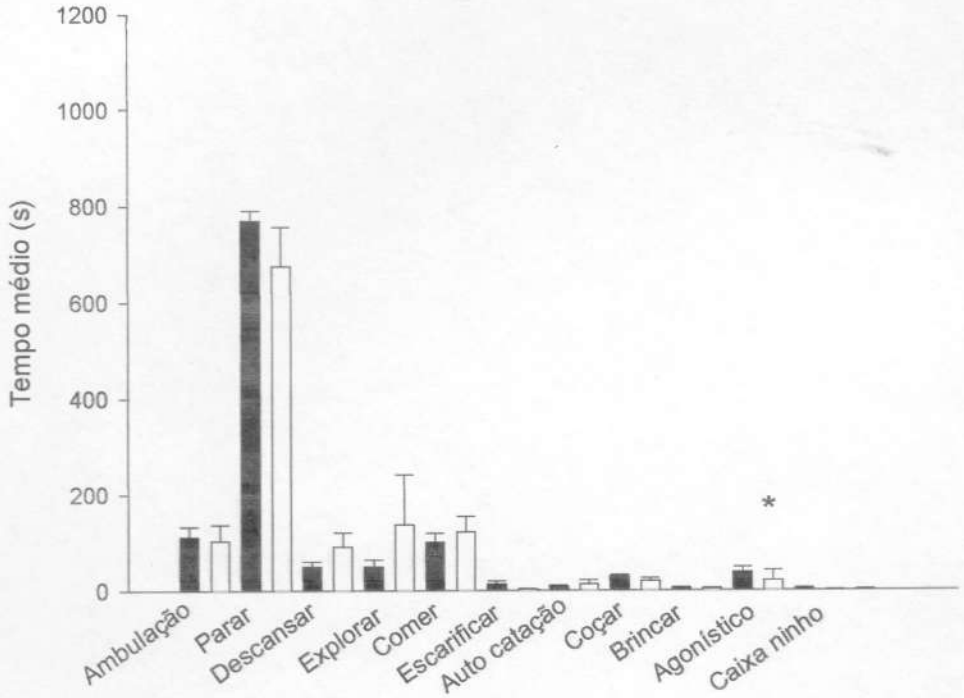


Figura 8: Tempos médios (±EPM) dos comportamentos do grupo enriquecido na fase pré (barras negras) e no enriquecimento (barras brancas). * p=0,018 (Teste U Mann-Whitney).

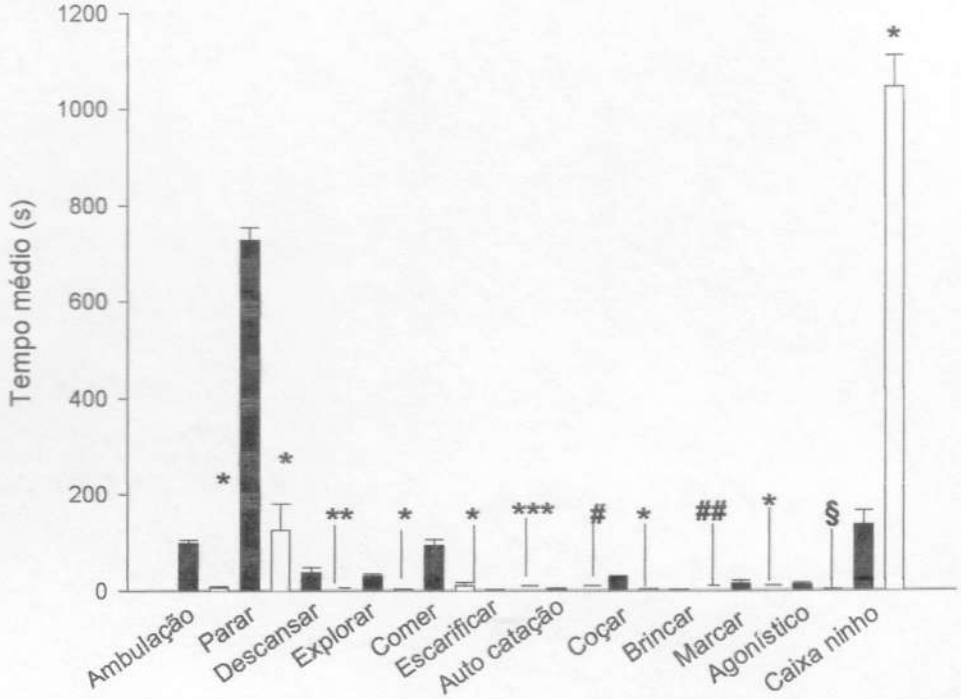


Figura 9: tempos médios (±EPM) dos comportamentos do grupo estresse na fae pré (barras negras) e no estresse (barras brancas). * $p \leq 0{,}0001$, ** $p=0{,}009$, *** $p=0{,}016$, # $p=0{,}004$, ## $p \leq 0{,}032$, § $p=0{,}011$ (Teste *U* Mann-Whitney).

No grupo estresse observou-se uma drástica redução em um grande espectro de comportamentos (Figura 9). Em relação à fase pré, no tratamento ocorreu uma redução significativa nos comportamentos de ambulação (pré= 90,38 ±15,94 s; pós = 7,23 ±6,62 s; Z=-2,52, $p \leq 0{,}001$), parar (pré= 691,71 ±52,26 s; pós = 131,29 ±99,59 s; Z=-2,52, $p \leq 0{,}001$), descansar (pré= 40,42±16,49 s; pós = 0,0 ±0,0 s; Z=-2,52, $p \leq 0{,}001$), explorar (pré= 32,38 ±9,77 s; pós= 2,36 ±2,36 s; Z=-2,52, $p \leq 0{,}001$), comer (pré= 101,98 ±22,08 s; pós=12,44 ±12,43 s; Z=-2,52 , $p=0{,}012$), escarificar (pré= 2,08 ±0,80 s; pós=0,0 s; Z=-2,41 , $p=0{,}016$), auto-catação (pré= 4,99 ±1,13 s; pós=0,46 ±0,46 s; Z=-2,84 , $p=0{,}004$), coçar (pré= 25,54 ±6,62 s; pós= 2,73±2,73 s; Z=-2,52, $p=0{,}012$), marcar (pré= 2,20 ±0,35 s; pós=0,07 ±0,07 s; Z=-3,61 , $p \leq 0{,}0001$), brincar (pré= 15,37 ±6,12 s; pós= 0,0 s; Z=-2,13, $p=0{,}032$) e agonísticos

(pré= 12,11 ±4,56 s; pós= 1,41±1,15 s; Z=-2,55, p=0,011) (Figura 9). Em contraposição, o tempo médio de caixa-ninho na fase pré (175,66±85,92 s) aumentou significativamente no grupo estresse (1043,01±123,48 s; Z=-2,52, p≤0,012).

3.2 CORRELAÇÕES

3.2.1 GRUPO C

No grupo C pode se verificar que ocorreram algumas correlações significativas entre os deltas comportamentais (Tabela 10). Dentre estas, destaca-se que o delta de brincar se correlacionou negativamente com o delta de marcar e ambulação. Por outro lado, a variação de brincar se correlacionou positivamente com a variação de auto catação (Tabela 10)

As variações de marcar estiveram altamente correlacionadas com as variações de ambulação, auto-catação e com o delta da concentração de células segmentadas (Tabela 6). A variação do comportamento agonístico esteve correlacionada negativa e fortemente com o delta da concentração de hemácias, entre as fases pós e pré (Tabela 6).

O delta de monócitos teve uma correlação quase perfeita (R=0,99) e altamente significativa com o delta de temperatura retal (Figura 10). O delta da concentração de linfócitos foi negativo e fortemente correlacionado com a variação no comportamento de parar entre as fases pós e pré (Tabela 6).

Por razões de limitação de espaço, não serão apresentados dados das variáveis que não são relevantes, como revelado na análise do teste *t* pareado anterior, e cujos deltas não se correlacionaram significativamente. Este mesmo tipo de procedimento foi utilizado válido para os grupos E e S, adiante.

Tabela 6: correlações entre os deltas de variáveis comportamentais e fisiológicas do grupo C, que se diferenciaram significativamente, nas fases pré e pós.

Comportamento ou variável fisiológica	N	*rho*	*p*	Variável
Descansar	6		NS*	Sem correlações
Marcar	5	0,94	0,017	Segmentados
Marcar	6	0,94	0,005	Movimentar
Marcar	6	0,83	0,041	Auto catação
Marcar	6	-0,90	0,015	Brincar
Brincar	6	-0,95	0,003	Movimentar
Brincar	6	0,87	0,026	Auto catação
Agonismo	5	-0,98	0,003	Hemácias
Monócitos	4	0,99	0,014	Temperatura retal
Linfócitos	5	-0,91	0,030	Parar

* Não significativa.

3.2.2 GRUPO E

No grupo E se observou uma correlação positiva altamente significativa entre a variação de monócitos e a variação do peso (Tabela 7). Como pode ser visualizado na Figura 11, isto é sugestivo de que a expansão da concentração de monócitos foi acompanhada de uma expansão proporcional na variação de peso.

A expansão na concentração de linfócitos foi significativamente correlacionada com a expansão na concentração de cortisol (Tabela 6 e Figura 12). A concentração de linfócitos esteve no limiar correlacionada com a variação na concentração de hemácias e na variação da temperatura timpânica esquerda (Tabela 7). Os comportamentos agonísticos não se correlacionaram significativamente com qualquer variável comportamental ou fisiológica.

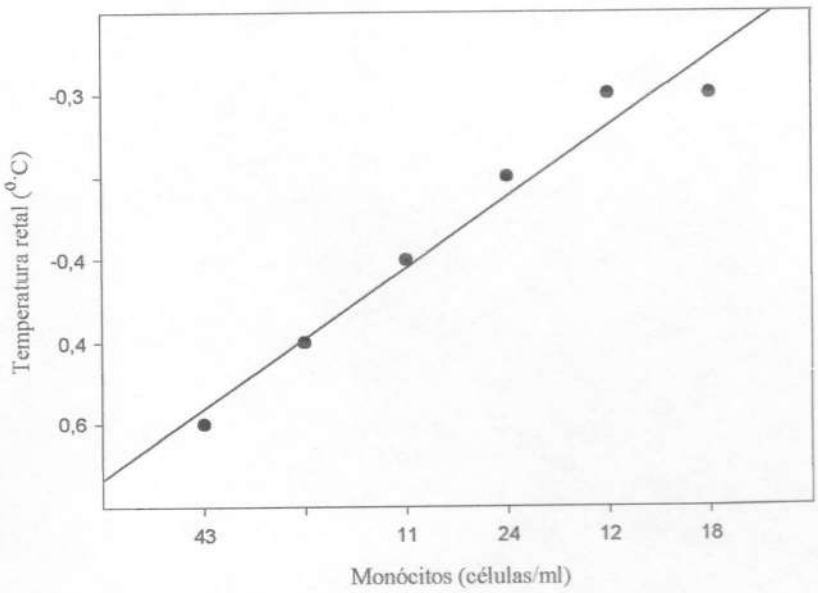


Figura 10: Correlação entre a variação da concentração de monócitos e a variação na temperatura retal, entre a fase pré e pós, no grupo controle (R^2= 0,96; N=6). Os pontos representam as médias.

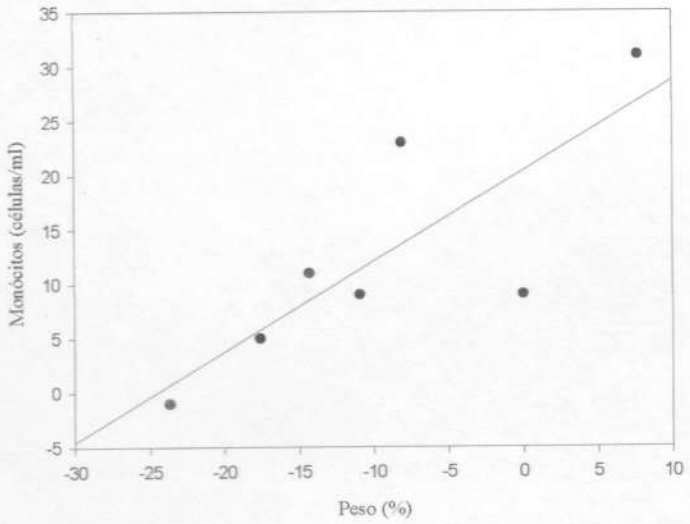


Figura 11: Correlação entre a variação de peso e a variação na concentração de monócitos, entre a fase pré e pós, no grupo enriquecido (R^2= 0,65;N=7). Os pontos representam as médias.

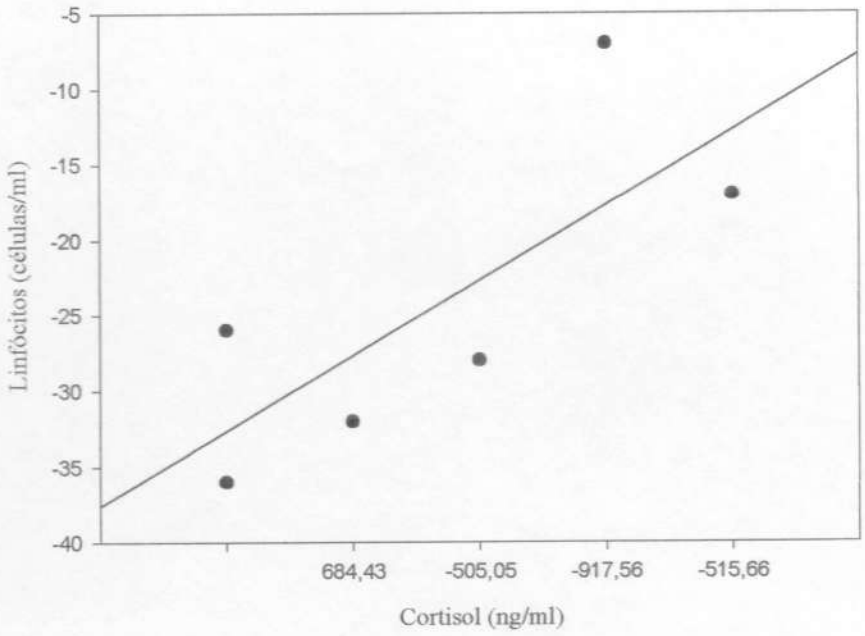


Figura 12: Correlação entre a variação de cortisol e a variação na concentração de linfócitos, entre a fase pré e pós, no grupo enriquecido (R^2= 0,58; N=6). Os pontos representam as médias.

Tabela 7: correlações entre os deltas de variáveis comportamentais e fisiológicas do grupo E, que se diferenciaram significativamente, nas fases pré e pós.

Comportamento ou variável fisiológica	**N**	***rho***	***p***	**Variável**
Agonismo			NS*	Sem correlações
Monócitos	7	0,81	0,028	Peso
Linfócitos	7	-0,75	0,052	Escarificar
Linfócitos	6	-0,87	0,026	Cortisol
Linfócitos	7	-0,75	0,051	Hemácias
Linfócitos	7	0,75	0,051	Temperatura timpânica esquerda

*Não significativo

3.2.3 GRUPO S

No grupo S detectou-se correlações significativas nos deltas de um grande número de variáveis (Tabela 8) que se interpretou como relevantes na análise do teste *t* pareado anteriormente descrito.

A variação de ambulação esteve correlacionada negativamente com a variação de permanência na caixa-ninho e positivamente com a variação de marcar. Significa que a diminuição na movimentação foi acompanhada por um aumento no tempo de caixa ninho.

A variação de ambulação esteve correlacionada negativamente com o delta da concentração glicêmica. Esta relação entre duas variáveis interdependentes como a ambulação e o aporte glicêmico, pode ser melhor visualizada na Figura 13, que representa uma regressão linear entre ambas.

Tabela 8: Correlações entre os deltas de variáveis comportamentais e fisiológicas do grupo S, que se diferenciaram significativamente, nas fases pré e pós.

Comportamento ou variável fisiológica	**N**	***rho***	***p***	**Variável**
Movimentar	8	0,76	0,030	Marcar
Movimentar	8	-0,70	0,050	Caixa ninho
Movimentar	8	-0,75	0,032	Glicemia
Parar	8	0,74	0,037	Glicemia
Parar	8	-0,97	0,0001	Caixa ninho
Descansar	8	-0,98	0,0001	Leucócitos
Explorar	8	0,81	0,014	Comer
Explorar	8	0,81	0,014	Coçar
Comer	8	-0,76	0,028	Segmentados
Glicemia	8	0,80	0,017	Hemácias
Glicemia	8	0,81	0,014	Temperatura retal
Peso	8	0,82	0,013	Temperatura timpânica esquerda
Monócitos	9	-0,79	0,011	Linfócitos
Linfócitos	9	-0,95	0,0001	Segmentados

A variação no comportamento de parar esteve correlacionada negativamente com a variação no tempo de caixa ninho e correlacionada positivamente com a dimensão da variação glicêmica (Figura 14).

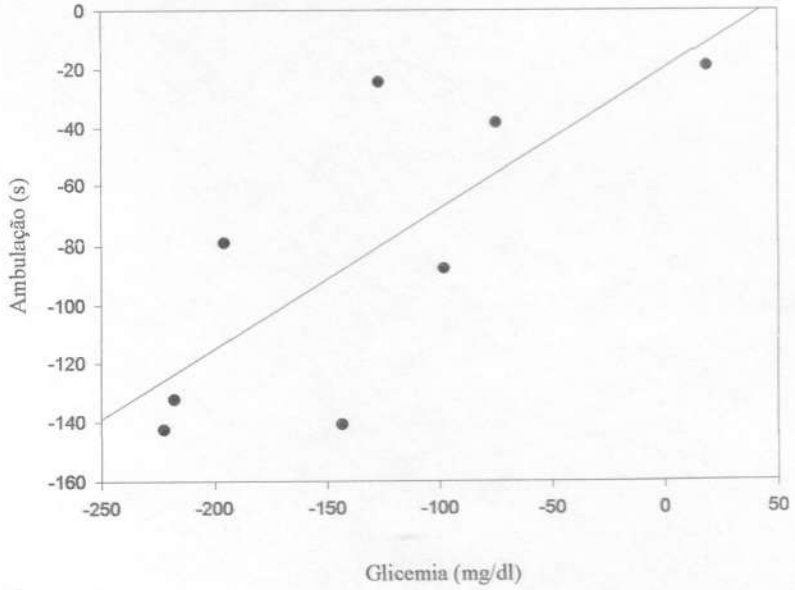


Figura 13: Correlação entre a variação da glicemia e a variação na ambulação, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,56; N=8). Os pontos representam as médias.

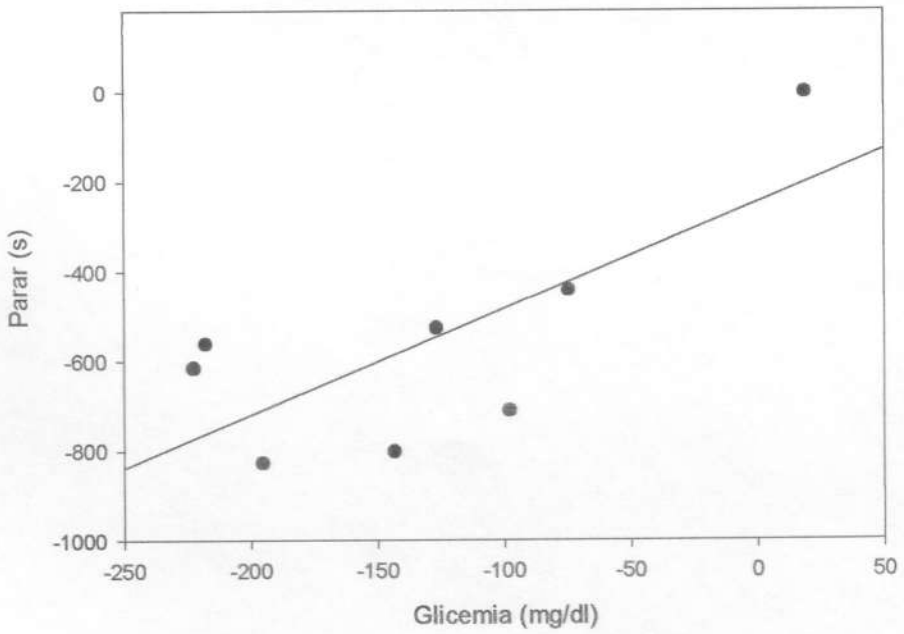


Figura 14: Correlação entre a variação da glicemia e a variação em parar, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,54;N=8). Os pontos representam as médias.

A variação em descansar teve uma correlação negativa altamente significativa com a variação na concentração de leucócitos (Figura 15).

A variação em explorar esteve correlacionada com a variação em comer (Figura 16) e coçar (Figura 17). Por sua vez, a variação em comer esteve correlacionada negativamente com a variação da concentração de células segmentadas (Tabela 8).

O delta de glicemia se correlacionou com a variação na concentração de hemácias (Figura 18) e na variação de temperatura retal (Figura 19). A dimensão da variação de peso se correlacionou com a variação da temperatura timpânica esquerda (Figura 20).

A variação na concentração de linfócitos esteve correlacionada com a variação de monócitos e em particular, altamente correlacionada com a variação na concentração de células segmentadas (Figura 21).

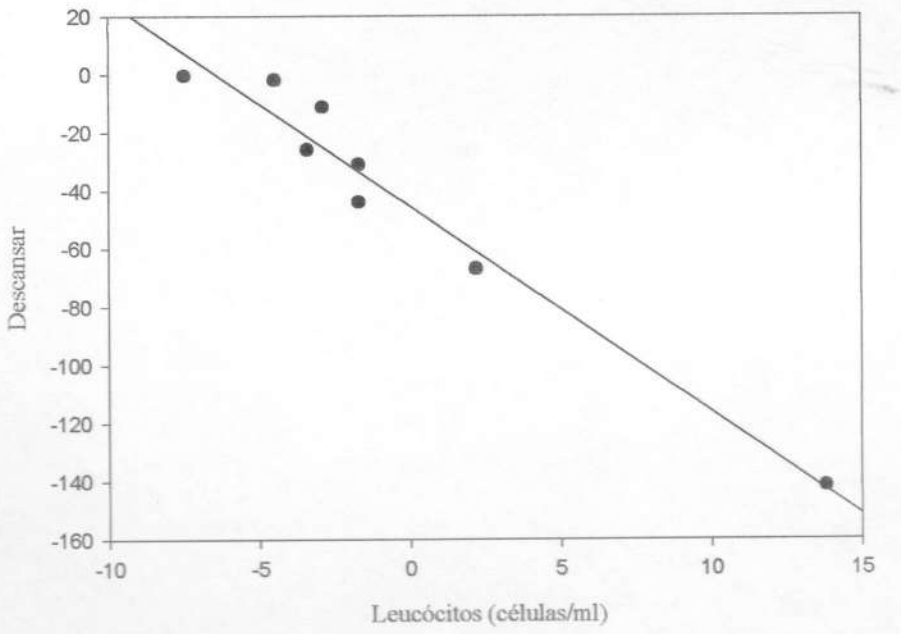


Figura 15: Correlação entre a variação na concentração de leucócitos e a variação em descansar, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,96; N=8). Os pontos representam as médias.

Interessantemente, no grupo S não ocorreu nenhuma correlação significativa entre a concentração plasmática de cortisol e variáveis comportamentais ou fisiológicas.

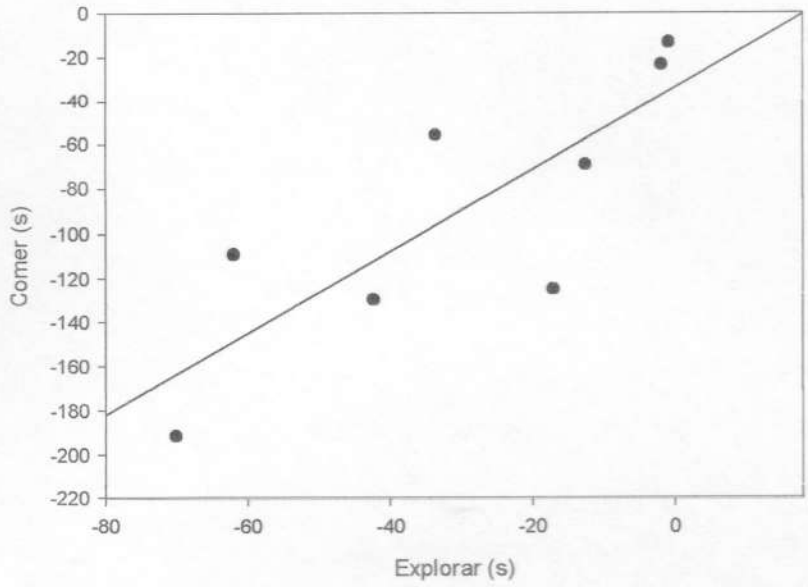


Figura 16: Correlação entre a variação de explorar e a variação do comer, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,66;N=8). Os pontos negros representam as médias.

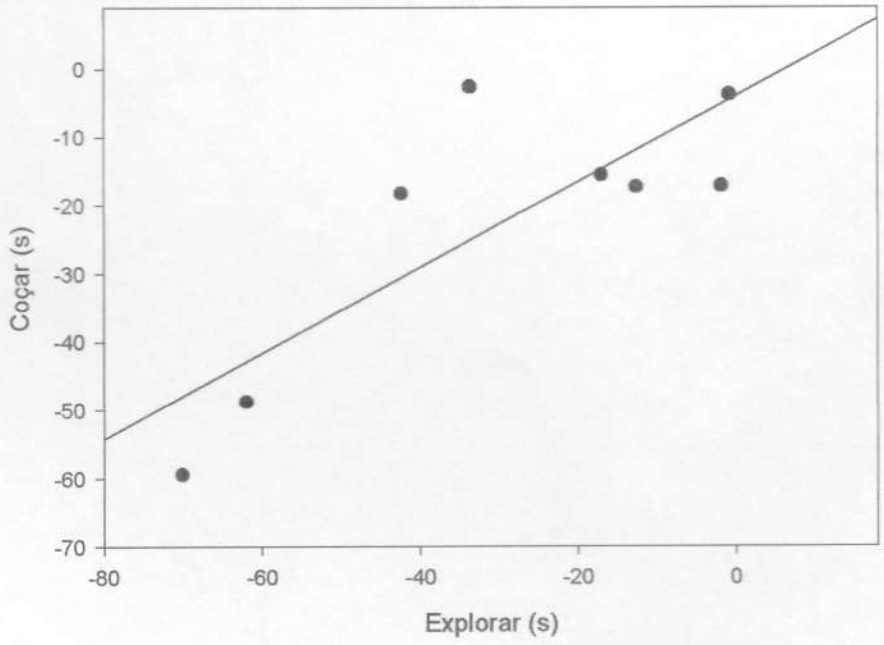


Figura 17: Correlação entre a variação em explorar e a variação em coçar, entre a fase pré e pós, no grupo estresse(R^2= 0,66; N=8). Os pontos representam as médias.

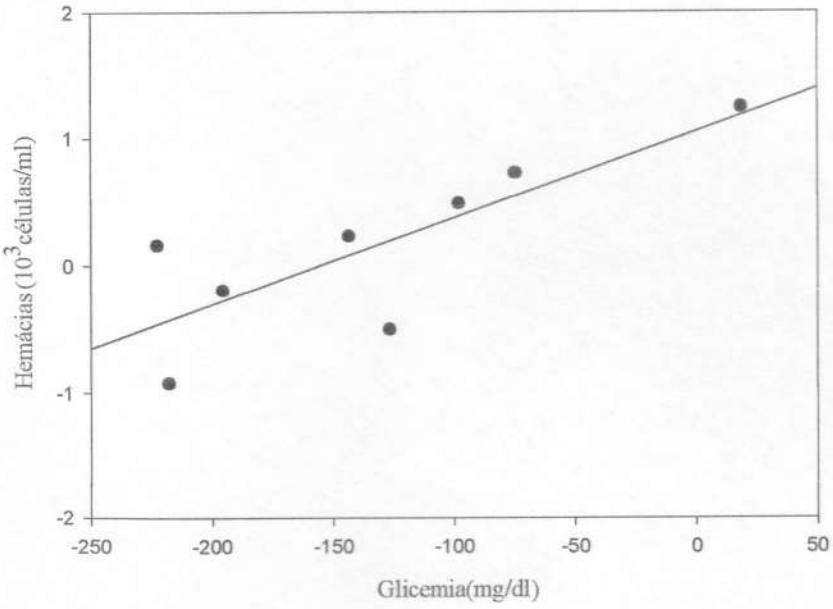


Figura 18: Correlação entre a variação na glicemia e a variação na concentração de hemácias, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,64; N=8). Os pontos representam as médias.

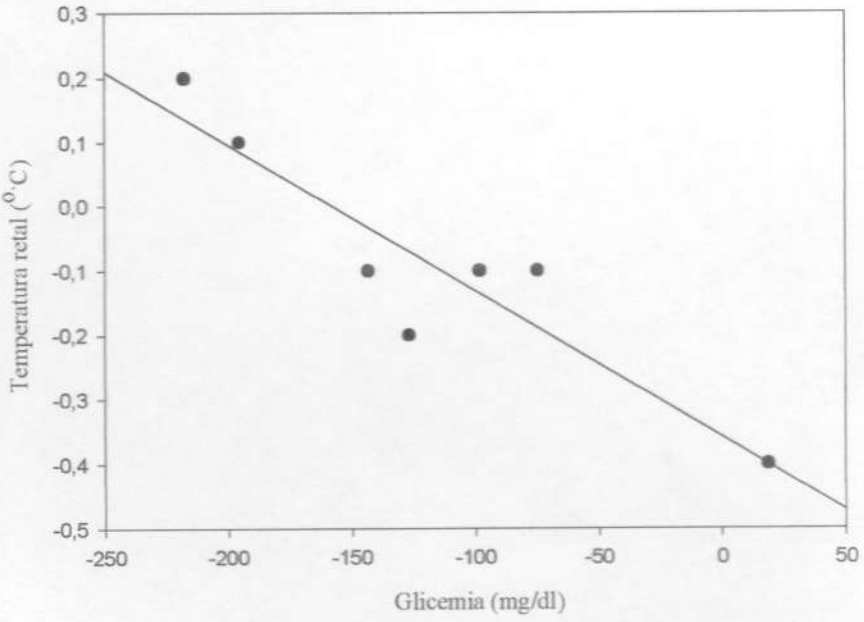


Figura 19: Correlação entre a variação na glicemia e a variação na temperatura retal, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,85;N=8). Os pontos representam as médias.

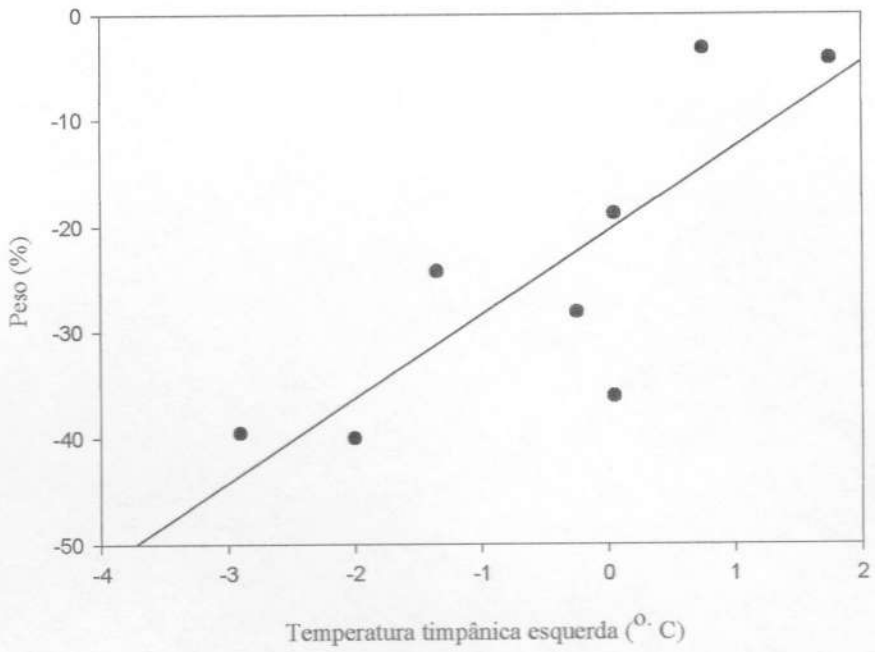


Figura 20: Correlação entre a variação da temperatura timpânica esquerda e a variação no peso, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,67; N=8). Os pontos representam as médias.

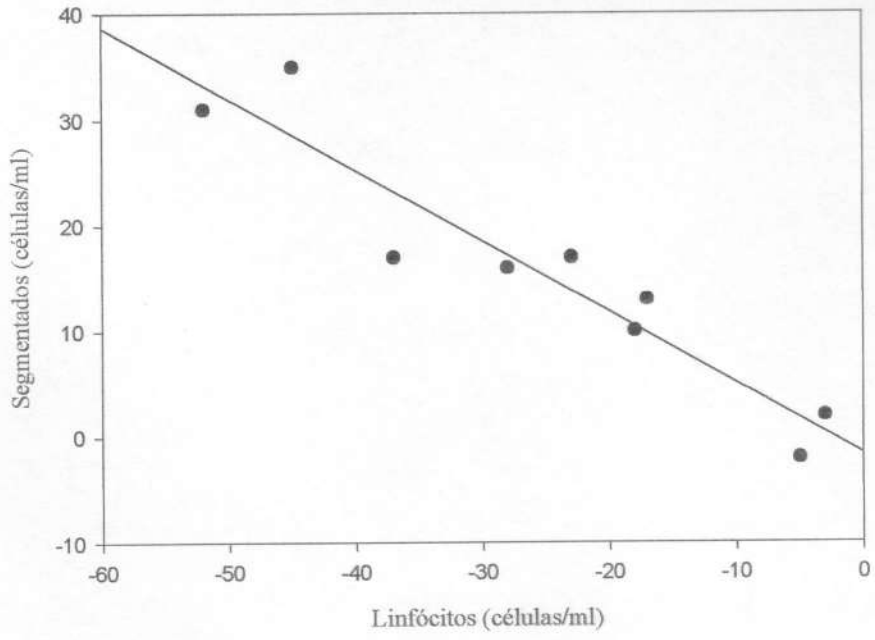


Figura 21: Correlação entre a variação na concentração de linfócitos e a variação na concentração de segmentados, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,89; N=8). Os pontos representam as médias.

DIVERSIDADE DO COMPORTAMENTO

A diversidade comportamental consiste na variabilidade de padrões comportamentais próprios da espécie que podem ser observáveis no repertório diário de atividades. De maneira geral, se espera que haja uma proporcionalidade entre os diversos padrões comportamentais que levem ao aumento da aptidão e da adaptação aos diversos desafios cotidianos (sociais e ambientais).

Quanto à diversidade do repertório comportamental, as análises indicaram que na fase pré e no tratamento (fase pós), houve diferença significativa entre os grupos (fase pré, X^2= 44,471, gl= 2, $p \leq 0,0001$; fase dos tratamentos, X^2 = 35,906, gl= 2, $p \leq 0,0001$). Analisando um grupo contra o outro (Figura 22), na fase pré e na fase dos tratamentos, o grupo controle não se diferenciou estatisticamente do grupo enriquecido, quanto à média de padrões comportamentais por sessão (**cs**) (fase pré, U=4725,0, N_C=98, N_E= 98, $p \leq 0,84$; fase dos tratamentos, U=125,0, N_C=18, N_E= 21 $p \leq 0,66$). Por outro lado, o grupo estresse apresentou uma menor diversidade comportamental na fase pré (6,75±2,35) em relação ao grupo controle (8,51±1,52; U=3745,5, n_C= 98, n_S= 140 $p \leq 0,0001$) e ao grupo enriquecido (média=8,51 ±2,14; U=4194,5, N_E=98, N_S= 140 $p \leq 0,0001$).

O grupo estresse novamente apresentou menor diversidade comportamental (2,14 ±2,19) na fase dos tratamentos, em relação ao grupo controle (6,55±2,09; U=49,5, N_C=18, N_S= 27, $p \leq 0,0001$) e ao grupo enriquecido (7,76 ±2,11; U=36,5, N_E=21, N_S= 27 $p \leq 0,0001$).

Em relação às suas próprias linhas de base (Figura 23), o grupo controle e o grupo estresse, diminuíram significativamente o número médio de padrões comportamentais nos tratamentos (controle, U=384,0, $n_{\text{fase pré}}$= 98, $n_{\text{tratamento}}$= 18, $p \leq 0,0001$; estresse, U=372,5, $n_{\text{fase pré}}$= 140, $n_{\text{tratamento}}$= 27, $p \leq 0,0001$). A diversidade comportamental do grupo enriquecido manteve-se estável na fase pré e de tratamentos (U=871,5, $n_{\text{fase pré}}$= 98, $n_{\text{tratamento}}$= 21, $p \leq 0,26$).

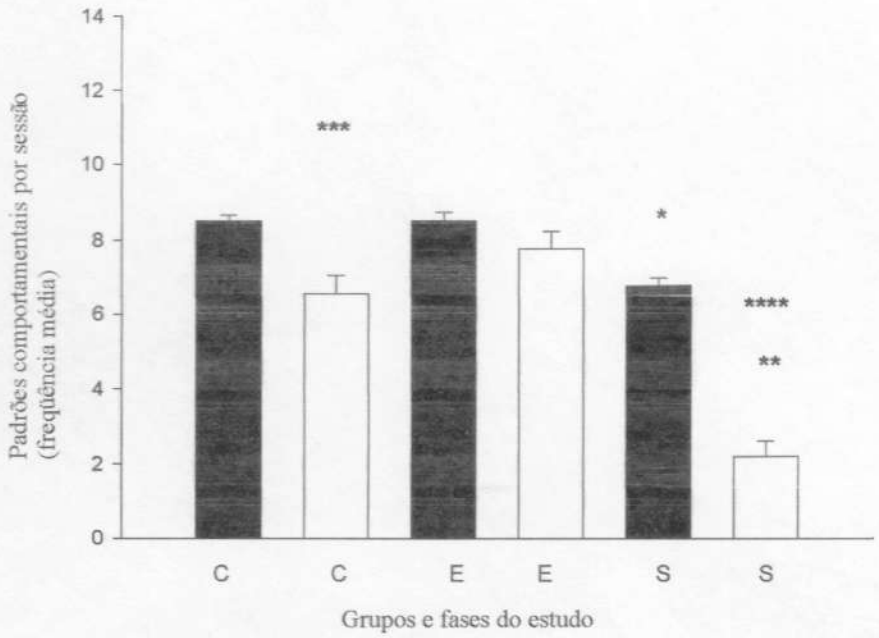


Figura 22: Freqüência média (± desvio padrão) de padrões comportamentais observados por sessão, no grupo controle (C), no grupo enriquecido (E) e no grupo estresse (S), na linha de base (barras negras) e nos tratamentos (barras brancas). As diferenças significativas por (*U* Mann-Whitney), estão assinaladas por asteriscos. * diferença significativa na fase pré entre o grupo estresse em relação aos grupos controle e enriquecido ($p \leq 0{,}0001$); **diferença significativa no tratamento entre o grupo estresse em relação aos grupos controle e enriquecido ($p \leq 0{,}0001$); *** diferença significativa entre a fase pré e o tratamento no grupo controle ($p \leq 0{,}0001$);**** diferença significativa entre a fase pré e o tratamento no grupo estresse ($p \leq 0{,}0001$).

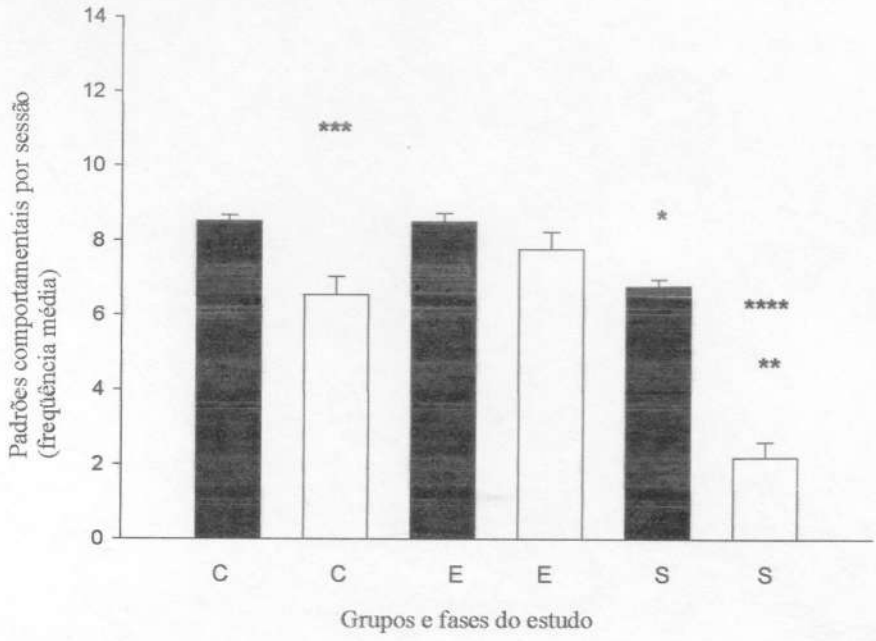


Figura 23: Freqüência média (± desvio padrão) de padrões comportamentais observados por sessão, no grupo controle (C), no grupo enriquecido (E) e no grupo estresse (S), na linha de base (barras negras) e nos tratamentos (barras brancas). As diferenças significativas (teste *U* Mann-Whitney), estão assinaladas por asteriscos. * diferença significativa na fase pré entre o grupo estresse em relação aos grupos controle e enriquecido ($p \leq 0{,}0001$); **diferença significativa no tratamento entre o grupo estresse em relação aos grupos controle e enriquecido ($p \leq 0{,}0001$); *** diferença significativa entre a fase pré e o tratamento no grupo controle ($p \leq 0{,}0001$);**** diferença significativa entre a fase pré e o tratamento no grupo estresse ($p \leq 0{,}0001$).

Para tentar analisar melhor estas dessemelhanças, abordou-se as possíveis correlações existentes entre a diversidade do comportamento com as diferenças significativas fisiológicas e comportamentais, entre as fases pré e pós-tratamentos,

em cada grupo experimental. O delta destas variáveis está representado nas Tabelas 9, 10 e 11.

Tabela 9: Estatística descritiva (média±desvio padrão) e tamanho da amostragem (N) das diferenças entre as variáveis na fase pós e pré do grupo controle (C).

Variável	Média	± Desvio padrão	Unidade	N
Peso	-4,86	5,60	g	6
Glicemia	-49,81	150,96	mg/ml	6
Ácidos graxos livres	-,32	,31	mg/dl	6
Cortisol	228,60	389,99	ng/ml	5
Hemácias	,51	1,03	10^3 células/ml	5
Segmentados	3,00	16,88	células/ml	5
Eosinófilos	,20	,44	células/ml	5
Leucócitos	-10,96	18,74	células/ml	5
Linfócitos	-24,40	15,46	células/ml	5
Monócitos	21,60	13,04	células/ml	5
Temperatura timpânica esquerda	-0,06	,69	ºC	6
Temperatura timpânica direita	-,77	1,32	ºC	6
Temperatura retal	-0,14	,46	ºC	5
Ambulação	13,61	72,61	s	6
Parado	-39,54	269,31	s	6
Descansar	-34,98	37,55	s	6
Explorar	79,71	171,74	s	6
Comer	-3,31	69,23	s	6
Escarificar	-1,78	3,38	s	6
Auto catação	-2,24	4,22	s	6
Coçar	-12,17	14,37	s	6
Marcar	-3,11	2,49	s	6
Brincar	-30,60	40,82	s	6
Agonismo	-3,6005	3,49	s	6
Caixa ninho	40,0851	180,84	s	6

Tabela 10: Estatística descritiva (média±desvio padrão) e tamanho da amostragem (N) das diferenças entre as variáveis na fase pós e pré do grupo enriquecido (E).

Variável	Média	±Desvio padrão	Unidade	N
Peso	-9,55	10,64	g	7
Glicemia	-86,05	95,92	mg/ml	7
Ácidos graxos livres	-,25	,45	mg/dl	7
Cortisol	465,91	1324,01	ng/ml	6
Hemácias	-,29	1,13	10^3 células/ml	7
Segmentados	13,57	15,44	células/ml	7
Eosinófilos	-,14	,69	células/ml	7
Leucócitos	6,69	12,27	células/ml	7
Linfócitos	-26,57	11,37	células/ml	7
Monócitos	12,42	10,93	células/ml	7
Temperatura timpânica esquerda	0,087	1,26	°C	7
Temperatura timpânica direita	-,12	,16	°C	7
Temperatura retal	-,12	,16	°C	7
Ambulação	-7,23	35,11	s	7
Parado	-94,80	199,51	s	7
Descansar	41,75	87,56	s	7
Explorar	-47,95	38,37	s	7
Comer	-87,78	37,81	s	7
Escarificar	-9,21	16,09	s	7
Auto catação	12,09	14,76	s	7
Coçar	-9,73	55,82	s	7
Marcar	-4,49	5,63	s	7
Brincar	-38,45	29,92	s	7
Agonismo	-4,13	3,57	s	7
Caixa ninho	-2,05	3,37	s	7

Tabela 11: Estatística descritiva (média±desvio padrão) e tamanho da amostragem (N) das diferenças entre as variáveis na fase pós e pré do grupo estresse (S).

Variável	Média	± Desvio padrão	Unidade	N
Peso	-23,87	13,79	g	9
Glicemia	-137,24	77,82	mg/ml	9
Ácidos graxos livres	,27	,41	mg/dl	9
Cortisol	1531,50	1701,59	ng/ml	8
Hemácias	0,09	,67	10^3 células/ml	9
Segmentados	15,44	11,99	células/ml	9
Eosinófilos	-,22	,44	células/ml	9
Leucócitos	-1,47	6,47	células/ml	9
Linfócitos	-25,33	16,88	células/ml	9
Monócitos	10,33	6,74	células/ml	9
Temperatura timpânica esquerda	-,19	1,66	°C	9
Temperatura timpânica direita	-,16	1,03	°C	9
Temperatura retal	-0,08	,16	°C	9
Ambulação	-83,14	51,73	s	8
Parado	-560,41	262,32	s	8
Descansar	-40,42	46,64	s	8
Explorar	-30,02	26,46	s	8
Comer	-89,54	60,28	s	8
Escarificar	-2,05	3,00	s	8
Auto catação	-5,43	5,77	s	8
Coçar	-22,81	20,43	s	8
Marcar	-2,30	2,87	s	8
Brincar	-16,44	18,13	s	8
Agonismo	-14,66	37,84	s	8
Caixa ninho	867,34	355,03	s	8

No grupo C observou-se uma correlação negativa significativa entre a diversidade do comportamento e ambulação (R=-0,81, N=5, p=0,050). Na Figura 24 pode se observar uma regressão linear da relação entre ambulação e diversidade. Interpreta-se que a diminuição do ambulação foi acompanhada por diminuição da diversidade. Em relação às outras variáveis fisiológicas e comportamentais, não se encontrou correlações significativas (Tabela 12).

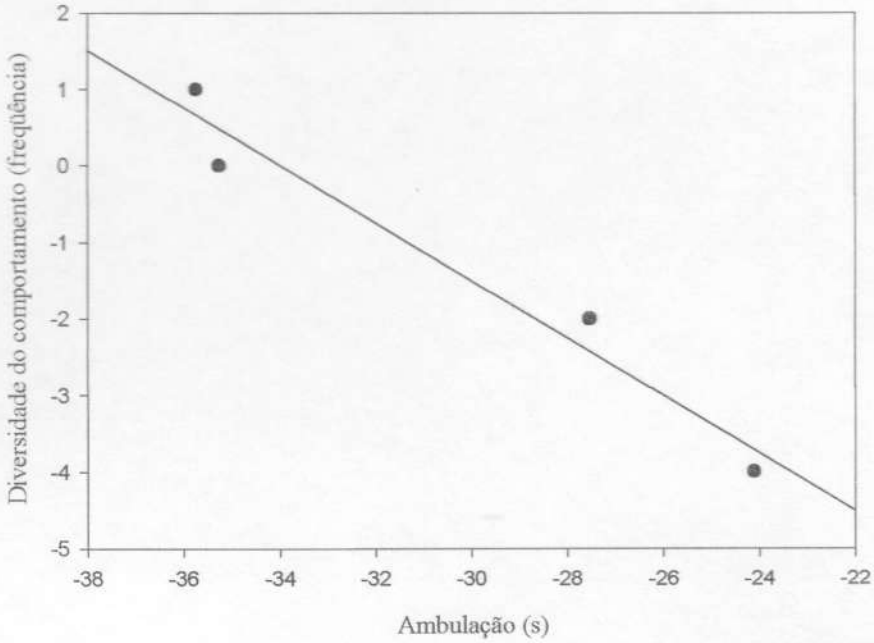


Figura 24: Correlação entre o delta de ambulação e a variação na diversidade comportamental no grupo controle (R^2= 0,96, N=4), entre a fase pré e pós. Os pontos representam as médias.

No grupo E, o delta da diversidade do comportamento não se correlacionou significativamente com o comportamento agonístico (R=0,69, N=7, *p*=0,88). No grupo E os deltas das variáveis fisiológicas que foram significativamente diferentes entre as fases pré e pós, não estiveram correlacionadas com a variabilidade do comportamento (Tabela 13).

Tabela 12: Correlações entre o delta da diversidade do comportamento e os deltas das variáveis fisiológicas e comportamentais do grupo controle, nas fases de tratamentos. Índice de correlação (rho), nível de significância (*p*), tamanho da amostra (N).

	Diversidade: rho, *p*, N
Linfócitos	-,070; 0, 911; 5
Monócitos	,732; 0,160; 5
Descansar	-,126; 0,812; 6
Marcar	-,741; 0,092; 6
Brincar	,715; 0,110; 6
Agonismo	,070; 0,895; 6

Tabela 13: Correlações entre o delta da diversidade do comportamento e os deltas das variáveis fisiológicas e comportamentais do grupo E, nas fases pré e pós. Índice de correlação: rho; nível de significância: *p*; tamanho da amostra: N.

	Diversidade: rho, *p*, N
Peso	-,095; 0,84; 7
Linfócitos	,550; 0,20; 7
Monócitos	-,192; 0,68; 7
Temperatura timpânica esquerda	,523; 0,22; 7
Agonismo	,069; 0,88; 7

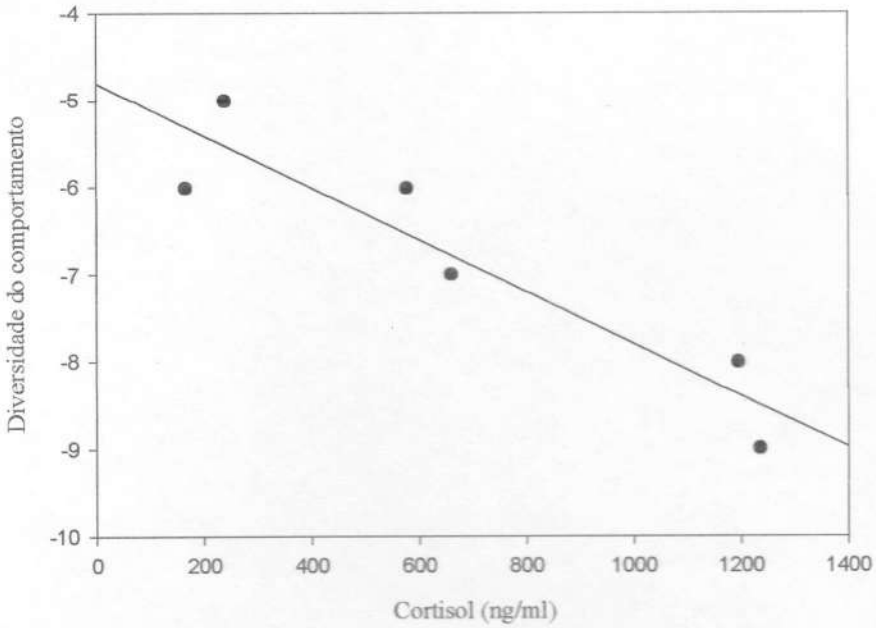


Figura 25: Correlação entre a variação do cortisol plasmático e a variação da diversidade comportamental, entre a fase pré e pós, no grupo estresse (R^2= 0,86; N=8). Os pontos representam as médias.

Tabela 14: Correlações entre o delta da diversidade do comportamento e os deltas das variáveis fisiológicas e comportamentais do grupo S, nas fases pré e pós. Índice de correlação: rho; nível de significância: *p*; tamanho da amostra: N.

	Diversidade: rho, *p*, N
Peso	-,435; 0,24; 9
Glicemia	,065; 0,86; 9
Segmentados	-,077; 0,84; 9
Linfócitos	-,094; 0,81; 9
Monócitos	,383; 0,30; 9
Temperatura retal	,215; 0,57; 9
Movimentar	,434; 0,28; 8
Parar	-,076; 0,85; 8
Descansar	-,142; 0,73; 8
Explorar	,183; 0,66; 8
Comer	,376; 0,35; 8
Coçar	-,219; 0,60; 8
Caixa ninho	-,067; 0,87; 8

aumento da concentração plasmática, se correlaciona com um maior aumento na diferença da diversidade comportamental, entre a fase pré e pós. Em suma, pelos valores das médias nas fases pré e pós, parece que quanto maior o aumento no cortisol, maior foi a inibição comportamental, pois há uma diminuição gradual da diversidade. Isto fica mais claro na visualização da Figura 25, que representa uma regressão linear dada por ambas as variáveis. Por outro lado, não ocorreram correlações significativas entre as variáveis com diferenças substanciais entre as fases pré e pós, no grupo S, e a variação da diversidade comportamental (Tabela 14).

NÍVEIS DE CORTISOL

Assim como as demais espécies neotropicais resistentes ao cortisol, os indivíduos deste estudo (*C. penicillata)* apresentaram altos níveis de cortisol plasmático (Figura 26). Comparados na fase pré (Figura 26), os grupos não diferiram estatisticamente (grupo C= 921,53±129,13 ng/ml, grupo E= 1371,05 ±370,35 ng/ml, grupo S= 1001,74 ±102,73 ng/ml; $F_{2,18}$= 1,15, gl= 2, $p \leq 0,33$).

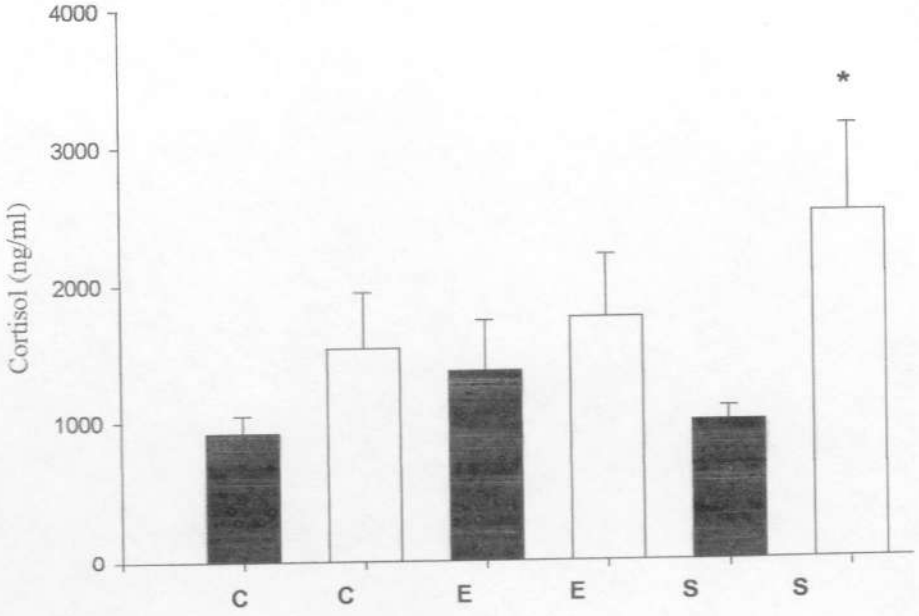


Figura 26: Níveis médios e erro padrão da média (±EPM) do cortisol plasmático dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S). As barras negras representam a linha de base e as vazias, a fase dos tratamentos. Teste *t* pareado: grupo S, * t=-2,546, gl=7, $p \leq 0,038$.

Na fase pós-tratamentos, apesar de um aumento, não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos comparados entre si, em relação às variações (deltas) plasmáticas de cortisol (grupo C= 228,6 ±174,41 ng/ml, grupo E= 465,91±540,52 ng/ml, grupo S, média= 1531,5 ±601,6 ng/ml; $F_{2,18}$= 1,76, gl= 2, $p \leq 0,20$).

Quando os grupos foram comparados em suas próprias linhas de base e tratamentos (Figura 26), através de um teste *t* pareado, observou-se um aumento significativo no cortisol plasmático no grupo S (t=-2,54, gl=7, p=0,038), mas sem alterações significativas no grupo C (t=-1,31, gl=4, p=0,26) e no grupo E (t=-1,06, gl=4, p=0,34).

GLICEMIA

Os níveis glicêmicos (Figura 27) não diferiram na fase pré entre os grupos (grupo C= 187,73±59,24 mg/ml, grupo E= 208,62±45,38 mg/ml, grupo S= 220,25±25,95 mg/ml; ANOVA, $F_{2,20}$=0,15 gl=2, $p \leq 0,85$). Na fase pós-tratamentos, analisando-se os deltas por uma ANOVA, observou-se uma redução na glicemia de todos os grupos, mas não foi detectada diferença significativa entre eles (grupo C= -

49,81±61,63 mg/ml, grupo E= -86,05±36,25 mg/ml, grupo S= -137,24±25,94 mg/ml; ANOVA, $F_{2,19}$=1,25, gl=2, p≤0,31).

Por isso, se investigou através e um teste *t* pareado, se haviam diferenças entre a fase pré e os tratamentos, para cada grupo. Observou-se que todos os grupos reduziram o nível glicêmico na fase pós-tratamento (grupo C= 137,91±14,77 mg/ml, grupo E= 122,57±25,78 mg/ml, grupo S= 77,87±10,78 mg/ml), mas apenas no grupo S esta redução foi estatisticamente significativa (t=5,29, gl= 8, p=0,001) (Figura 27). No grupo E, ocorreu uma forte tendência de queda nos níveis glicêmicos (t=2,37, gl= 6, p=0,055), enquanto no grupo controle não se observou diferença (t=0,81, gl= 5, p=0,45).

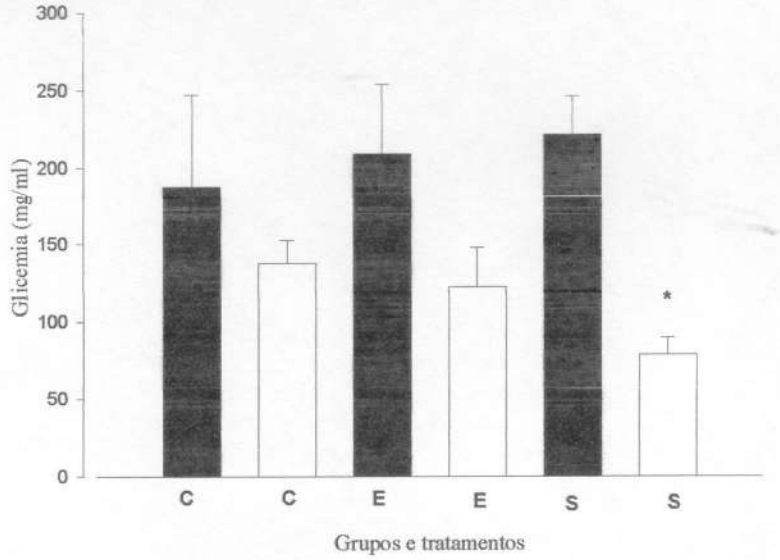


Figura 27: Glicemia média (±EPM) dos saguis do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), na fase pré (barras negras) e nos tratamentos (barras vazias). *p≤0,001, fase pré *vs.* fase pós do grupo S (Teste *t* pareado).

ÁCIDOS GRAXOS LIVRES (AGL)

Os níveis de AGL (Figura 28) não diferiram na fase pré entre os grupos (grupo C= 0,85±0,16 mg/ml, grupo E= 0,89±0,16 mg/ml, grupo S= 0,76±0,03 mg/ml; ANOVA, $F_{2,20}$=0,42 gl=2, p≤0,65). Na fase pós-tratamentos, analisando-se os deltas por uma ANOVA, observou-se uma redução nos AGL para os grupos C (-0,32±0,12

mg/ml) e E (-0,25±0,17 mg/ml), mas um aumento no grupo S (0,27±0,13 mg/ml), contraste que se mostrou significativo por um teste ANOVA ($F_{2,19}$=5,25, gl=2, p=0,015). Por um teste Tukey, observou-se que o aumento de AGL do grupo S, contrastou significativamente pela diminuição do grupo C (p=0,029) e do grupo E (p=0,041).

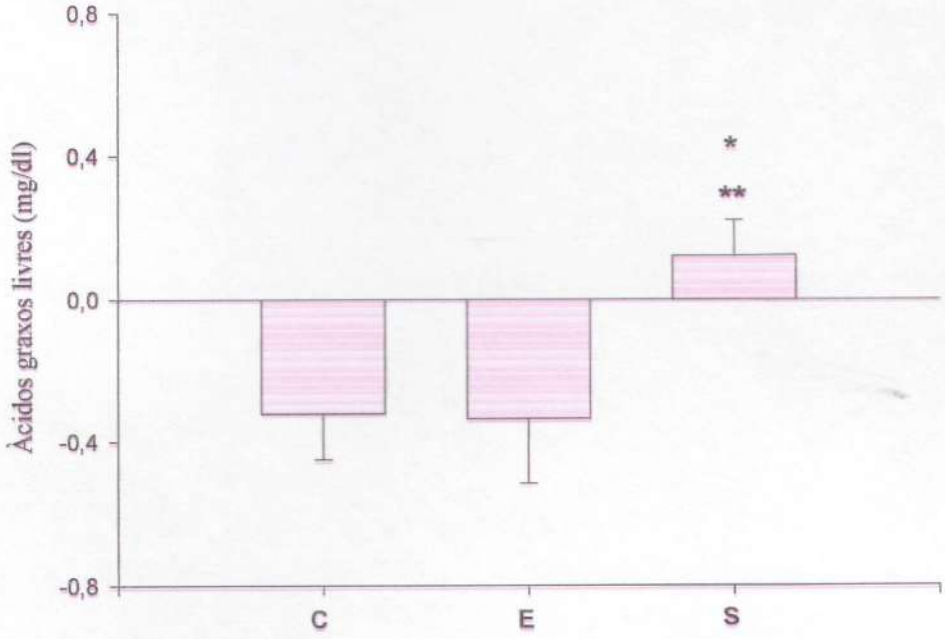


Figura 28: Delta da lipemia média (±EPM) dos saguis do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S). * p=0,029, grupo C *vs.* grupo S; **p=0,041, grupo E *vs.* grupo S (Teste Tukey).

Na comparação dos grupos em relação às suas próprias linhas de base (Figura 28), ocorreu uma tendência de declínio nos AGL do grupo C (0,53±0,11 mg/ml; t= 2,47, gl= 5, p=0,056), um declínio não significativo no grupo E (0,63±0,08 mg/ml; t= 1,52, gl= 6, p=0,17) e uma tendência de aumento no grupo S (1,03±0,15 mg/ml; t=-2,01 gl=8, p≤0,79).

PESO

O peso médio de cada grupo (Tabela 15) não diferiu na fase pré (ANOVA, $F_{2,20}$= 2,084, gl=2, $p \leq 0,15$). Ao se comparar a variação percentual média de peso (Figura 29) entre os grupos, após os tratamentos, se observou que ocorreram diferenças estatísticas (ANOVA, $F_{2,19}$=6,107, gl=2, p=0,009).

Tabela 15: Peso médio (±desvio padrão) dos grupos experimentais, nas fases pré e pós-tratamentos.

Fase	Grupo	N	Média (g)	Desvio padrão (g)
Pré	Controle	6	360,83	72,41
	Enriquecido	8	281,25	77,17
	Estresse	7	338,57	25,44
Pós	Controle	6	342,50	66,46
	Enriquecido	8	258,75	80,74
	Estresse	7	244,28	29,35

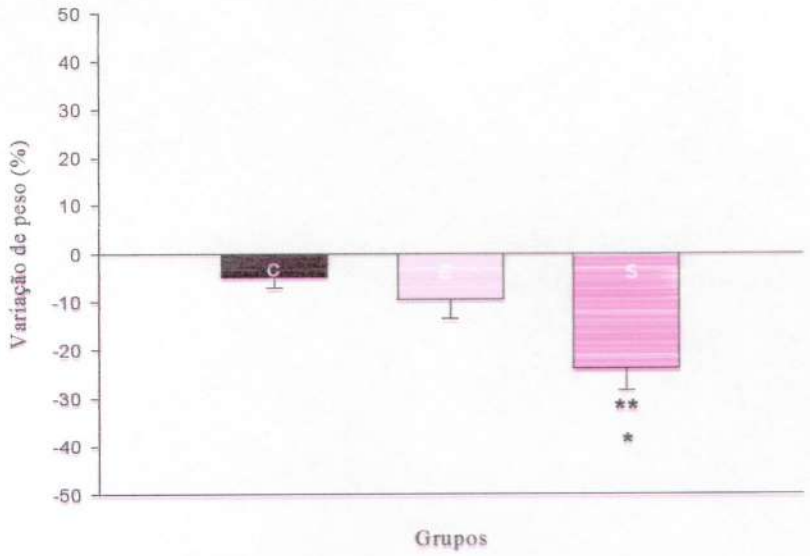


Figura 29: Comparação da variação percentual média (± EPM), do peso dos sagüis do grupo controle (C), do grupo enriquecido (E) e do grupo estresse (S), entre a fase pré e os tratamentos. ANOVA, grupo C *vs.* grupo S, * $p \leq 0,012$; grupo E *vs.* grupo S, ** $p \leq 0,049$.

Na análise *post hoc*, utilizando-se um teste Tukey, observou-se que o grupo estresse diminuiu substancialmente o percentual médio de peso (-23,87 ±13,79 %) em relação ao percentual médio de peso do grupo controle (-4,86 ±5,06%) e ao percentual médio de peso do grupo enriquecido (-9,55 ±10,64 %) (Figura 29). Não ocorreu diferença estatística entre os percentuais médios de variações de peso nos tratamentos, entre o grupo controle e o grupo enriquecido (p=0,73).

Por isso, se investigou através de um teste *t* pareado, se possíveis alterações nos pesos entre a fase pré e a fase do tratamento (Tabela 15), para cada grupo. O grupo enriquecido (t=2,546, gl=6, $p \leq 0,044$) e o grupo estresse (t=4,556 gl=8, $p \leq 0,002$) diminuíram significativamente o peso entre a fase pré e a fase pós-tratamento, mas o controle não apresentou alterações estatisticamente significativas (t=1,957, gl=2, $p \leq 0,10$).

HEMOGRAMA

Foi analisado o número de hemácias, leucócitos totais e a sub população leucocitária (linfócitos, monócitos, eosinófilos e segmentados).

Na fase pré os grupos não diferiram entre si quanto às hemácias, aos leucócitos totais, aos linfócitos, aos monócitos, aos segmentados e aos eosinófilos (Tabela 16). Comparando os grupos pelos deltas, isto é, pelas variações na concentração de células entre a fase pós e pré, também não foi detectada diferença significativa (Tabela 17).

Tabela 16: ANOVA, graus de liberdade (gl), valor de F e nível de significância (*p*) dos elementos figurados do sangue, na comparação entre os grupos experimentais (controle, enriquecido e estresse), na fase pré-tratamento.

Variáveis	gl	F	*p*
Hemácias	2	,932	,41
Eosinófilos	2	,919	,41
Linfócitos	2	,725	,49
Monócitos	2	,256	,77
Segmentados	2	,813	,45

Tabela 17: ANOVA, graus de liberdade (gl), valor de F e nível de significância (*p*) dos deltas dos elementos figurados do sangue (diferenças entre as médias pós e pré tratamentos), na comparação entre os grupos experimentais (controle, enriquecido e estresse).

Variáveis	gl	F	*p*
Hemácias	2	1,083	,36
Leucócitos	2	2,969	,08
Monócitos	2	1,922	,17
Linfócitos	2	,033	,96
Segmentados	2	,911	,42

Quando o perfil hematológico da fase pré foi comparado com a fase pós-tratamento em cada grupo, observou-se um aumento significativo na concentração de monócitos (Figura 30; grupo C, Z=-2,023, p=0,043; grupo E, Z=-2,366, p=0,018; grupo S, Z=-2,666, p=0,008). Também observou-se uma diminuição substancial na concentração dos linfócitos entre a fase pré e os tratamentos, para todos os grupos experimentais (Figura 31; grupo C, Z=-2,023, p=0,043; grupo E, Z=-2,201, p=0,028; grupo S, Z=-2,666, p=0,008). A concentração média de células segmentadas aumentou significativamente no grupo S (Z=-2,492, $p\leq$0,013), tendeu a aumentar no grupo E (Z=-1,859, $p\leq$0,063) e manteve-se praticamente estável no grupo C (Z=-0,405, p=0,68).

A concentração média de hemácias, leucócitos totais e eosinófilos, não se distinguiu estatisticamente no grupo controle (Tabela 18), no grupo enriquecido (Tabela 19) e no grupo estresse (Tabela 20), entre a fase pré e a fase dos tratamentos.

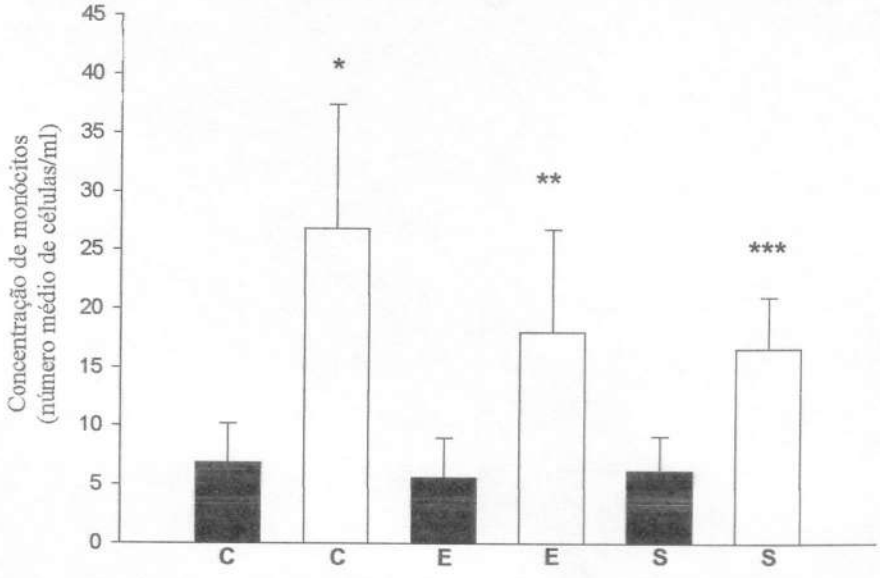


Figura 30: Concentrações médias (±EPM) de monócitos do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), na fase pré (barras negras) e nos tratamentos (barras vazias). * $p\leq$0,04; ** $p\leq$0,03; *** $p\leq$0,01; (Teste Wilcoxon).

Tabela 18: Estatística descritiva e valores de Z (Teste Kruskal-Wallis) para a comparação entre a fase pré e o tratamento, dos elementos figurados do sangue, do grupo controle.

	Hemácias (em 10^3 unidades/ml)	**Leucócitos (em 1000 unidades/ml)**	**Linfócitos (unidades/ mm^3)**	**Monócitos (unidades/ mm^3)**	**Segmentados (unidades/ mm^3)**	**Eosinófilos (unidades/ mm^3)**
Média e desvio-padrão na fase pré	5,9 ±1,14	17,38 ±20,53	48,16 ±20,89	6,83 ±3,31	44,66 ±19,53	0 0
Média e desvio-padrão na fase do tratamento	6,44 ±0,79	7,63 ±3,6	27,5 ±6,53	26,83 ±10,57	45,5 ±11,57	0,14 ±0,37
Z	-,406	-1,753	-2,023	-2,023	-,405	-1,000
$p\leq$ (bicaudal)	,684	,080	,043*	,043*	,686	,317

* significativamente diferente.

Tabela 19: Estatística descritiva e valores de Z (Teste Kruskal-Wallis) para a comparação entre a fase pré e o tratamento, dos elementos figurados do sangue, do grupo estresse.

	Hemácias (em 10^3 unidades/ml)	**Leucócitos (em 1000 unidades/ml)**	**Linfócitos (unidades/ mm^3)**	**Monócitos (unidades/ mm^3)**	**Segmentados (unidades/ mm^3)**	**Eosinófilos (unidades/ mm^3)**
Média e desvio-padrão na fase pré	6,02 ±0,75	10,17 ±3,5	59,0 ±19,49	6,22 ±2,9	34,22 ±17,15	0,22 ±0,44
Média e desvio-padrão na fase do tratamento	6,12 ±0,74	8,7 ±9,17	33,66 ±10,72	16,55 ±4,39	49,66 ±12,16	0 0
Z	-0,296	-1,245	-2,666	-2,666	-1,609	-1,414
$p\leq$ (bicaudal)	,76	,21	,008*	,008*	,108	,157

* significativamente diferente.

Tabela 20: Estatística descritiva e valores de Z (Teste Kruskal-Wallis) para a comparação entre a fase pré e o tratamento, dos elementos figurados do sangue, do grupo enriquecido.

	Hemácias (em 10^3 unidades/ml)	**Leucócitos (em 1000 unidades/ml)**	**Linfócitos (unidades/ mm^3)**	**Monócitos (unidades/ mm^3)**	**Segmentados (unidades/ mm^3)**	**Eosinófilos (unidades/ mm^3)**
Média e desvio-padrão na fase pré	5,38 ±1,01	6,78 ±4,04	56,42 ±0,1	5,57 ±3,4	37,42 ±7,95	0,28 ±0,48
Média e desvio-padrão na fase do tratamento	5,09 1,16	13,47 ±13,41	29,85 ±7,17	18 ±8,79	51 ±13,34	0,14 ±0,37
Z	-0,338	-1,521	-2,366	-2.201	-1,859	-0,577
$p\leq$ (bicaudal)	,73	,12	,01*	,02*	,06	0,56

* significativamente diferente.

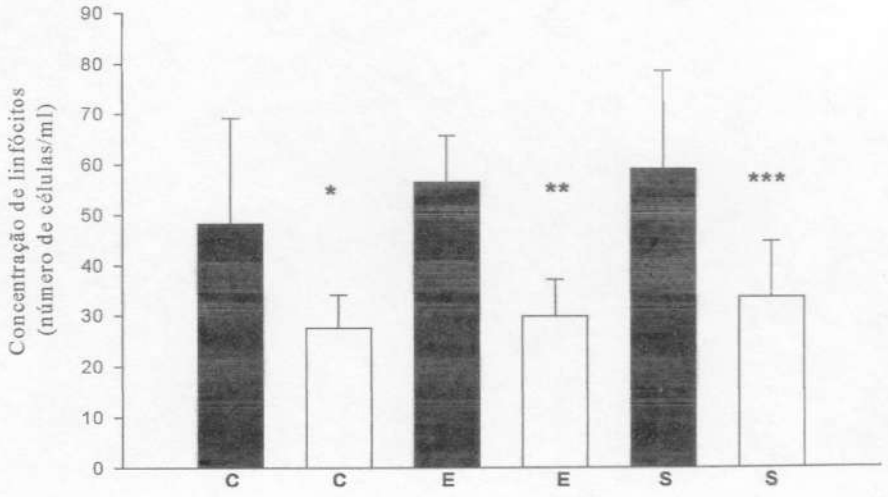


Figura 31: Concentrações médias (±EPM) de linfócitos do grupo controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), na fase pré (barras negras) e nos tratamentos (barras vazias). * $p \leq 0{,}043$; ** $p \leq 0{,}02$; *** $p \leq 0{,}01$; (Teste Wilcoxon).

TEMPERATURA TIMPÂNICA

Inicialmente se investigou se a temperatura timpânica (TT) do lado direito se diferenciava da TT do lado esquerdo, nos sujeitos de cada grupo e por fase do experimento (fase pré ou tratamento), por um teste *t* pareado. Em qualquer um dos grupos experimentais, as TT do lado direito não se diferenciaram do lado esquerdo (Tabela 21), tanto na fase pré como na fase do tratamento.

Quando a comparação foi das TT do mesmo lado, na fase pré e nos tratamentos, nos sujeitos de cada grupo, se observou no grupo enriquecido, um aumento significativo entre a TT esquerda da fase pré e a TT esquerda no tratamento (Figura 32 e Tabela 22). A TT direita deste grupo não revelou diferença entre as duas fases do experimento. Da mesma forma, nem o grupo controle ou o grupo estresse revelaram qualquer alteração entre as TT do mesmo lado, na fase pré e na fase dos tratamentos (Tabela 25).

Tabela 21: Médias (±EPM) das temperaturas timpânicas (TT) de cada lado, valores de t e níveis de significância (teste t pareado) da comparação bilateral das TT, de cada grupo experimental, em cada fase do experimento.

Grupo	Fase experimental	Média (° C)	± Erro Padrão da Média	*t*	gl (graus de liberdade)	p≤
Controle	Fase pré	TT direita: 39,25 TT esquerda: 39,18	,22 ,24	,292	5	,782
	Fase de tratamento	TT direita: 38,55 TT esquerda: 38,9	,27 ,60	-1,255	5	,265
Enriquecido	Fase pré	TT direita: 38,55 TT esquerda: 38,06	,28 ,40	1,699	6	,140
	Enriquecimento	TT direita: 39,15 TT esquerda: 39,27	,09 ,39	-1,400	6	,211
Estresse	Fase pré	TT direita: 38,1 TT esquerda: 38,21	,28 ,20	-,409	9	,692
	Estresse	TT direita: 38,03 TT esquerda: 38,41	,26 ,30	-1,380	8	,205

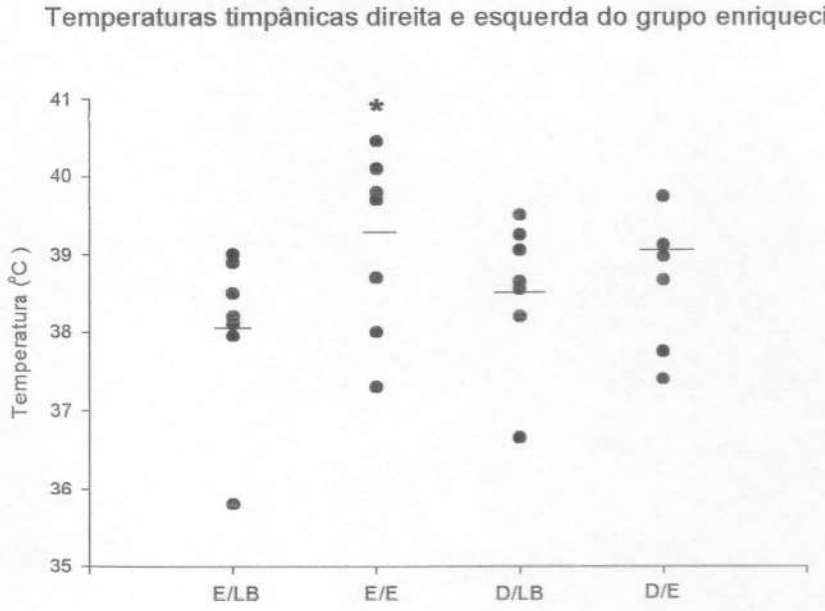


Figura 32: Temperatura timpânica média, esquerda (E), direita (D), na linha de base (LB) e no enriquecimento (E). * $p \leq 0{,}042$, bicaudal (teste t pareado). — médias das temperaturas timpânicas de cada lado, em cada fase.

Tabela 22: Valores de t (teste t pareado), graus de liberdade (gl) e nível de significância (p) das comparações das temperaturas timpânicas médias do mesmo lado, na fase pré e nos tratamentos.

	Comparação das temperaturas timpânicas médias entre a fase pré e pós	**t**	**gl**	**p≤ (bicaudal)**
Grupo controle	TT direita	1,276	5	,258
	TT esquerda	,654	5	,542
Grupo enriquecido	TT direita	-,436	6	,678
	TT esquerda	-2,576	6	,042*
Grupo estresse	TT direita	-,409	9	,692
	TT esquerda	-1,380	8	,205

* significativamente diferente.

Correlacionando-se (Correlação de Pearson) a TT direita com a TT esquerda em cada grupo e em cada fase do tratamento, observou-se que somente no grupo enriquecido, após o tratamento, é que ambas as TT de cada lado se correlacionaram positivamente e significativamente entre si (*rho*=0,77, N=7, $p \leq 0,042$). As demais comparações bivariadas, embora algumas vezes altas, não atingiram significância (Tabela 23).

Tabela 23: Correlações (Correlação de Pearson) bilaterais das temperaturas timpânicas em cada fase do estudo, de cada grupo experimental. *p*= nível de significância.

Grupo	Fase		Temperatura timpânica média esquerda
Controle	Fase pré	Temperatura timpânica média direita	*rho*=0,800 *p*=0,056 N=6
	Tratamento	Temperatura timpânica média direita	*rho*=0,534 *p*=0,275 N=6
Enriquecido	Fase pré	Temperatura timpânica média direita	*Rho*=0,727 .*p*=0,064 N=7
	Tratamento	Temperatura timpânica média direita	*Rho*=0,773 * *p*=0,042 N=7
Estresse	Fase pré	Temperatura timpânica média direita	*rho*=0,507 *p*=0,135 N=10
	Tratamento	Temperatura timpânica média direita	*Rho*=0,544 *P*=0,130 N=9

* significativamente diferente.

Investigou-se a temperatura retal, que poderia ser um parâmetro fisiológico para amparar a discussão sobre a TT e em relação ao próprio metabolismo dos sujeitos. Inicialmente a comparação visou identificar diferenças entre os grupos na fase pré e pós-tratamentos. A comparação por um teste ANOVA, indicou que na fase

pré não ocorreram diferenças ($F_{2,20}$=1,588, gl=2, p=0,229), mas ocorreram diferenças no pós-tratamento ($F_{2,18}$=3,740, gl=2, $p\leq$0,044). Na análise *post hoc* (teste Tukey), estas diferenças não ficaram evidentes, havendo uma tendência do grupo enriquecido e estresse de diferirem entre si p=0,076 (Tabela 24) .

Tabela 24: Níveis de significância (p) e erro padrão da média (±EPM), da comparação univariada entre os grupos experimentais, para a temperatura retal na fase dos tratamentos (Teste Tukey).

Comparação entre os grupos		±EPM	p≤
Controle	Enriquecido	,5204	,992
Controle	Estresse	,4957	,093
Enriquecido	Estresse	,4479	,076

Comparando-se a temperatura retal de cada grupo experimental na fase pré e nos tratamentos, observou-se que o grupo estresse (Figura 33) apresentou uma queda significativa (t=5,061, gl=8, $p\leq$0,001) da fase pré (média= 39,14 ±0,24 °C) para a fase de estresse (média= 38,23 ±0,21 °C). Ao contrário, nos grupos controle e enriquecido, não ocorreram diferenças significativas entre a fase pré (controle, média=39,66 ±0,14 °C; enriquecido, média=39,06 ±0,4 °C) e os tratamentos (controle, média=39,34 ±0,39 °C; enriquecido, média=39,27 ±0,39 °C) (controle, t=6,43, gl=4, $p\leq$0,555; estresse, t=-0,59, gl=6, $p\leq$0,576).

Correlacionou-se (Correlação de Pearson) a temperatura retal com a TT de ambos os ouvidos, em cada fase e em cada grupo. Não se observou correlação significativa no grupo controle da temperatura retal com as TT de cada lado, na fase pré e nos tratamentos (Tabela 25). No grupo enriquecido, ocorreu uma correlação positiva significativa entre a temperatura retal e a TT esquerda, tanto na fase pré como no enriquecimento (fase pré, *rho*=0,9, n=7, $p\leq$ 0,005; enriquecimento,

rho=0,98, n=7, $p \leq$ 0,0001). Por outro lado, não se observou uma correlação da temperatura retal com a TT direita, tanto na fase pré como no enriquecimento (Tabela 25).

Tabela 25: Correlações (Pearson) entre a temperatura retal e a temperatura timpânica em cada ouvido dos grupos experimentais, na fase pré e nos tratamentos. Índice de correção (rho), nível de significância (p) e tamanho da amostra (N).

Grupo	Fase		Média da temperatura timpânica direita	Média da temperatura timpânica esquerda
			rho	rho
			p≤	p≤
			N	N
Controle	Fase pré	Média da temperatura retal	,772	,716
			,072	,110
			6	6
	Tratamento	Média da temperatura retal	,317	,341
			,604	,575
			5	5
Enriquecido	Fase pré	Média da temperatura retal	,731	,908
			,062	,005
			7	7
	Tratamento	Média da temperatura retal	,694	,982
			,084	,000
			7	7
Estresse	Fase pré	Média da temperatura retal	,618	,643
			,057	,045
			9	9
	Tratamento	Média da temperatura retal	,509	,885
			,161	,002
			9	9

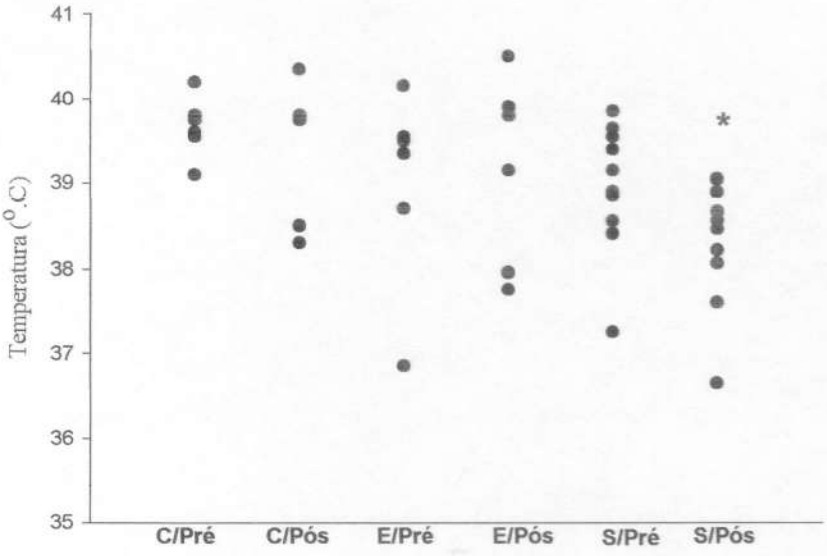


Figura 33: ANOVA das temperaturas retais dos grupos controle (C), enriquecido (E) e estresse (S), entre as fases pré e pós-tratamento. *grupo S pré *vs.* S pós, t=5,061, gl=8, $p \leq 0,001$.

No grupo estresse se observou uma correlação positiva e significativa da temperatura retal somente com a TT esquerda, tanto na fase pré como no estresse (fase pré, *rho*=0,64, n=10, $p \leq 0,45$; estresse, *rho*=0,97, n=10, $p \leq 0,0001$). Não se observou correlação significativa entre a temperatura retal e a temperatura timpânica direita, na fase pré ou no estresse (Tabela 25).

Em suma, a temperatura retal esteve correlacionada com a temperatura timpânica esquerda dos grupos E e S, tanto na fase pré como na pós, mas no grupo C não se observou qualquer correlação significativa. Por outro lado, a temperatura timpânica direita e a temperatura retal, não estiveram correlacionadas significativamente, tanto na fase pré como na fase pós.

Devido a estas assimetrias térmicas, investigou-se se havia uma dissociação entre as temperaturas timpânicas e a retal, comparando-se cada grupo, por um teste t pareado, em cada fase (pré e pós). O resultado foi ilustrativo de que a temperatura

retal foi significantemente maior do que a temperatura timpânica esquerda nos três grupos experimentais (grupo C, t =-2,79, gl= 5, p=0,038; grupo E, t=-5,76, gl= 6, p=0,001; grupo S, t =-3,68, gl= 9, p=0,005), mas somente na fase pré. Ainda na fase pré, a temperatura retal foi significativamente maior do que a temperatura timpânica direita do grupo S (t=-3,38, gl= 9, p=0,008), não diferindo nos grupos C (t=-0,41, gl= 5, p=0,18) e E (t=-0,51, gl= 6, p=0,11). Nas demais comparações, na fase pós, a temperatura retal não foi estatisticamente diferente das temperaturas timpânicas.

DADOS CLIMÁTICOS

Comparando-se o microclima do recinto experimental de estresse (R) com o pavilhão de alojamento do grupo C e E (P), por um teste t para amostras independentes, observou-se que a temperatura mínima média (Tmin: R=20,07±0,26 °C; P=18,29±0,22 °C) e umidade máxima média (Umax: R=95,96±0,54 %; P=99,00±0,0 %) foram significativamente extremas para o P em relação ao R (Tmin: t=-5,06, gl=52, $p\leq$0,0001; Umax: t=5,61, gl=52, $p\leq$0,0001). Ambos os recintos não se diferenciaram estatisticamente quanto à temperatura máxima média (Tmax de R=28,17±0,31 °C, Tmax de P=28,34±0,34 °C; t=0,37, gl=52, $p\leq$0,71) e a umidade mínima média (Umin de R=70,09±1,85 %, Umin de P=67,88±1,03%; t=-0,80, gl=52, $p\leq$0,42). Considerando que o problema climático nesta região do Planalto Central, são as mínimas de umidade e as máximas de temperatura ambiente (Eiten, 1978), acredita-se que os extremos de temperatura e umidade não tenham afetando criticamente o comportamento e a fisiologia dos sujeitos alojados em qualquer dos recintos. Além disso, a menor variação verificada no recinto de estresse, parece trazer mais estabilidade à homeostasia dos sujeitos ali alojados, quando comparado aos sujeitos no pavilhão de controle e enriquecimento.

CORRELAÇÕES ENTRE FISIOLOGIA E COMPORTAMENTO

Para melhor entender as relações entre a fisiologia e o comportamento, realizou-se uma investigação de correlação entre os deltas das variáveis fisiológicas e comportamentais. As correlações existentes entre as variáveis, podem indicar em que sentido, afinidade e magnitude elas se comportam, conforme os tratamentos

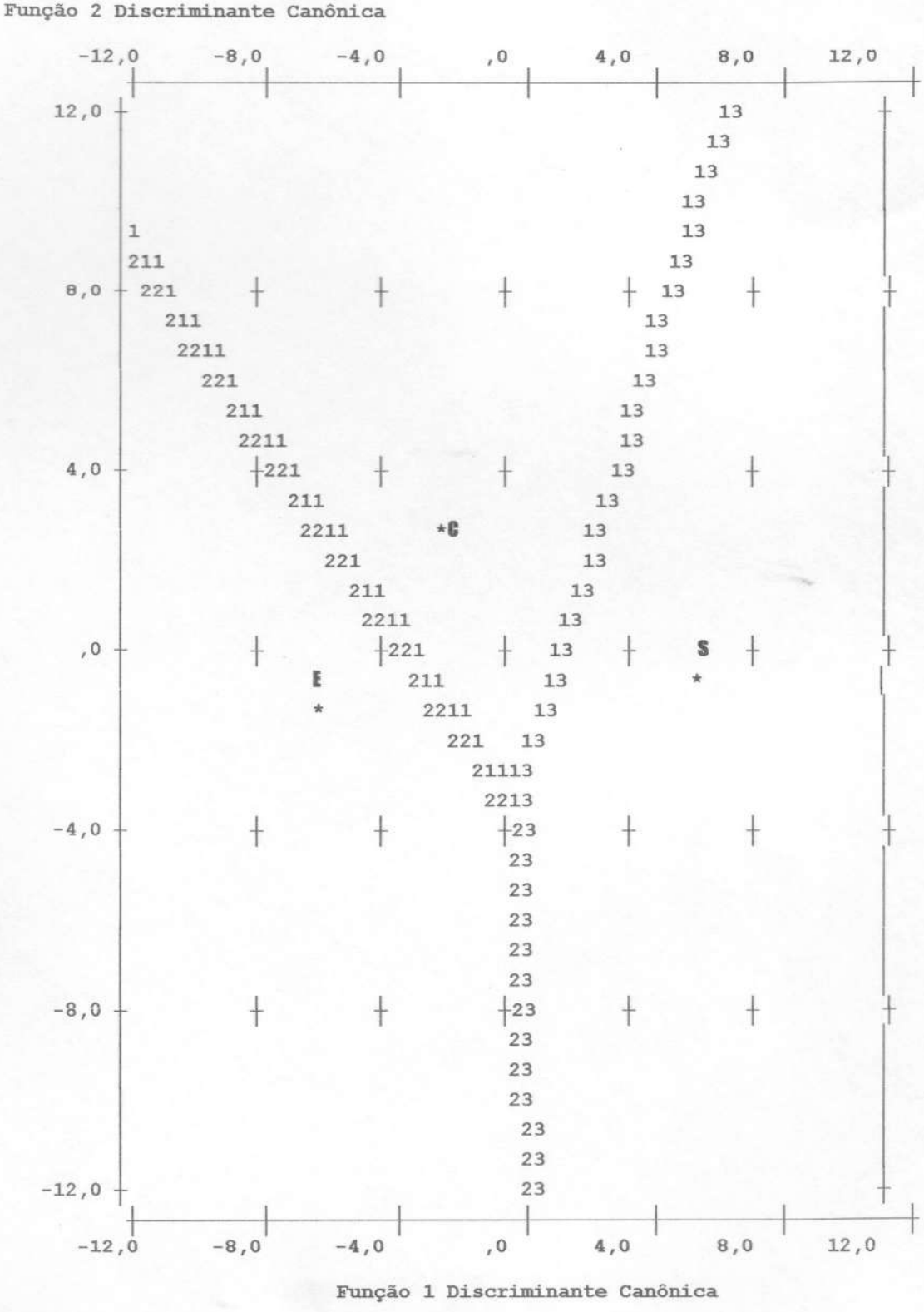
recebidos. As correlações, quando analisadas sob uma função de linearidade, pode indicar uma dependência entre duas variáveis. Foi a abordagem que realizou-se para tentar melhor entender os efeitos dos tratamentos sobre os sujeitos. Para efeitos práticos e limitação de espaço, serão detalhadas apenas aquelas correlações e regressões significativas.

Como elemento fisiológico básico do processo de regulação alostática e comportamental, especialmente considerando estresse, investigou-se se o cortisol plasmático possuía alguma correlação.

ANÁLISE MULTIVARIADA DOS GRUPOS NA FASE DOS TRATAMENTOS

Aplicou-se um teste de análise discriminante, considerando os deltas das seguintes variáveis: peso, glicemia, ácidos graxos livres, cortisol, hemácias, leucócitos, monócitos, linfócitos, segmentados, eosinófilos, temperatura timpânica esquerda, temperatura retal, descansar e marcar. As demais variáveis não foram aceitas no cômputo pela função. Com este teste pode-se visualizar como os grupos se distribuíram. Pela 1ª função canônica discriminante, que explicou 91,4% da variabilidade entre os grupos experimentais (Figura 34), pode-se observar que o grupo E (centróide E=6,244) está mais distante do grupo S (centróide S=-6,069) e mais próximo do grupo C (centróide C=-1,823). Por estes valores na Figura 34, pode se notar que o grupo E encontra-se mais próximo do grupo C do que em relação ao grupo S. Em conjunto, este quadro indica que o grupo S se diferenciou mais proeminentemente em relação aos dois outros grupos experimentais. Por sua vez, o grupo C pareceu ficar intermediário e diametralmente oposto ao grupo E por um lado, e ao grupo S pelo outro.

Figura 34: Mapa Territorial da Análise Discriminante, pelos deltas das variáveis selecionadas (ver texto), do grupo controle (C ou 1), enriquecido (E ou 2) e estresse (S ou 3), na fase pós-tratamento. * representa os grupos centróides de cada grupo.



3.14 TESTE NO LABIRINTO NA FASE DE HABITUAÇÃO

Na fase de habituação, aplicaram-se testes não paramétricos Kruskal-Wallis para verificar se ocorreram diferenças nos comportamentos selecionados, que indicassem atividade e reação emocional: ambulação, descansar explorar, marcação, agonismo e coçar. A abordagem visou analisar a ontogenia da habituação na exploração livre do labirinto, comparando cada grupo, nos comportamentos selecionados, em cada sessão de observação.

1ª. Sessão: não ocorreram diferenças significativas em quaisquer dos comportamentos: ambulação (X^2= 4,09, gl=2, p=0,12) (Figura 26), descansar (X^2= 2,00, gl= 2, p=0,36) (Figura 27), explorar (X^2= 4,68, gl=2, p=0,09) (Figura 28), coçar (X^2= 2,21, gl=2, p=0,33) (Figura 29), marcar (X^2= 1,56, gl=2, p=0,45) (Figura 30) e agonísticos (X^2= 4,44, gl=2, p=0,11) (Figura 31).

2ª. Sessão: não ocorreram diferenças significativas em quaisquer dos comportamentos: ambulação (X^2= 2,97, gl=2, p=0,22) (Figura 26), descansar (X^2= 1,85, gl= 2, p=0,39) (Figura 27), explorar (X^2= 0,83, gl=2, p=0,65) (Figura 28), coçar (X^2= 1,92, gl=2, p=0,91) (Figura 29), marcar (X^2= 3,09, gl=2, p=0,21) (Figura 30) e agonismo (X^2= 1,23, gl=2, p=0,56) (Figura 31).

3ª. Sessão: não ocorreram diferenças significativas nos comportamentos: ambulação (X^2= 1,78, gl=2, p=0,41) (Figura 26), descansar (X^2= 1,29, gl= 2, p=0,52) (Figura 27), coçar (X^2= 1,38, gl=2, p=0,49) (Figura 29), marcar (X^2= 1,52, gl=2, p=0,46) (Figura 30) e agonismo (X^2= 2,50, gl=2, p=0,28) (Figura 31). Entretanto, explorar foi significantemente diferente entre os grupos (X^2= 10,54, gl=2, p=0,005). Analisando-se grupo contra grupo, por um teste U Mann-Whitney, detectou-se um maior tempo de explorar (31,01±11,43 s) do grupo E (Figura 28), em relação ao grupo C (5,65±1,35 s; n_C= 6, n_E= 7, U = 2,0, p=0,007) e ao grupo S (4,48±1,95 s; n_E= 7, n_S= 8, U = 4,0, p=0,005) (Figura 28). Entre o grupo C e grupo S não ocorreram diferenças significativas no explorar (n_C= 6, n_S= 8, U = 54,0, p=0,43).

4ª. Sessão: não ocorreram diferenças significativas nos comportamentos: ambulação (X^2= 2,13, gl=2, p=0,34) (Figura 26), descansar (X^2= 2,0, gl= 2, p=0,36) (Figura 27), coçar (X^2= 1,20, gl=2, p=0,54) (Figura 29), marcar (X^2= 2,03, gl=2, p=0,36) (Figura 30)e agonismo (X^2= 0,0, gl=2, p=0,0) (Figura 31). Entretanto, explorar foi significantemente diferente entre os grupos (X^2= 6,01, gl=2, p=0,05)

(Figura 28). Analisando-se grupo contra grupo, por um teste *U* Mann-Whitney, detectou-se um significativo maior tempo de explorar (19,02±5,67 s) do grupo E (Figura 28), em relação ao grupo S (3,36±1,61 S; n_E= 7, n_S= 8, *U* = 8,0, *p*=0,018). Não se observou diferenças significativas entre o grupo C (7,01±4,29 s) e o grupo E (n_C= 6, n_E= 7, *U* = 10,50, *p*=0,13) e nem entre o grupo C e o grupo S n_C= 7, n_S= 8, *U* = 17,0, *p*=0,41).

5ª. Sessão: não ocorreram diferenças significativas nos comportamentos: ambulação (X^2= 1,23, gl=2, *p*=0,54) (Figura 26), coçar (X^2= 2,99, gl=2, *p*=0,22) (Figura 29), marcar (X^2= 1,46, gl=2, *p*=0,48) (Figura 30) e agonismo (X^2= 0,0, gl=2, *p*=0,0) (Figura 31). Entretanto, descansar (Figura 27) e explorar (Figura 28) foram diferentes entre os grupos (descansar: X^2= 8,27, gl=2, *p*=0,016; explorar: X^2= 8,18, gl=2, *p*=0,017).

Analisando-se grupo contra grupo, por um teste Mann-Whitney, detectou-se um maior tempo de explorar do grupo C (18,02±4,43 s) em relação ao grupo S (5,10±1,99 S; n_C= 6, n_S= 8, *U* = 7,0, *p*=0,028). O grupo E (23,68±6,30 s) também explorou significativamente mais do que o grupo S (n_E= 7, n_S= 8, *U* = 6,0, *p*=0,11). O grupo C e o grupo E não se diferenciaram estatisticamente (n_C= 6, n_E= 7, *U* = 17,0, *p*=0,56).

O grupo C foi o único em que se observou descansar nesta sessão (3,32±1,51 s), por isso se diferenciou significativamente do grupo E (n_C= 6, n_E= 7, *U* = 10,50, *p*=0,042) e do grupo S (n_C= 6, n_S= 8, *U* = 12,0, *p*=0,031) (Figura 27).

6ª. Sessão: não ocorreram diferenças significativas em quaisquer dos comportamentos: ambulação (X^2= 4,68, gl=2, *p*=0,096) (Figura 26), descansar (X^2= 2,00, gl= 2, *p*=0,36) (Figura 27), explorar (X^2= 0,67, gl=2, *p*=0,71) (Figura 28), coçar (X^2= 3,26, gl=2, *p*=0,19) (Figura 29), marcar (X^2= 4,80, gl=2, *p*=0,091) (Figura 30) e agonismo (X^2= 0,0, gl=2, *p*=0,0) (Figura 31).

7ª. Sessão: não ocorreram diferenças significativas nos comportamentos: ambulação (X^2= 3,21, gl=2, *p*=0,20) (Figura 26), explorar (X^2= 2,51, gl=2, *p*=0,28) (Figura 27), coçar (X^2= 5,21, gl=2, *p*=0,074) (Figura 29), marcar (X^2= 4,43, gl=2, *p*=0,11) (Figura 30) e agonismo (X^2= 1,85, gl=2, *p*=0,39) (Figura 31). Entretanto, descansar foi significantemente diferente entre os grupos (X^2= 6,72, gl=2, *p*=0,035) (Figura 27). Esta diferença esteve relacionada ao maior descansar do grupo C (12,71±6,69 s) em relação à ausência de descansar do grupo E (n_C= 6, n_E= 7, *U* = 7,0,

p=0,015). Em relação ao descansar, o grupo C não se diferenciou significativamente do grupo S (13,61±13,61; n_C= 6, n_S= 8, U=12,0, p=0,14). Da mesma forma, o grupo E não se diferenciou do grupo S (n_E= 7, n_S= 8, U = 21,0, p=0,31.

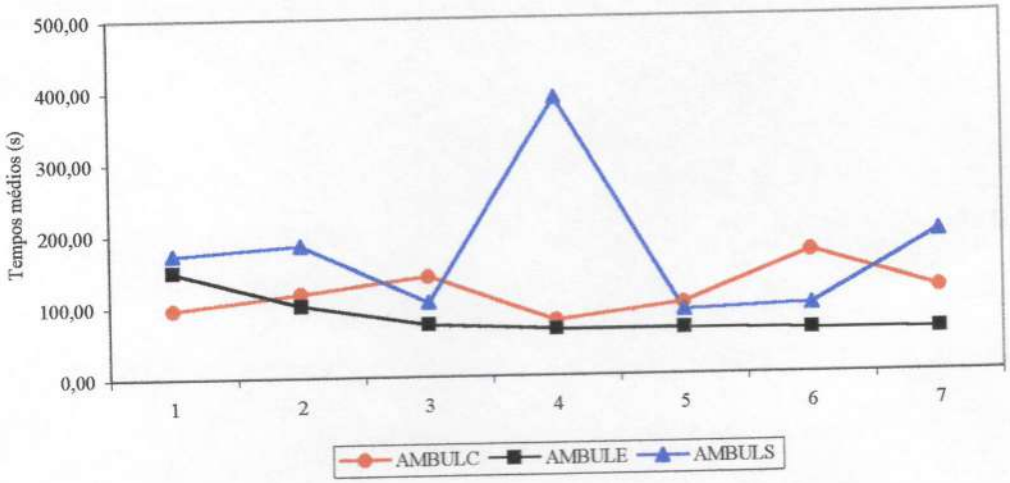


Figura 26: Distribuição do tempo médio do comportamento de ambulação, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo das abscissas), dos grupos controle (AMBULC), enriquecido (AMBULE) e estresse (AMBULS).

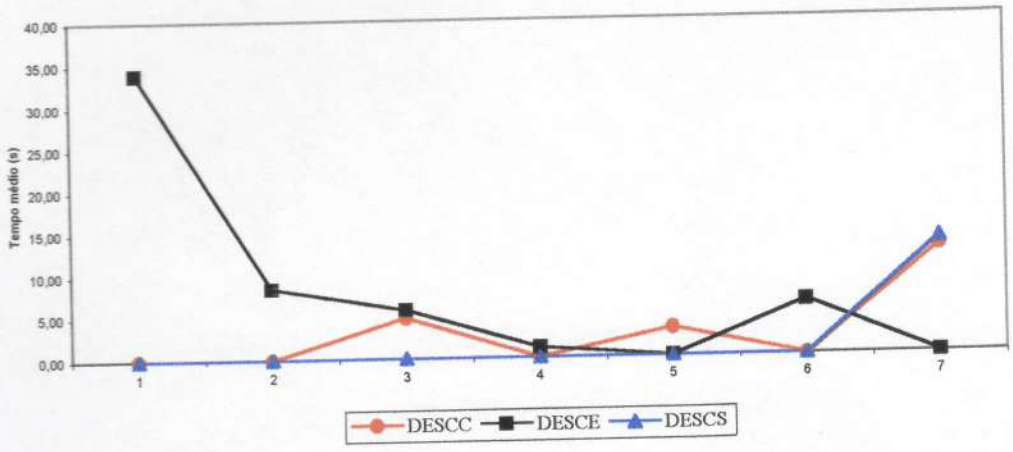


Figura 27: Distribuição do tempo médio do comportamento de descansar, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (DESCC), enriquecido (DESCE) e estresse (DESCS). * C *vs.* E: U = 10,50, p=0,042; C *vs.* S: U = 12,0, p=0,031. ** C *vs* E: U = 7,0, p=0,015. Teste U de Mann-Whitney.

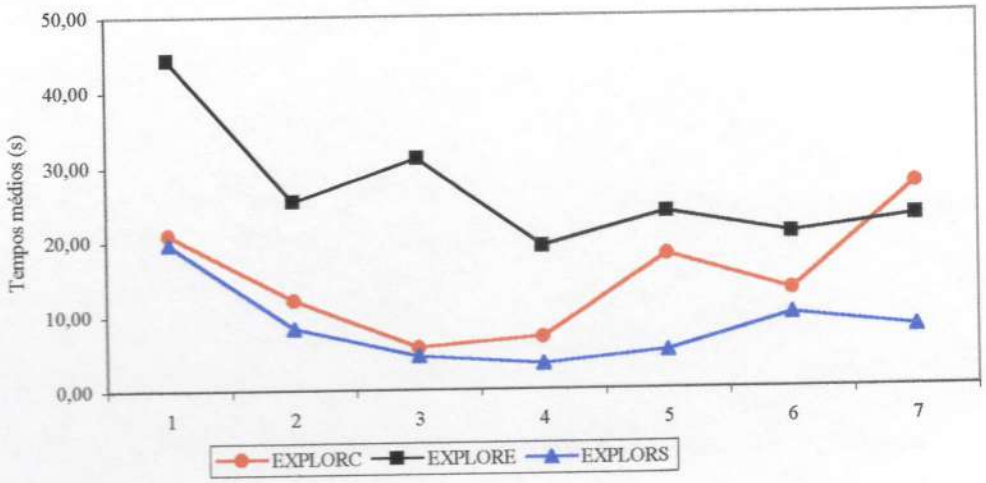


Figura 28: Distribuição do tempo médio do comportamento de explorar, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (EXPLORC), enriquecido (EXPLORE) e estresse (EXPLORS). Valores no eixo das ordenadas representam os tempos médios em segundos. * E *vs.* C: $U = 2,0$, p=0,007; E *vs.* S: $U = 4,0$, p=0,005. ** E *vs* S: $U = 8,0$, p=0,018. *** C vs S: E *vs* S: $U = 8,0$, p=0,018; E *vs* S: $U = 6,0$, p=0,11; Teste U de Mann-Whitney.

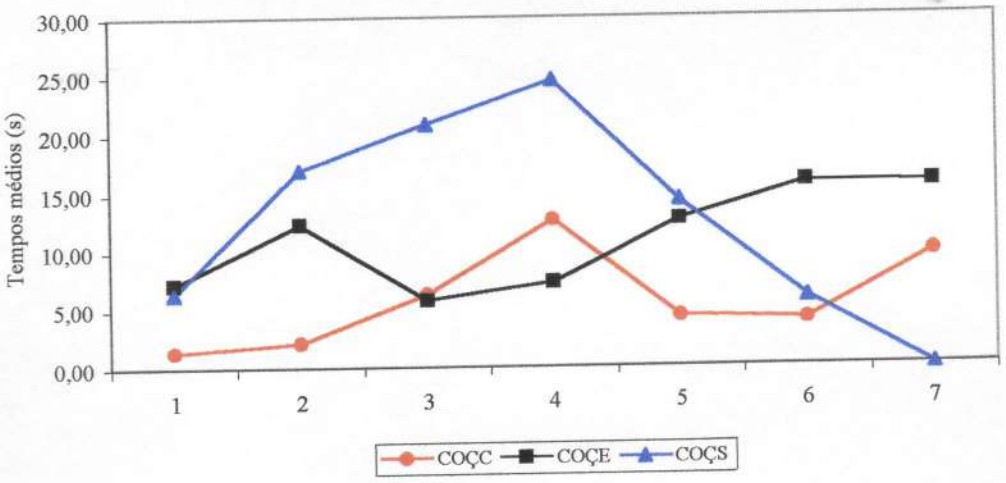


Figura 29: Distribuição do tempo médio do comportamento de coçar, entre as 7 sessões de habituação no labirinto (eixo das abscissas), dos grupos controle (COÇC), enriquecido (COÇE) e estresse (COÇS).

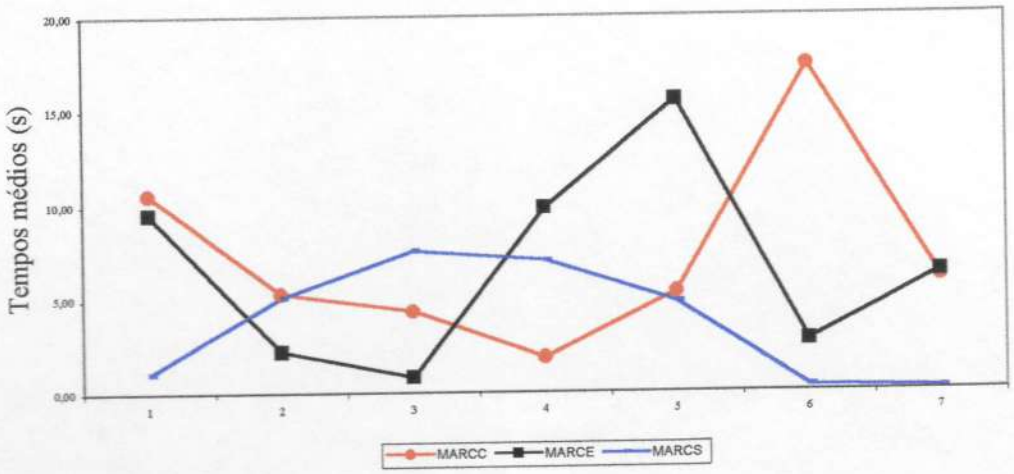


Figura 30: Distribuição do tempo médio do comportamento de marcar, entre as sete sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (MARCC), enriquecido (MARCE) e estresse (MARCS).

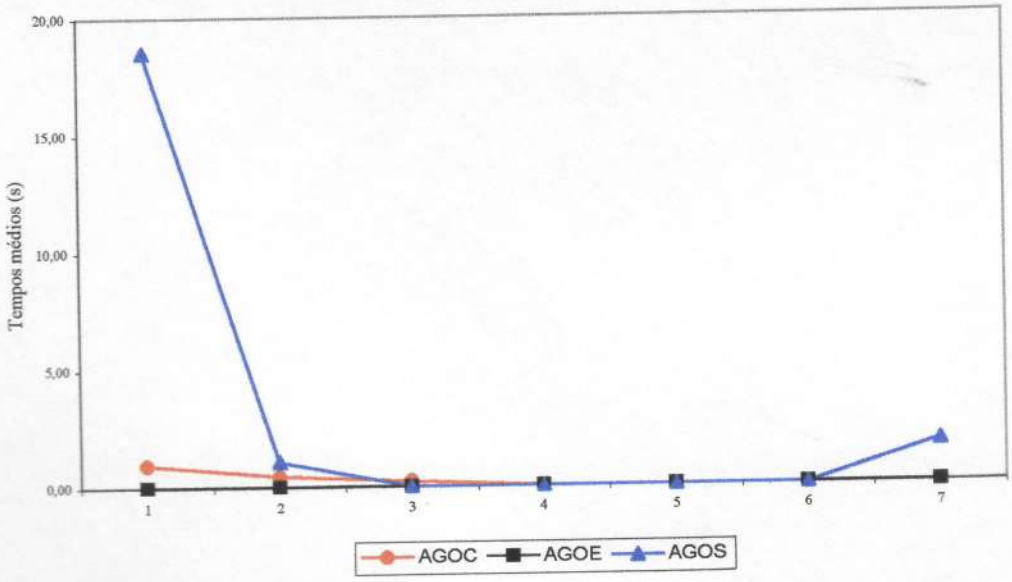


Figura 31: Distribuição do tempo médio dos comportamentos agonísticos, entre as sete sessões de habituação no labirinto (eixo X), dos grupos controle (AGOC), enriquecido (AGOE) e estresse (AGOS).

3.15 LATÊNCIA E ERROS DE SAÍDA DO LABIRINTO

Os grupos apresentaram diferentes latências de saída espontânea do labirinto na fase de habituação (qui-quadrado= 20,648, gl= 2, $p \leq 0,0001$). Analisando como os grupos se diferenciaram, observou-se que o tempo médio de latência do grupo estresse (média=86,68 ±45,87 s), foi substancialmente maior do que a latência do grupo controle (média=29,88 ±40,58 s; n_C= 18, n_S= 19, U=53,0, $p \leq 0,0001$) e do que o grupo enriquecido (média=31,84 ±41,66 s; n_E = 18, n_S= 22, U=68,5, $p \leq 0,0001$) (Figura 32). O grupo controle e o grupo enriquecido não se diferenciaram entre si (n_C= 19, n_E= 22, U=628,5, $p \leq 0,605$).

A porcentagem de erros de saída do labirinto, isto é, a porcentagem de vezes que os sujeitos não conseguiram sair espontaneamente do labirinto para o recinto de recaptura, dentro do prazo de 120 s, tempo máximo permitido, no total de sessões observadas, foi estatisticamente diferenciada entre os grupos (qui-quadrado = 17,950, gl= 2, $p \leq 0,0001$). Esta diferença se deveu à maior porcentagem de erros do grupo estresse, em relação ao grupo controle (n_C= 18, n_S= 22, U=92,0, $p \leq 0,0001$) e ao grupo enriquecido (n_E= 19, n_S= 22, U=107,5, $p \leq 0,001$) (Figura 33). Entre o grupo controle e o grupo enriquecido não ocorreram diferenças estatísticas (n_C= 18, n_E= 19, U=162,5, $p \leq 0,58$).

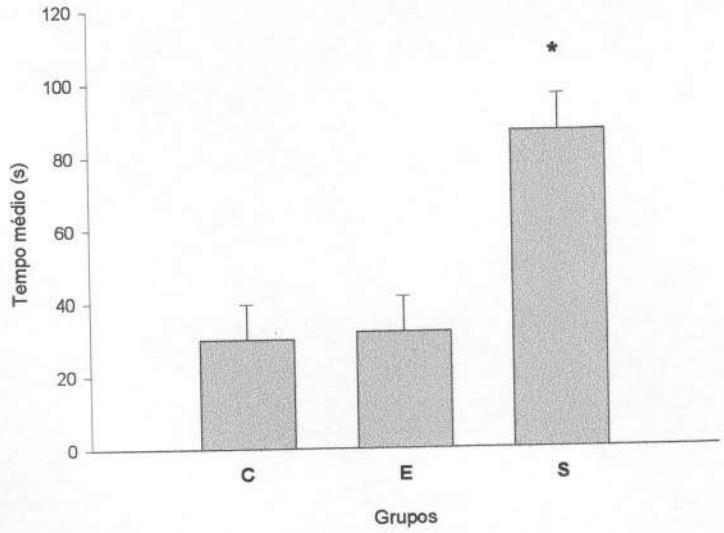


Figura 32: Tempo médio de latência (±EPM) de saída expontânea do labirinto na fase de habituação, do grupo controle (C), do grupo enriquecido (E) e do grupo estresse (S). S *vs* C e S *vs*. E: *$p \leq$ 0,0001

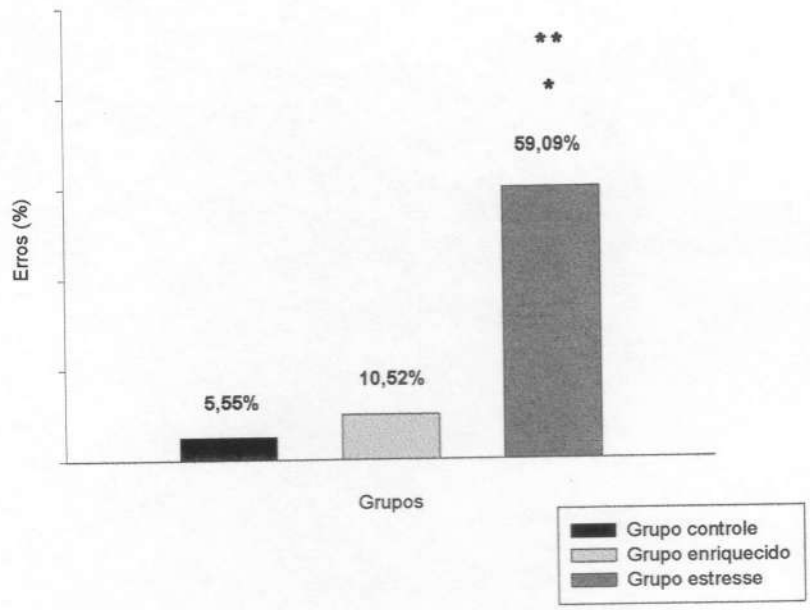


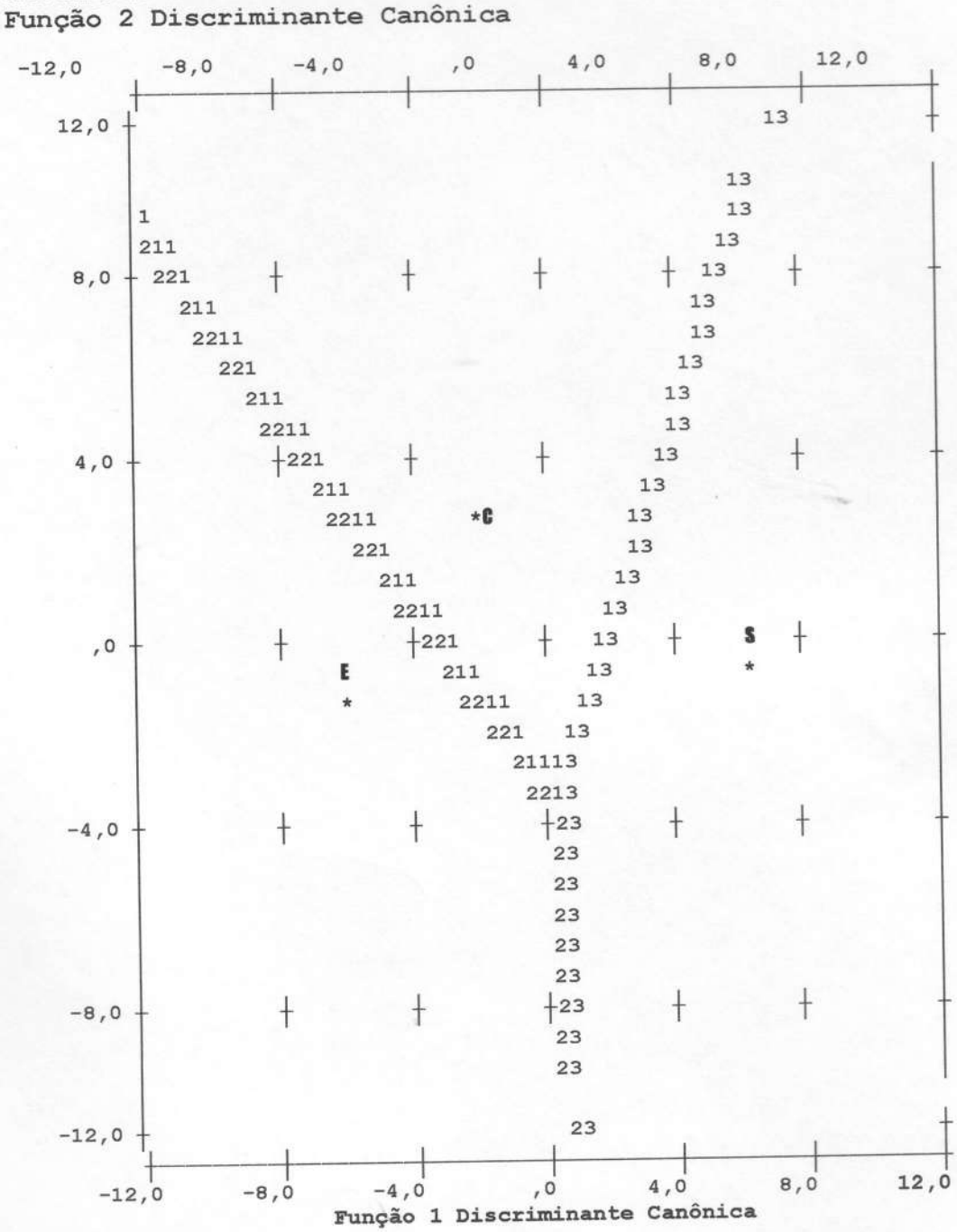
Figura 33: Porcentagem de erros de saída espontânea do labirinto, na fase de habituação. * S *vs.* C: U=92,0, $p \leq 0,0001$; S *vs.* E: ** U=107,5, $p \leq 0,001$. Teste U Mann-Whitney.

3.16 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS GRUPOS NA FASE DE HABITUAÇÃO AO LABIRINTO

Aplicou-se um teste de análise discriminante, considerando os tempos médios absolutos das seguintes variáveis comportamentais: ambulação, parar, descansar, explorar, coçar, marcar e agonismo. Adicionou-se ainda na análise, a latência de saída do labirinto, uma medida pertinente para o processo de habituação. Todas estas variáveis selecionadas foram aceitas no cômputo pela função. Com este teste pode-se visualizar como os grupos se distinguiram no processo de habituação ao labirinto. Pela 1ª função canônica discriminante, que explicou 84,7% da variabilidade entre os grupos experimentais (Figura 34), pode-se observar que o grupo E (centróide E=0,861) está mais distante do grupo S (centróide S=-1,197) e mais próximo do grupo C (centróide C=0,488). Portanto, pode se interpretar que o grupo E encontra-se mais próximo do grupo C do que em relação ao grupo S. Em conjunto, este quadro indica que o grupo S se diferenciou mais em relação aos dois outros dois grupos

experimentais. Por sua vez, o grupo C pareceu ficar intermediário entre o grupo E o grupo S.

Figura 34: Mapa Territorial da Análise Discriminante, pelos deltas das variáveis selecionadas (ver texto), do grupo controle (C ou 1), enriquecido (E ou 2) e estresse (S ou 3), na fase pós. Os grupos centróides estão representados na figura como: C= 0,488, E=0,861 e S=-1,197. A Função 1 Discriminante Canônica está relacionada pelo eixo das abscissas. A Função 2 Discriminante Canônica está relacionada pelo eixo das ordenadas.



3.17 EFEITOS DA BUSPIRONA NO LABIRINTO EM OITO E EXPOSIÇÃO AO PREDADOR

Inicialmente comparou-se os padrões comportamentais relevantes entre os grupos (movimentar, parar, descansar, explorar, coçar, marcar e agonismo) em cada dose administrada de buspirona e salina.

Considerando as diferenças dentro de cada grupo experimental, em relação às doses de buspirona e salina, não se detectou para o grupo C, qualquer efeito significativo nos comportamentos, ao se aplicar um teste t pareado. Entretanto, no grupo C, pode se observar uma tendência ao maior tempo médio de ambulação sob o efeito da dose de 0,5 mg/Kg (113,88±24,36 s) em relação à dose de 1,0 mg/Kg (44,44±19,85 s; gl=4, t=2,58, p=0,061) (Figura 35).

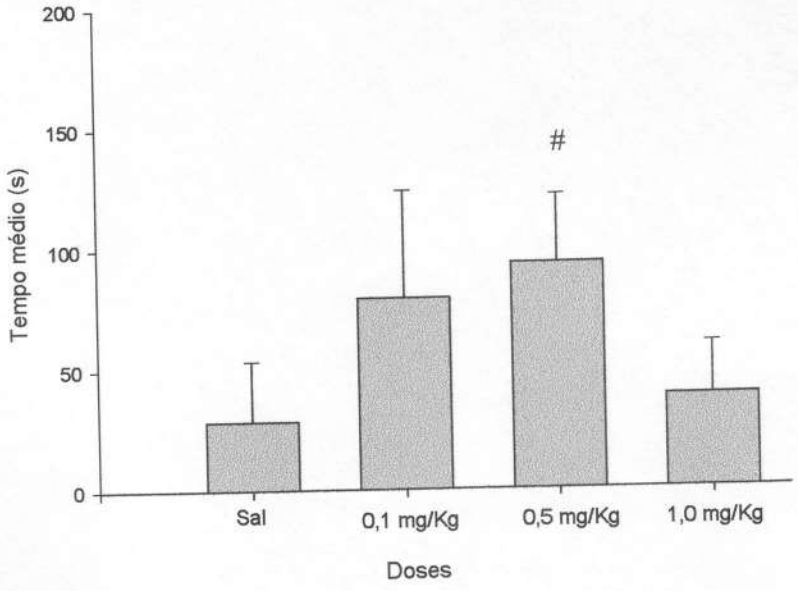


Figura 35: Efeito de diferentes doses de buspirona e salina, no teste do labirinto em oito com exposição ao predador, no grupo controle. Teste t pareado: # indica uma tendência, de 0,5 mg/Kg *vs.* 1,0 mg/Kg, t=2,58, p=0,061.

Quando a comparação entre as doses foi avaliada no grupo E, pode-se observar um tempo de exploração significativamente superior na condição salina (41,58±17,14 s) em relação à dose de 0,5 mg/Kg (20,10±14,61 s; gl=6, t=3,14, p=0,020) (Figura 36). Na condição salina comparada com a dose de 1,0 mg/Kg (4,81±1,85 s), foi possível detectar uma forte tendência de menor tempo de exploração nesta última condição (gl=6, t=2,24, p=0,066). Entre as condições sob efeito da droga, se observou que o tempo de exploração tendeu a ser significativamente maior na dose de 0,1 mg/Kg (28,03±17,00 s), em relação à dose de 0,5 mg/Kg (gl=6, t=2,16, p=0,073). Nas demais doses e nos outros comportamentos, não se observou diferenças significativas no grupo E.

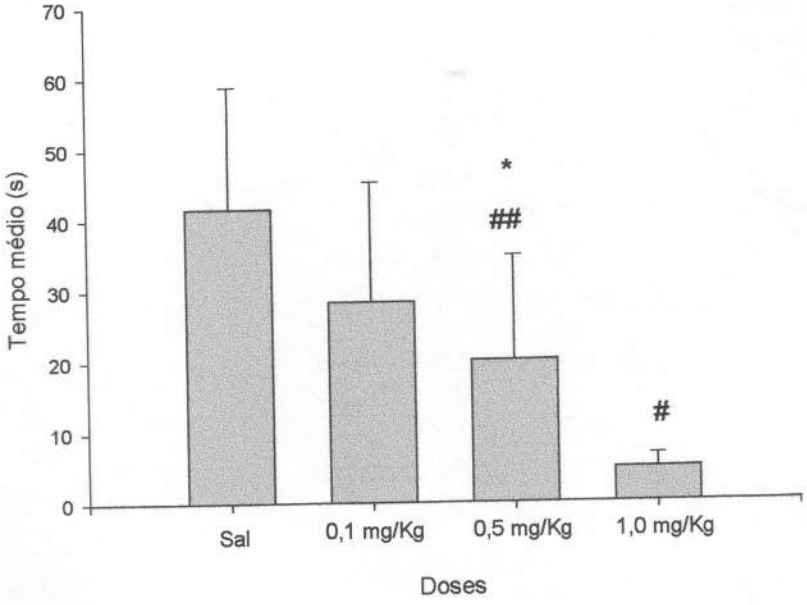


Figura 36: Efeitos da administração de buspirona ou salina no grupo enriquecido, para o comportamento de explorar.* Salina *vs.* 0,5 mg/Kg: t= 3,14, p=0,020, # sinaliza tendência de Salina *vs.* 1,0 mg/Kg: t= 2,24, p=0,066. ## sinaliza tendência de 0,1 mg/Kg *vs.* 0,5 mg/Kg: t= 2,16, p=0,073.

Na comparação comportamental entre as doses no grupo S, não se observou qualquer diferença significativa. Contudo, foi possível se observar uma tendência

(Figura 37) do grupo S em explorar mais na dose de 1,0 mg/Kg (4,33±1,37 s), em relação à dose de 0,1 mg/Kg (1,19±0,91 s; gl=6, t=-2,41, p=0,060).

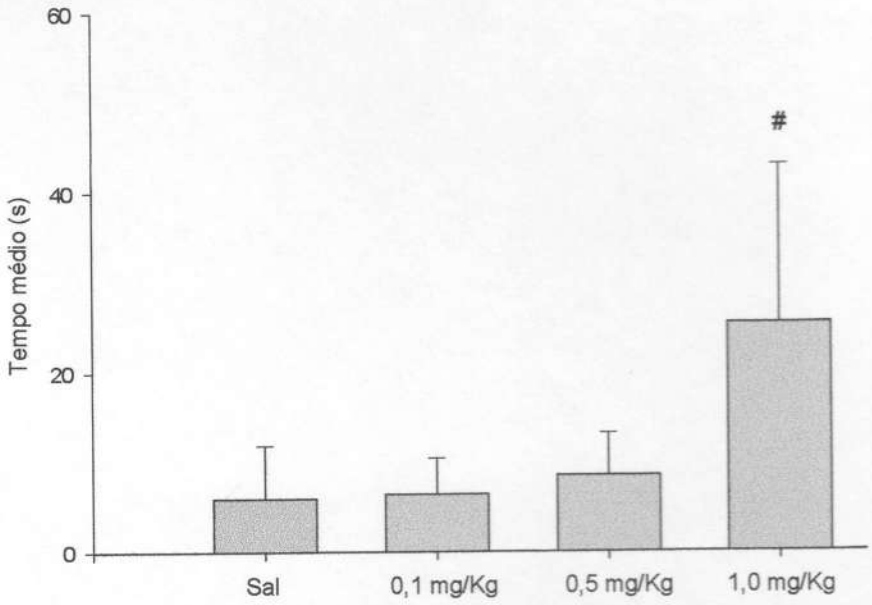


Figura 37: Efeitos da administração de buspirona ou salina no grupo estresse, para o comportamento de explorar. # indica uma tendência, de 1,0 mg/Kg vs. 0,1 mg/Kg,: t=-2,41, p=0,060.

A seguir, comparou-se os grupos experimentais, em cada dose de buspirona e salina, por um teste ANOVA e Tukey *post hoc*, utilizando-se **o tempo absoluto médio de permanência no quadrante mais próximo do predador (QP)**, em cada grupo. Este tipo de abordagem, computando a proximidade ao predador pelo quadrante mais próximo, permite a avaliação mais precisa de possíveis efeitos ansiolíticos no teste do labirinto em oito com exposição ao predador, particularmente buspirona (BARROS *et al.*, 2000; BARROS *et al.*, 2001).

Os grupos experimentais se diferenciaram significativamente somente na dose de 1,0 mg/Kg de buspirona (F=3,73, gl=2, p=0,047), não atingindo significância na dose de 0,1 mg/Kg (F=0,54, gl=2, p=0,59), de 0,5 mg/Kg (F=0,19, gl=2, p=0,82) e nem de salina (F=0,36, gl=2, p=0,70). Por um teste *post hoc* Tukey, pode-se identificar que as diferenças foram limitrofes, indicando que o grupo E

(150,18±51,58 s) tendeu a permanecer mais tempo no quadrante QP (Figura 38) em relação ao grupo C (33,22±23,94 s; p=0,074) e ao grupo S (36,87±21,44 s; p=0,072), sob o efeito da dose de 1,0 mg/Kg de buspirona.

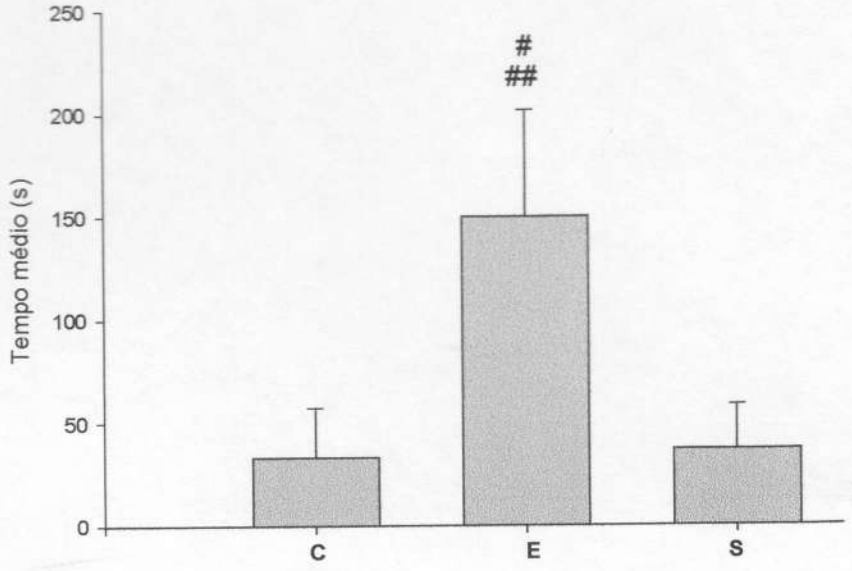


Figura 38: Efeitos da administração de buspirona, na proximidade do predador, entre os grupos, na dose de 1,0 mg/Kg. E *vs.* C: # sinaliza uma tendência de p=0,074 . E *vs.* S: ## sinaliza uma tendência de p=0,072.

Na análise dos grupos experimentais, aplicou-se um teste t pareado, em relação aos efeitos de cada dose de buspirona, dentro de cada grupo experimental. No grupo C pode-se detectar um efeito significativo de maior tempo médio de permanência no quadrante QP com a dose de 0,5 mg/Kg (94,17±31,88 s) em relação à dose de 1,0 mg/Kg (33,22±23,94 s; gl=5, t=2,80, p=0,038) (Figura 39). Nas demais comparações no grupo C, entre doses e salina, não ocorreram diferenças significativas.

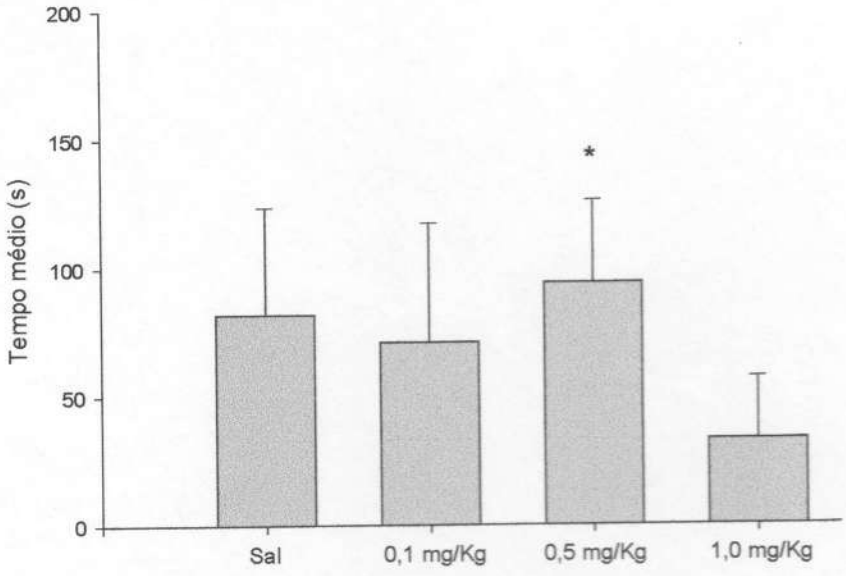


Figura 39: Efeitos da administração de buspirona ou salina à proximidade ao predador, no grupo controle. Dose de 0,5 mg/Kg vs. 1,0 mg/Kg: * t=2,80, p=0,038.

No grupo E, paradoxalmente, pode-se detectar um efeito significativo de menor tempo médio de permanência no quadrante QP com a dose de 0,5 mg/Kg (81,49±30,51 s) em relação à salina (139,19±39,04 s; gl=6, t=2,72, p=0,034) (Figura 40). Houve uma forte tendência de maior permanência no quadrante QP com a dose de 1,0 mg/Kg (150,18±51,58 s) em relação à dose de 0,5 mg/Kg (gl=5, t=-2,32, p=0,068) (Figura 40). Não ocorreram diferenças significativas nas demais comparações entre doses e salina, no grupo E.

No grupo S não se detectou qualquer diferença significativa de maior permanência no quadrante QP, em qualquer das doses de buspirona e de salina (Figura 41).

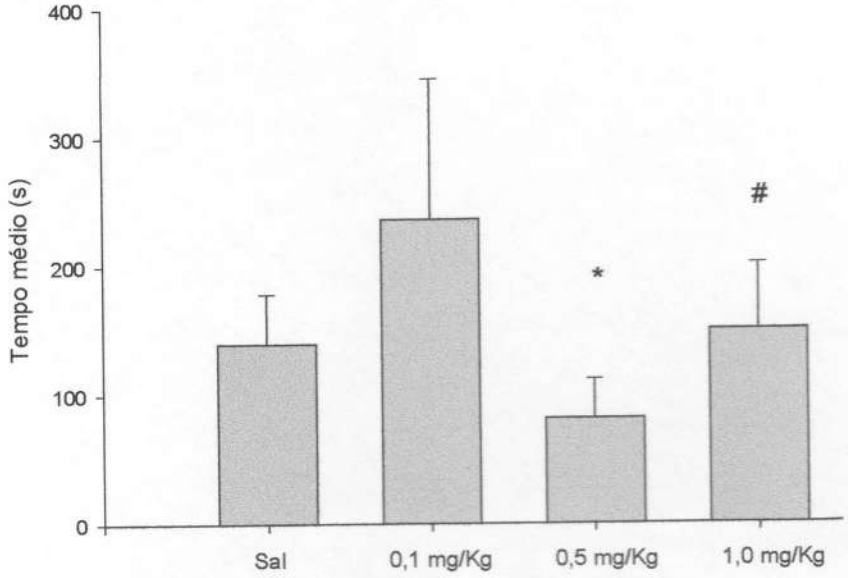


Figura 40: Efeitos da administração de buspirona ou salina à proximidade ao predador, no grupo enriquecido. Dose de 0,5 mg/Kg vs. salina: * t=2,72, p=0,034. Dose de 0,5 mg/Kg vs. 1,0 mg/Kg: #=-2,32, p=0,068.

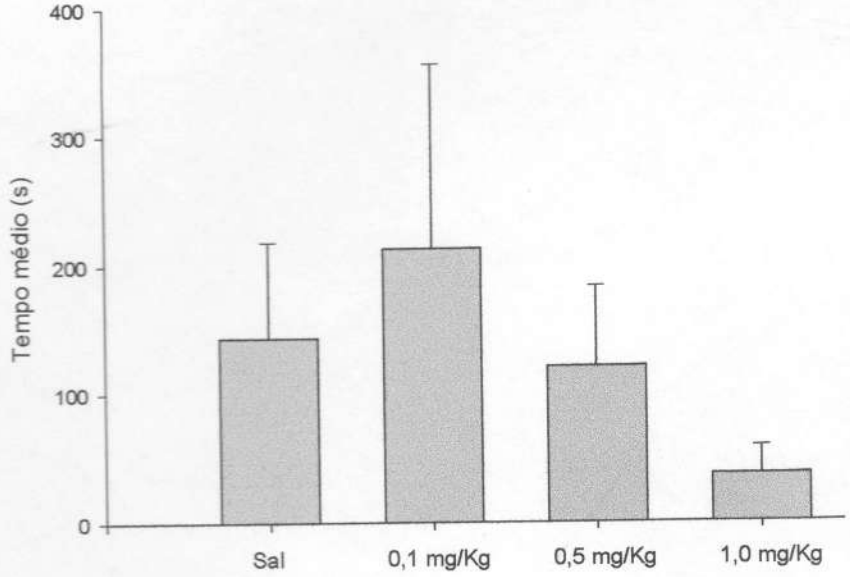
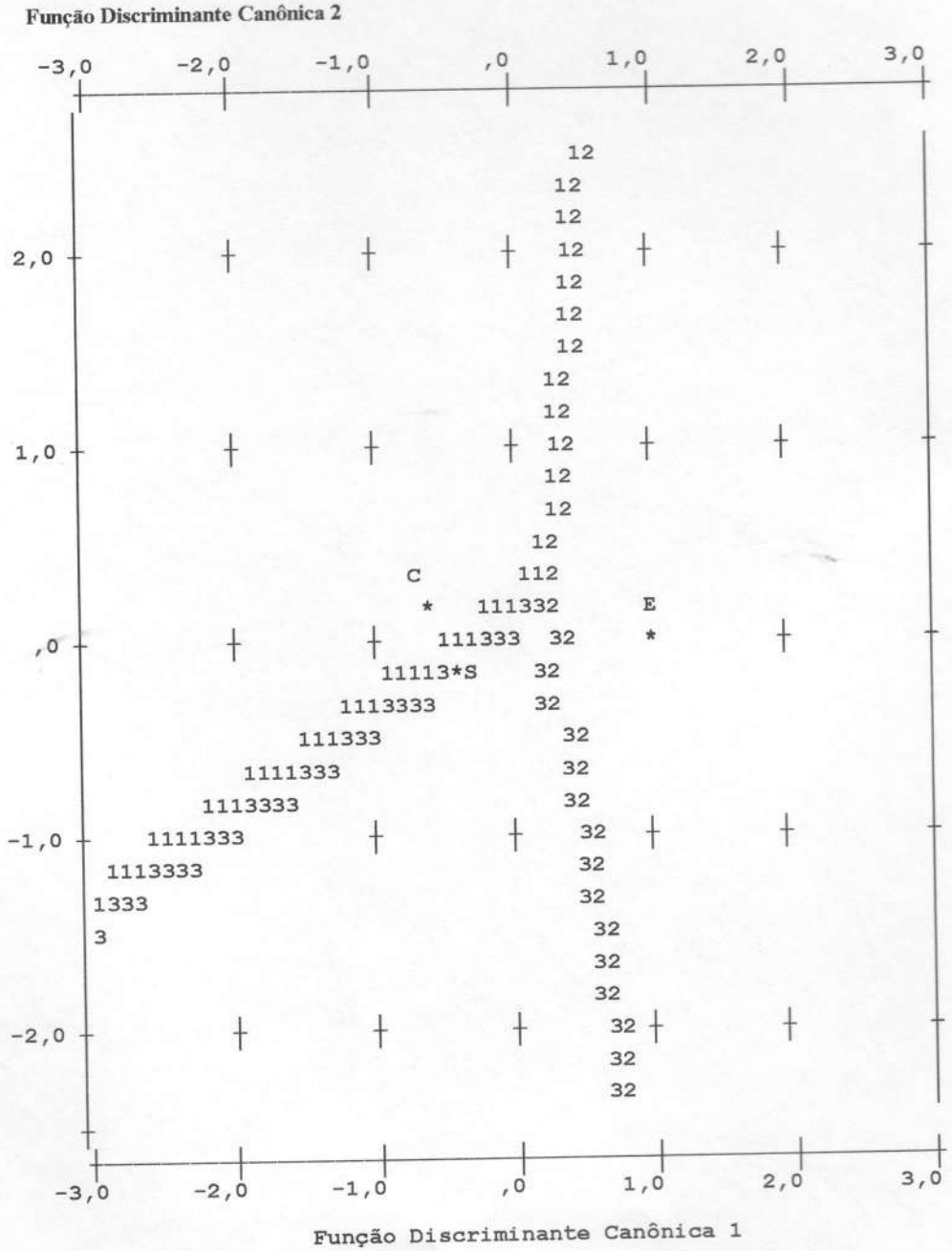


Figura 41: Efeitos da administração de buspirona ou salina à proximidade ao predador, no grupo estresse.

3.18 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS GRUPOS NA FASE DE EXPOSIÇÃO AO PREDADOR NO LABIRINTO EM OITO E EFEITO DA BUSPIRONA

Aplicou-se um teste de análise discriminante, considerando a permanência média de cada grupo experimental no QP, em cada dose de buspirona e salina. Todas as doses em todos os grupos foram aceitas no cômputo pela 1ª. função. Com este teste pode-se visualizar como os grupos se distinguiram considerando o efeito de todas as doses e salina. Pela 1ª função canônica discriminante, que explicou 93,6% da variabilidade entre os grupos experimentais (Figura 42), observou-se que o grupo E (centróide E=0,982) está distanciado do grupo S (centróide S=-0,381) e do grupo C (centróide C=-0,601), quase simultaneamente. Nota-se por estes valores na figura 42, que o grupo S encontra-se mais próximo do grupo C do que em relação ao grupo E. Com uma visão mais detalhada, pode-se perceber que apesar das diferenças observadas na análise univariada (vide acima), o grupo C se manteve mais distante do grupo E em relação ao grupo S. Em conjunto, este quadro indica que a resposta espacial relacionada à presença do predador, foi mais diferenciada no grupo E em relação aos outros dois grupos experimentais.

Figura 42: Mapa territorial da Análise Discriminante entre os grupos experimentais, durante a fase de administração de buspirona e salina. Os grupos centróides, dados pela Função 1, equivalem -0,601 (grupo C ou 1), a 0,982 (grupo E ou 2) e -0,381 (grupo S ou 3). A Função 1 está espacialmente disposta ao longo do eixo da abscissa. A Função 2 está espacialmente disposta ao longo do eixo das ordenadas.



IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

4.1 ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E FISIOLÓGICAS DO ESTRESSE

Pelos resultados relatados, observa-se que os sujeitos foram muito homogêneos na fase pré tratamentos, tanto em relação ao comportamento quanto à fisiologia.

O único comportamento observado que distinguiu os grupos na fase pré, foi escarificar, um comportamento comum em ambiente natural, relacionado à exploração de gomas de árvores (Santee & Faria, 1985), que se mantém em cativeiro. A exata função em cativeiro é desconhecida, pois mesmo não obtendo gomas, sagüis permanecem escarificando poleiros ou pedaços de madeira. Este comportamento não apresentou significância estatística ao longo do estudo, não levando a considerá-lo como relevante para os resultados apresentados na fase pós tratamentos, de habituação ao labirinto e de teste com a droga.

Comparando-se os grupos quanto às alterações da fase pós, pode se observar que os grupos se diferenciaram em alguns comportamentos. Tanto o grupo C quanto o grupo E foram muito distintos em relação ao grupo S. Isto se deveu à redução da atividade locomotora e do parar (componente da atividade locomotora característica de sagüis) em contraposição ao grande aumento do tempo de permanência na caixa ninho. O grupo E apresentou alterações mais contrastantes ainda em relação ao grupo S. O descansar e a autocatação do grupo E foram mais preservadas e até aumentadas em relação á redução observada no grupo S. Como salientado, o tempo em caixa ninho suplantou quase todos os demais comportamentos do grupo S. De fato, a análise comportamental deve se ater muito mais a este aspecto de retraimento do comportamento do grupo S.

A falta de oportunidade no ambiente para adotar um estilo mais ativo de defesa, pode ter contribuído para o longo tempo de caixa-ninho do grupo S, em detrimento de outras atividades. Este comportamento de ocultação foi observado na selva, quando sagüis se sentem ameaçados (Canale et al., 2000; Ferrari & Rylands, 1994). O isolamento, a exposição a estímulos aversivos e própria presença dos observadores (após as venopunções), levou os indivíduos a se refugiarem na caixa ninho.

Embora vários efeitos comportamentais tenham se modificado, a fisiologia de sagüis ficou relativamente refratária aos efeitos destes severos estressores a que foram submetidos (ver adiante). A presença de caixa ninho, é um refúgio que pode ter colaborado para que a resposta ao isolamento e a falta de estímulos, protegesse os animais de efeitos mais deletérios do estresse. Talvez, nos paradigmas de avaliação dos comportamentos defensivos de sagüis, a utilização de caixa ninho possa ser um instrumento útil de defesa e atenuação do comportamento emocional. Testes para drogas com potencial ansiolítico, ansiogênicas, antidepressivas e estereotipicogênicas, poderiam utilizar a colocação de caixa ninho para ocultação.

O isolamento causa mudanças na locomoção em que aumenta os episódios de parado e de encolhimento (Johnson et al., 1996b). Neste estudo, o encolhimento não foi definido operacionalmente, mas o tempo gasto na caixa ninho pode ser observado (mas não registrado) que os sujeitos permaneciam encolhidos e quiescentes por toda a sessão de observação. Esta postura possui homologia ao congelamento de ratos, e ambos, supõe-se, indicam um estado de medo/ansiedade nestes animais (Johnson et al., 1996b). Em contraste ao estudo de Johnson et al. (1996b) o comer e a marcação de cheiro não foram maior na fase de estresse; ao contrário, os sujeitos foram observados raras vezes se alimentando ou marcando.

Estas alterações comportamentais, contudo estão relacionadas ao estupendo aumento de caixa ninho observado na fase pós do grupo estresse. A diminuição em coçar, em comportamentos agonísticos e marcação, não significam uma baixa na emocionalidade, mas uma alternação de estratégia, quando os indivíduos adotaram uma postura passiva de recolhimento na caixa ninho.

Este comportamento é típico de sagüis sob ameaça, observado em laboratório (Lipp, 1978), em cativeiro (Canale et al, 2000) ou em ambiente natural (Stevenson & Rylands, 1988). A despeito das fortes alterações comportamentais, a estratégia de

defesa adotada pelo grupo estressado, foi etologicamente compatível. O balanço do tempo em que tal comportamento foi realizado é que trouxe um desequilíbrio no orçamento de atividades. De certa maneira, esta estratégia alternativa pode ter contribuído para proteger a fisiologia e preservar alguns aspectos do comportamento.

Entre as alterações comportamentais observadas em roedores no teste de campo aberto, indicativo de estados de medo e ansiedade, está a maior permanência em cantos escuros e a diminuição da ambulação (Arborelius et al., 1999). O retiro, a esquiva e a fuga para espaços cobertos são peculiares no comportamento de defesa de roedores e estão presentes em vários testes de medo e ansiedade (por exemplo, Viana, Tomaz & Graeff., 1994).

No teste de exposição ao intruso em tupaias machos, a ambulação diminuiu sensivelmente e de forma consistente (Flügge, Kraemer, Fuchs, 2001). Outros comportamentos neste teste como a auto-catação e a marcação de cheiro, são diminuídos (Flügge, Kraemer, Fuchs, 2001).

Na derrota social, um tipo de estresse que afeta humanos e outros animais, os efeitos mais gritantes são a redução da locomoção e do comportamento exploratório em ratos e suínos (revisado por Björkqvist, 2001). Em depressão reativa ou depressão maior em humanos, se observa que há uma redução da atividade geral, diminuição dos comportamentos consumatórios e anedonismo (Depue & Kleiman, 1979); a grande permanência de tempo na caixa ninho parece ser análoga. A apatia dos sujeitos do grupo estresse tem uma semelhança com relatos de sujeitos submetidos a grave e prolongado estresse, desenvolvendo a Síndrome do estresse pós-traumático - PTSD (Sutker et al., 1991).

A acentuada redução na atividade locomotora e exploratória observada nos sagüis do grupo estressado, se assemelha aos estados de estresse e psicopatologias humana, mas se contrapõem a manutenção destas atividades nos grupos C e E. Os sujeitos do grupo estresse permaneceram grande tempo apáticos e recolhidos, com o custo de diminuir sensivelmente os comportamentos apetitivos.

Baseada nestas semelhanças com alterações em outros táxons, poder-se-ia buscar nos resultados fisiológicos, ponderações sobre as bases neuroendócrinas que explicassem o efeito do estresse nos sagüis deste estudo.

A mais proeminente caraterística neuroendócrina do estresse é a alteração na sensibilidade do eixo HPA. Os efeitos na cortisolemia de sagüis neste estudo, foram um pouco surpreendentes. Esperava-se que uma diferença significativa entre a cortisolemia do grupo estresse em relação aos outros dois grupos experimentais e em relação a sua própria linha de base. Entretanto, embora em relação a sua própria linha de base houvesse uma diferença significativa, não se detectou diferenças na fase pós tratamentos em relação ao grupo controle e enriquecido.

As manipulações a que foram submetidos os sujeitos do grupo estresse, parecem ter sido suficientes para induzir um comportamento assemelhado à depressão e à anorexia nervosa. Entretanto, ocorreu uma alteração na reposta adrenocortical, pois os indivíduos se apresentaram normocortisolêmicos. Isto já havia sido observado e sugerido por Johnson et al., (1996b), estudando estresse social e isolamento em sagüis comuns. Este achado comportamental e endócrino, pode ser interpretado *a priori* como uma reação de defesa que conservando certo nível fisiológico, conferiu refratariedade e plasticidade na resposta ao estresse desta espécie.

O sistema reprodutivo de *C. penicillata* juntamente com a sazonalidade reprodutiva, marcada pelo regime pluviométrico dos cerrados, pode ter predisposto esta espécie a ser refratária a períodos de maior demanda reprodutiva e climática. Esta resposta atenuada nos níveis de glicocorticóides adrenais, foi observada em sub-populações de várias espécies de pássaros que vivem em ambientes com limitações climáticas estreitas (O'Reilly & Wingfield, 2001).

Espécies que demandam maior cuidado parental também tendem a possuir níveis de glicocorticóides mais atenuados na fase reprodutiva, como ocorrem em pingüins, albatrozes, faralopo vermelho e *pectoral sandpiper* (O'Reilly & Wingfield, 2001). Supõe-se que não seria adaptativo uma exagerada resposta ao estresse em espécies que demandam maior cuidado parental, pois haveria uma redução no aporte protéico, abandono da cria e perturbações no metabolismo dos carboidratos; isto traria uma redução na aptidão e sucesso reprodutivo (O'Reilly & Wingfield , 2001).

De fato, sagüis foram selecionados com uma alta exigência reprodutiva, a fêmea reproduzindo uma a duas vezes anuais, com partos gemelares e filhotes que pesam entre 12 a 20 % do peso da mãe (Stevenson & Rylands, 1988). Além disso,

somente uma fêmea reprodutiva existe em um grupo social, que inibe a reprodução das demais fêmeas adultas do grupo, mantendo um estreito controle comportamental sobre a atividade reprodutiva (Abbott et al., 1990). Na fase de aleitamento, de maior demanda energética, há a necessidade da fêmea amamentar dois filhotes que atingem em três meses a metade do peso de adulto. A demanda é grande, ainda mais considerando que o leite das fêmeas é duas vezes mais rico em proteínas e gordura do que o leite humano. Concomitante, fêmeas reprodutivas possuem estro fértil pós parto e podem ser fecundadas, iniciando uma nova gestação gemelar enquanto amamentam. Com estas exigências energéticas, ainda há a demanda do forrageio, jornadas de exploração, defesa de grupo e defesa anti-predatória.

O aumento no cortisol plasmático, não necessariamente implica em efetivas alterações no metabolismo em uma espécie resistente ao cortisol como *C. penicillata*. Se a manutenção do estado orgânico neste exigente esquema reprodutivo depende de uma menor atuação de glicocorticóides, então a resistência aos GCs seria altamente vantajosa para sagüis, ao preservar em parte suas reservas protéicas.

Pelos resultados fisiológicos, pode se observar que houve uma redução na glicemia para patamares críticos, interpretados neste estudo como patológicos. Esta redução foi muito mais acentuada no grupo S. Concomitante, ocorreu uma redução dramática no peso do grupo estresse, em relação á sua linha de base e em relação aos outros grupos experimentais. É possível que esta redução tenha o seu custo atribuído a mobilização de reservas lipídicas, pois o grupo S foi o único onde a lipemia estava aumentada.

A temperatura timpânica que se supõe ser marcadora da atividade cerebral, não se alterou ou diferenciou entre os grupos seja na fase pré ou pós. Isto indica que o metabolismo cerebral pode ter sido mantido, pelo menos quanto se relacionada a irrigação peri-timpâmica e regional hipotalamica.

Existem fortes evidências de que a elevação de GCs no estresse inibe o efeito protetor do metabolismo mediado pelos receptores MR, predispondo os neurônios a ação prolongada de aminoácidos excitatórios na região hipocampal, levando à degeneração focal desta região (Yusim et al., 2000). O efeito final é uma precipitação da apoptose ou necrose por uma verdadeira crise energética (Roy & Sapolsky, 1999).

A resistência aos glicocorticóides pode trazer outra importante vantagem aos calitriquídeos. Observou-se que todos os grupos mobilizaram fortemente monócitos enquanto tiveram suas concentrações linfocitárias diminuídas, Apesar da diferença entre os grupo C, E e S, uma maior redução ocorreu neste último grupo. A redução não foi suficiente para causar uma crítica perda da imunidade, pois a concentração mesmo no grupo estresse, se manteve dentro de uma amplitude fisiológica.

Neste caso, mesmo sob o impacto de um estresse social e da novidade aversiva diária, o grupo estresse manteve sua imunidade. Se considerarmos o Novo Mundo como o maior nicho de biodiversidade, pode-se pensar que haja uma maior diversidade de patógenos e microorganismos infectantes. Informação precisa sobre isto não existe na literatura. Entretanto, pode se especular que o ambiente do Novo Mundo é um meio muito mais ameaçador e mecanismos de defesa devem ser selecionados para se sobrepor ás infeções deste ambiente endêmico e altamente dinâmico em termos de biodiversidade.

Infecções são capazes de mobilizar células de defesa como monócitos e macrófagos, que sintetizam e secretam mediadores químicos (as interleucinas) para mediar a resposta imune. Estas moléculas são capazes de estimular o PVN, a hipófise a as adrenais a mobilizarem a cadeia glicocorticódie. Esta mobilização, é aparentemente paradoxal, pois os GCs são inibidores da resposta imune. Entretanto, a resposta imune apesar de ser muitas vezes bastante específica, pode ser explosiva, com amplos danos aos tecidos e até mesmo letal. Se acredita que a ação dos GCs, por um mecanismo de retroalimentação negativa, serviria para controlar os efeitos explosivos, ás vezes indiscriminados e prolongados da resposta inflamatória e alérgica. Se os glicocorticoides fossem mobilizados em grande quantidade, haveria uma inibição do sistema de defesa que poderia comprometer a reação antigeno-anticorpo em sagüis. Desta forma, a resistência aos GCs seria vantajosa ao permitir que fossem selecionados indivíduos que tivessem a oportunidade de desenvolver imunidade para um grande leque de patógenos e patogenias do Novo Mundo, sem entretanto sofrerem imunodepressão pelos altos níveis de GCs.

A resistência aos glicocorticóides pode representar uma característica vantajosa em primatas do Novo Mundo. Talvez não coincidentemente, além dos primatas, duas outras espécies originárias do Novo Mundo apresentam resistência aos GCs: os

cobaias (*Cavia porcellus*) e os ratos da pradaria (*Microtus ochrogaster*) (Taymans et al., 1997).

A proteção para a reprodução e a proteção imunológica, podem trazer um custo evolutivo importante para sagüis e quiçá, para outros primatas do Novo Mundo. Estudos recentes, realizados em nosso Laboratório em conjunto com o Laboratório de Farmacologia Molecular da UnB, realizaram uma série de levantamentos hormonais e testes de inibição pela dexametasona, em macacos do Novo Mundo, macacos do Velho Mundo e humanos. Os resultados destes estudos são contundentes ao demostrar que das espécies de primatas neotropicais avaliadas, todas tinham alta cortisolemia e resistência aos GCs, com uma exceção: o macaco-prego, *Cebus apella*. Esta espécie apresentou níveis de glicocorticóides e resposta no teste de dexametasona que não se diferenciaram do que se observou em macacos catarrinos e humanos. Esta espécie é reconhecida com uma capacidade cognitiva elevada, com performances em teste cognitivos iguais senão maiores do que se observou em macacos rhesus (Tavares & Tomaz, 2002).

Por outro lado, sagüis apesar de possuidores uma boa capacidade de memória, são muito menos capazes, eficientes e rápidos no aprendizado complexo (Hershkovitz, 1977). Embora pouco explorada, as diferenças na capacidade cognitiva de macacos-pregos e sagüis podem em parte serem explicadas na estrutura anatômica cerebral; sagüis são muito mais lisencefálicos, enquanto macacos pregos possuem circunvoluções mais numerosas, profundas e complexas, pressupondo um cérebro mais complexo (Hershkovitz, 1977).

Devido a resistência dos glicocorticoides, notou-se neste estudo que os desafios diários podem trazer uma fragilidade na manutenção glicêmica de sagüis. Isto resulta dependendo da situação, em um menor aporte energético no cérebro. O que poderia limitar o pleno desenvolvimento cognitivo de sagüis e consequentemente, seria um dos passos limitantes para a evolução de um cérebro mais complexo. Este problema, devido á ausência de resistência aos glicocorticóides em macacos-prego, não seria limitante, permitindo uma ampla utilização de energia pelas células nervosas, com um constante aporte energético.

A perda da diversidade do comportamento, da capacidade cognitiva, tem correlatos experimentais em cobaias que foram submetidos a ambientes diferenciados

de isolamento e enriquecidos. Mais apropriadamente, revelou-se que o isolamento reduz significativamente a ramificação dendrítica e áreas de contato sináptica na camada granular da região CA3 enquanto o enriquecimento, causa nesta região, mudanças estruturais que aumentam a área de contato sináptica, aumento na arborização dendrítica ou espessamento de membrana (Bartesaghi & Serrai, 2001).

A inibição da atividade locomotora no grupo estresse, pode ter conseqüências neuroendócrinas extremas. Este padrão de atividades parece ser bastante conservador, pois estudos diversos apontaram uma variação pouco elástica na atividade motora em cativeiro, mesmo sob diversos regimes de criação (Hershkovitz, 1977).

A carga de locomoção diária pode depender então de necessidades imediatas mas parece estar em média muito bem balanceada e conservada nesta espécie. A falta de atividade física, embora possa ser uma estratégia de defesa, não é esperada para durar mais do que frações de horas. A inatividade traz importantes prejuízos na atividade neuroendócrina e metabólica, como a redução de serotonina cerebral, baixa de dopamina e drástica redução dos fatores de crescimento neural (Hollmann & Strüder, 2000). Isto se reflete também na perda de espículas dendríticas, fortalecimento e aumento da rede neural em áreas motoras, cognitivas e emocionais (Hollmann & Strüder , 2000).

A inibição locomotora representada pela baixa performance em comportamentos ativos, pode estar relacionado ao recolhimento na caixa ninho, com aparente inatividade naquele recinto por longos períodos. Por outro lado, o grupo enriquecido, apoiado socialmente e estimulado por novidade no viveiro, pode estar envolvido em aumento de fatores neurais que não somente favorecem a plasticidade, o aumento do contato sináptico e o aumento da resistência aos eventos ameaçadores. Como pode ser visto na fase pós enriquecimento, os sujeitos diminuíram os comportamentos agonísticos que poderiam tanto serem dirigidos intra grupal, extra grupal ou aos observadores. Infelizmente não foi possível distinguir o alvo das interações, mas o resultado final foi uma diminuição da agressividade sem uma redução da atividade em geral. Pelo contrário, o resultado é claro que o comportamento do grupo E foi muito mais estável do que os outros grupos, ainda

premiado por uma redução (putativamente desejável) dos comportamentos agonísticos.

Curiosamente, esta estabilidade seria esperada no grupo controle. Entretanto, o grupo C pareceu estar sensibilizado pelos eventos de colocação e retirada do estímulo "neutro". O orçamento diário de atividades do grupo C recebeu sofreu uma redistribuição, com uma queda substancial nos níveis de descansar, marcar, brincar e comportamentos agonísiticos.

Nestas circunstâncias experimentais, a redução destes comportamentos não pareceu estar relacionada a um claro viés emocional , pois enquanto descansar e brincar menos seriam sinais de desconforto, a redução agonística e marcação seriam mais indicativos de uma maior interação social e menor desconforto. Portanto, apesar da redução, não se observou um aumento significativo nos demais comportamentos. Pode-se interpretar esta troca de padrões como indicativo de uma mudança mais relacionada á uma redistribuição dos comportamentos que não foi detectável pelo método e abordagem estatística utilizada. Concomitante, a fisiologia do grupo controle pareceu mais estabilizada do que a fisiologia do grupo E e S (ver adiante).

Parte dos achados neste estudo podem ser explicados pelo efeito do modelo EIC, estudado por López e colaboradores (1998), em que o estudo da interação do eixo HPA com receptores serotonérgicos hipocampais, resultaram em diminuição da expressão de receptores pós-sinápticos 5-HT-$_{1A}$ no hipocampo, sob a dependência dos esteróides adrenais em roedores e em parte, em humanos.

4.2 ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E FISIOLÓGICAS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

Sabe-se que o enriquecimento ambiental causa profundas alterações neuroquímicas (Boere, 2001), provavelmente em áreas cerebrais mesencefálicas relacionadas à recompensa, composta de células dopaminérgicas (grupo A8, dorsal a lateral da substância negra; grupo A9, pars compacta da substância negra; e grupo A10, área medial tegmental ventral da porção medial da substância negra) (Schultz, 1999). A recompensa parece não ser efetiva quando os neurônios são estimulados de forma fásica (Schultz, 1999) o que pode explicar em parte, a refração ao cotidiano

enriquecimento dos animais neste estudo. O estímulo deve ser muito distinto porque neurônios relacionados a estes comportamentos apetitivos tem uma capacidade limitada para distinguir entre estímulos aversivos ou neutros (Schultz, 1999). Além disso, neurônios dopaminérgicos desta área de recompensa são sensibilizados por imprevisão temporal e deprimidos por frustração quando há negação do estímulo positivo em esquemas temporais fixos (Schultz, 1999).

A liberação de glutamato na fase de estresse, agindo na excitação de neurônios mediados por receptores NMDA, pode atingir células que expressam fatores de crescimento neurais (Mathew et al., 2001). O bloqueio de uma ativação supra-normal de vias glutamatérgicas, com concomitante ativação da atividade serotonérgica, pode reduzir os efeitos do estresse e propiciar a expressão de fatores de crescimento neurais que são neuroprotetivos, preservando a integridade da rede (Mathew et al., 2001). Fatores de crescimento neural são estimulados após estresse social, sugerindo um papel neurotrófico e reparador (Björkqvist, 2001). Por outro lado, uma ativação excessiva, como no caso de um "super-enriquecimento", pode causar efeitos inversos ao esperado, como parece ser o caso neste estudo.

A proposição de que o estímulo reparador para danos neurais deva passar por uma grande amplitude de estímulos, ao invés de treinos repetitivos (Ogden, 2000) merece ser revista ao empregar sagüis como modelos de neuroplasticidade. O que pareceu ser uma estimulação enriquecedora neste estudo, não causou alterações comportamentais significantes. A exceção, talvez, esteja na diminuição de um comportamento indicativo de conflito e ansiedade (agonístico), que depende do processamento de áreas hipocampais intermediarias entre a amígdala e áreas motoras.

O estresse de contenção e outros tipos de estresse induzem uma redução nos níveis neuronais de BDNF (Duman et al., 1997). Um dos mecanismos para que o enriquecimento possa melhorar o desempenho em testes cognitivos de controle emocional, é pela ativação de fatores de crescimento neural, fato que foi demonstrado com o aumento de exercícios físicos voluntários em ratos. Estas alterações levam em torno de 14 a 21 dias, parecendo depender da ativação de CREB e aumento da transcrição de fatores de crescimento neural (BDNF) (Duman et al., 1997). Este mesmo tempo é o que se observa nas modificações de receptores e membrana eliciada pelo aumento das monoaminas induzida pelos antidepressivos clássicos. Que

induzem aumento de CREB e BDNF no hipocampo, acreditando-se por alterar o comportamento, retirando o indivíduo do estado depressivo.

O grupo enriquecido, embora não estivesse submetido a estresse, portanto aparentemente pouco sensível às alterações do ambiente para modificações estruturais profundas nos níveis de monoaminas e BDNF, poderia não ter respondido aos efeitos do enriquecimento por não ter um prazo suficiente para serem observáveis estas modificações neurais e comportamentais. Outros comportamentos poderiam ter sido observáveis caso o prazo de mais algumas semanas fosse estendidos no desenho do experimento.

Sob o efeito da visualização de predadores, e até mesmo seres humanos, tanto em cativeiro como em ambiente natural, sagüis podem ameaçar e realizar demonstrações genitais (Barros et al., 2002) A redução dos comportamentos agonísticos no grupo E, em contraposição à estabilidade do grupo C e S, sugere uma diminuição da reação de cativeiro e de manipulação. Sugere ainda que aumentou o limiar de conflito frente ameaças neste grupos.

A reação do grupo E não foi de todo esperada e de certa maneira contraditória. Enquanto o coçar, indicativo de ansiedade, diminuiu entre a LB e o tratamento, após o tratamentos coçar não diferenciou os grupos. Outros comportamentos não foram afetados na situação pré e após o enriquecimento assim como comparado ao controle. Por outro lado observou-se alguns índices fisiológicos, como não sendo indicativo de melhoria na aptidão física e cognitiva dos indivíduos. Apesar das manipulações (introduções de novidades) realizadas serem baseadas na literatura, para o sagüi do cerrado neste estudo, estas não induziram uma melhoria significativa em parâmetros fisiológicos e comportamentais. Alguns estudos concluíram que os procedimentos indiscriminados de estímulo intensivo, podem acarretar um desinteresse dos animais em cativeiro pelo enriquecedor (Lincoln III et al.,1995).

Em *C. penicillata* se observou sob estresse agudo, um aumento de vocalizações, comportamento de alarme e observação-dirigido na presença do estímulo aversivo (predador empalhado) (Barros et. al, 2002). Um aumento na atividade locomotora também foi significativo na presença de um predador empalhado (Barros et. al, 2002). Neste estudo, os sujeitos diminuíram o comportamento locomotor drasticamente assim como outras atividades, indicando

provavelmente que a presença do observador não desencadeou este comportamento de retraimento e brusca queda nas atividades em geral. Ademais, nas fases anteriores, os animais já estavam habituados aos observadores.

A imobilidade aumentada e a redução do comportamento exploratório são manifestações características de estresse crônico em animais. O sistema dopaminérgico estaria envolvido em parte, especialmente com um aumento do recaptação de dopamina no núcleo accumbens, uma área relacionada à atividade motora (Weinstock, 1997). O melhor desempenho na latência de saída do grupo C e E em relação ao grupo S, pode estar relacionada ao papel da dopamina na memória de curto prazo (D'Esposito, 1998), resultante talvez da ativação mais intensa de áreas de recompensa naqueles animais que não estiveram submetidos ao estresse. Estas obsrvações são indicativas de que, se não houve um ganho comportamental significativo, um melhor desempenho no labirinto distinguiu os grupo E como beneficiado pela manipulação.

Os níveis de cortisol observados neste estudo foram previsivelmente altos. Considerando que em roedores, e provavelmente em outras espécies, altos níveis de cortisol estão relacionados à ocupação de receptores GR, que modula a resposta ao estresse (Reul & De Kloet, 1985), é possível que o balanço de receptores nos grupos experimentais esteja envolvido nas respostas comportamentais e metabólicas observadas neste estudo.

A falta de diferenças nos níveis de cortisol entre os grupos, na fase pós tratamento, pode ter uma compreensão na reação adreno-hipofisária observada em veteranos de guerra com PTSD: estes indivíduos apresentam hipocortisolismo, baixa responsividade do ACTH para altos níveis de CRH e uma supersupressão no teste de dexametasona (Arborelius et al., 1999). Similarmente se observou que roedores sob crônico estresse social apresentaram uma diminuição na resposta glicocorticóide (Albeck et al., 1997). Isto é indicativo de que há uma resistência do eixo HPA para o desencadeamento de uma resposta adequada de cortisol. A hipercortisolemia e a resistência aos glicocorticóides (teste de dexametasona) são observadas em babuínos subordinados ou no isolamento social (Sapolsky et al., 1997). Espécies sociais respondem para parceria com co-específicos como reforçadores positivos (Stein,

1998), então, a falta de parceiros pode ter causado alterações no sistema dopaminérgico.

Os sagüis do grupo estresse, que se esperaria responder com maior cortisolemia, se indiferenciaram em relação ao grupo controle ou enriquecido. Isto não quer dizer que não estejam refratários. Pelo contrário, houve um aumento significativo nos níveis de cortisol plasmático. Este resultado indica que o eixo HPA respondeu às severas condições de estresse a que os animais foram submetidos. Este aumento de cortisol foi encontrado em sagüis comuns submetidos ao isolamento por duas semanas (Johnson et al., 1996).

O meio social em que os indivíduos do grupo E e C estavam vivendo durante a fase dos tratamentos, pode ter contribuído para que, a despeito das manipulações, o aumento de cortisol plasmático não fosse acentuado a ponto de se diferenciar da linha de base. O gregarismo embora algumas vezes considerada uma fonte de tensões e estresse social, traz muito mais benefícios para o ajustamento neuroendócino em uma táxon sociável, vivendo em famílias estendidas, como sagüis do que perturbações na realização de comportamentos mal adaptativos (Johnson et al., 1996).

Apesar das alterações evidenciadas no comportamento e na fisiologia, o aumento do cortisol no grupo S não correlacionou-se com nenhum dos parâmetros estudados. Possivelmente, há uma dissociação entre o aumento do cortisol plasmático e a resposta de áreas sensíveis como o sistema imunológico e o cérebro. Em parte, o envolvimento dos receptores resistentes ao cortisol pode se enquadrar em uma explicação prospectiva dos mecanismos biomoleculares.

A resistência aos GCs em primatas do Novo Mundo é apoiada em proteínas reguladoras/inibidoras ligadas ao núcleo celular, que diminuem a afinidade (Reynolds et al, 1999) e formação do complexo HR (hormônio-receptor). Mesmo sob altas concentrações de cortisol é possível que haja uma ocupação de receptores de maneira mais gradual. Neste caso, a resistência aos GCs observada em sagüis, pode ser vantajoso.

De fato ao verificar que houve uma redução linfocitária e um aumento monocitário, certificou-se de que mesmo atingindo significância após o estresse, estes níveis estão acima do que se consideraria patológico (ver adiante). No grupo C e em menor escala no grupo E, a queda de linfócitos foi menor e o aumento de

monócitos foi maior após os tratamentos. A venopunção, precedida de contenção, é um tipo de estresse agudo. Se na fase pré os grupos não se diferenciaram entre si, na fase pós a resposta do grupo controle pareceu ter sido muito mais eficiente do que a reposta do grupo estresse. Apesar dos níveis imunológicos não ficarem em limiares clínicos patológicos, a resposta do grupo controle foi mais eficiente do que a resposta do grupo estresse.

Desde 1985 se reconhece a existência de dois receptores para corticosteróides no cérebro de mamíferos (Reul & De Kloet, 1985). O cérebro de primatas (Patel et al., 2000), particularmente na região CA1, CA2, giro denteado, hipotalamo PVN, septo lateral, geniculado lateral, amígdala lateral e medial, são ricos em receptores do tipo GR. O tipo MR ocorre mais nas células piramidais do hipocampo, camada granular do giro denteado, septo lateral, amígdala medial e lateral. Portanto, há uma co-localização destes receptores no cérebro de primatas neotropicais. A duplicidade de receptores para glicocorticóides no cérebro, confere uma diferente resposta aos organismos. Sabe-se que a maior ocupação de GR ocorre no pico diário de secreção de GCs. Estes altos níveis no pico circadiano em ratos se assemelham aos níveis obtidos com o estresse da contenção (Reul & De Kloet, 1985). Em condições basais, há uma predominância de ocupação de receptores MR.

Entretanto, o cortisol está relacionado à manutenção do metabolismo intermediário. Neste quesito, os efeitos do cortisol foram bastante severos, como discutido adiante.

Roy e Sapolsky (1999) se referem aos problemas do estresse como sendo essencialmente "uma crise energética". A visão destes eminentes pesquisadores é muito tentadora pois possui evidencias densas e um racional bem elaborado, como veremos. Duman et al. (1997) acreditam que menores e sucessivos reveses, vão precipitando pequenos danos aos neurônios e glia, sem evidências imediatas de alterações comportamentais, predispondo o indivíduo á um limiar crítico de alteração comportamental. Insultos como hipoglicemia, mesmo que episódica, podem deixar profundas seqüelas em indivíduos com glicocorticóides alto, podendo precipitar crises depressivas e distúrbios do humor. A hipoglicemia poderia aumentar a vulnerabilidade das células hipocampais á injúrias, pois açucares (manose) diminuem a redução apical dendrítica nos neurônios e na glia hipocampal (Woolley et al.,

1990). O estresse pode ser caracterizado como uma crise energética para um tecido altamente exigente como o nervoso.

Normalmente dois eventos acompanham o estresse de jejum nos animais, quando há deficiência da glicose. O primeiro é a estimulação da gliconeogênese, com aporte principal de GCs, acompanhada de inibição dos receptores e secreção de insulina. Em segundo, há a ativação de vias metabólicas para fornecimento de energia através de ácidos graxos livres e corpos cetônicos. Estes mecanismos são bastante conservados em mamíferos, sendo provável que ocorram em sagüis. Entretanto, algumas características na resposta ao estresse psicológico neste estudo, parecem se diferenciar dos demais primatas.

A diferença na hipoglicemia em duas espécies de microtíneos, *Chletrionomys rufocanus* e *Chletrionomys rutilus*, sendo mais acentuada para o primeiro, pode ter sido selecionada pela ecologia alimentar da espécie, mais direcionada para o consumo de folhas verdes enquanto o último se alimenta primariamente de sementes, portanto com um viés lipídico mais conservado, resultando em mais acentuada manutenção da glicemia (Mosin, 1982). A ecologia alimentar de *C. penicillata*, se baseia em obtenção de gomas e frutas, alimentos ricos em carboidratos, com fraco aporte lipídico. Associando-se ao alto grau de metabolismo, pode-se esperar uma rápida degradação dos estoques de glicogênio, colocando perigosamente esta espécie em risco de hipoglicemia e perda da condição orgânica. A resistência aos GCs poderia acentuar esta condição, ao inibir as células de responderem adequadamente á inibição pelo cortisol do uso de estoques de glicose e ativação de vias neoglicogênicas. Isto obviamente tem um reflexo direto na manutenção energética cerebral e alteração do comportamento.

A correlação entre glicose e leucócitos pode ter um reflexo na demografia desta espécie. A escassez sazonal de alimentos de alto valor é uma realidade em sagüis, pois grande parte do habitat desta espécie ocorre um prolongado período anual de seca, com subseqüente diminuição do aporte de nutrientes. Mesmo que o aporte de gomas possa atenuar esta escassez, é possível que o metabolismo glicocorticóide não seja suficiente para a neoglicogênese, principalmente se considerarmos a resistência aos glicocorticóides. A dependência de fontes rápidas de glicose não seriam condicionadas por limitações reprodutivas, pois machos e fêmeas dependeriam

igualmente destas fontes. A denominação apropriada de "gomívoros obrigatórios" conferida por Harrison e Tardif (1994), não está condicionada primariamente por uma questão social como defendida por estas autoras, mas mais ligada ao metabolismo energético e a resistência aos GCs.

Um outro aspecto importante na hipoglicemia, é que leucócitos usam como combustível a glicose. Hipoglicemia pode ocasionar uma deficiência perigosa na ativação e homeostase leucocitária, como foi observado em roedores selvagens (microtíneos) por Mosin (1982). A baixa glicemia observada nos sagüis sob estresse é comparável à hipoglicemia observada em microtíneos, após jejum de 18 horas (Mosin, 1982). Nesta família de roedores, há uma sustentação de glicemia por jejuns de até 12 horas, mas ocorre uma queda acentuada após isso; em murídeos, esta queda não é acentuada e estes animais podem manter uma glicemia mais próxima do normal, por mais tempo (Mosin, 1982).

Este quadro como microtíneos, poderia ser semelhante a sagüis, como observado no prolongado jejum dos animais do grupo estresse. As venopunções eram realizadas em torno do horário da colocação da alimentação, e a atividade, via de regra, inibia a atividade dos animais. Pelos dados comportamentais, pode se observar que a maior parte do tempo foi ocupada por retiro na caixa ninho. Considerando o jejum da noite anterior à venopunção, cumulativa ao jejum pela inibição comportamental pelo procedimento de captura e venopunção, ao todo tem-se entre 14 a 18 horas de jejum.

Seriam microtíneos resistentes ao cortisol? Pelo menos uma família de roedores, Cavídea (*Cavia porcellus* – cobaia), se apresenta como resistente aos glicocorticóides. Se este caráter glicêmico oriundo do estresse e/ou jejum prolongado for semelhante entre os dois táxons, então poderia se correlacionar com a resistência aos GCs. Seria interessante comparar o metabolismo destas duas famílias sob a influencia de estressores psicológicos.

O isolamento aumenta a resistência aos efeitos dos glicocorticóides (Johnson et al., 1996). Parece que isto explica em parte a falta de efeitos mais profundos na fisiologia dos sagüis estudados. A resultante desta queda glicêmica sob estresse pode penalizar profundamente o metabolismo energético e particularmente o cerebral. Se for verificado que houve uma correlação da queda glicêmica com a concentração de

hemácias e da temperatura retal, pode-se inferir que houve ma queda no metabolismo em geral. A queda de hemácias não foi suficiente para atingir significância e nem ficou abaixo de limiar clínico. A queda na temperatura retal parece não ter atingido um nível crítico. Entretanto, se considerarmos que a temperatura timpânica reflete em parte o metabolismo cerebral, e que em quaisquer dos lados não se alterou na fase pós, parece que o metabolismo cerebral permaneceu estável.

A despeito da manutenção do metabolismo cerebral, da queda do metabolismo em geral, é possível que a demanda cerebral por glicose, a única fonte energética utilizada pelo sistema nervoso, pode ter sido prejudicada. A dramática redução nos comportamentos apetitivos e consumatórios na fase de estresse, em troca pelo tempo majoritario oculto na caixa ninho, pode ser o resultado ou concomitante à inibição comportamental.

De fato, a única correlação que o aumento do cortisol teve no grupo estresse, foi com a diminuição na diversidade do comportamento. Então pode ser que o isolamento, a falta de estímulos apropriados e a improbabilidade de controle dos estímulos aversivos, possa ter elevado o cortisol de maneira acentuada a ponto de inibir o comportamento em geral. A cortisolemia alta pode exercer profunda influencia no cérebro ao inibir o metabolismo em áreas críticas como o hipocampo. A inibição do comportamento, com diminuição de estímulos motores e sensoriais, retrocede algumas vias relacionadas a manutenção do comportamento modal, adaptativo e do bem estar, como a diminuição de dopamina, redução das neurotrofinas, baixa endorfinas e queda nos níveis cerebrais de serotonina (Azmitia, 1999).

Quanto às vias serotonérgicas, o estudo não permite determinar a localização e o grau de envolvimento. Entretanto, pela resposta à buspirona, discutido mais adiante, houve uma modificação na sensibilidade destas vias.

Os resultados no presente trabalho indicam que ocorreu um aumento nos AGL daqueles sujeitos do grupo S enquanto observou-se uma redução nos grupos C e E. Comparado a outros parâmetros como peso e glicemia e linfócitos, os resultados de AGL vão em direção oposta. Interpretou-se que a redução naqueles outros parâmetros esteve relacionada ao procedimento experimental, às capturas e às contenções para venopunção.

O aumento da lipemia, devido à remoção lipídica medida pela lipase-β, é observada em indivíduos sob estresse (Berne & Levi, 1994). Este aumento pode resultar no aparecimento de lesões cardiovasculares, colocando em risco e precipitando cardiopatias (Kamarck et al., 1998).

Os resultados de AGL conduzem à explicação de que alguma variável poderia estar sensibilizando mais este sistema. Todos os grupos foram submetidos à algum tipo de manipulação mas o que diferenciou os grupos foi a manipulação social. Isto é, o ambiente social do grupo S (isolamento) se diferenciou diametralmente em relação ao grupos C e E. Vários estudos apontam que o estresse social, podendo ser representado pelo isolamento em primatas, causou uma profunda ruptura na homeostase, destacando-se o sistema cárdiocirculatório. Estas alterações são específicas ao estresse social, pois mesmo que paradigmas de estresse como o nado forçado e a contenção, comparativamente não causam alterações tão acentuadas (arritmias cardíacas) como no estresse da derrota social ou isolamento (Sgoifo et al., 1999).

Haller et al. (1998) observaram uma acentuada redução de peso em roedores submetidos a estresse social. Em teste de conflito social, os ratos podem perder até 20 % do peso (Blanchard et al., 2001). Um teste semelhante, da exposição de tupaias machos ao intruso, ocorre uma ativação adrenomedular acentuada e que vem acompanhada de uma grande queda no peso corporal, de até 20%, nos sujeitos derrotados (Fuchs & Flügge, 1998). Estes autores relatam que a perda de peso se deveu a uma inibição do comportamento ingestivo (água e alimentos) concomitante a um metabolismo aumentado.

O peso é um dos índices mais sensíveis para verificar alterações no bem estar de animais, particularmente de sagüis (Johnson et al., 1996; Boere, 2001). Sob o estresse do isolamento, sagüis comuns perderam em torno de 10% do peso em duas semanas (Johnson et al., 1996). Neste estudo, a perda de peso foi concordante com aquele estudo, e mais acentuada no grupo estresse. A queda foi em média de 23%, duas vezes maior do que o observado por Johnson et al (1996). Todos os grupos perderam peso durante os tratamentos, esta queda mais acentuada do grupo S foi significativa em relação aos dois outros grupos. Em relação à fase pré, a queda de peso do grupo E foi significativa. Isto sugere que os tratamentos do grupo estresse e

qualitativamente diferente no grupo E, causou um efeito no metabolismo, acelerando a queda de peso. Notar que comer não foi alterado substancialmente no grupo E.

Nenhum dos comportamentos do grupo E poderiam explicar a perda de peso, mas a perda de peso esteve correlacionada ao aumento de monócitos. Pode-se notar que quanto maior a queda de peso, menor foi o aporte de monócitos na resposta imunitária do grupo E. A perda de peso representa uma perda de massa protéica e de gordura. Ao considerar que a lipemia caiu na fase dos tratamentos, a queda de peso estaria relacionada á uma perda protéica. Contraditoriamente, a maturação e disponibilização de monócitos depende da integridade dos órgãos imunopoiéticos, o que pressupõe uma integridade anabólica.

Os resultados deste estudo indicam que houve um menor aporte de monócitos no sangue periférico do grupo submetido ao estresse psicológico crônico (novidade/isolamento) quando comparado ao grupo C. Em relação às suas condições pré tratamentos, todos os grupos apresentaram alterações no perfil imunológico após os tratamentos, com um aumento na concentração de monócitos e uma diminuição na concentração de linfócitos.

Os valores hematológicos encontrados na primeira venopunção não diferiram de uma maneira geral dos dados disponíveis na literatura para *C. penicillata* (Diniz, 1997) ou *C. jacchus* (Hawkey *et al.*, 1982; Yarbrough *et al.*, 1984), seu congênere mais próximo. O cloridrato de quetamina como agente químico de contenção, na dosagem utilizada no presente estudo, não pareceu alterar os valores hematológicos, como observado no estudo de Hawkey *et al.*(1982), comparando com sagüis não anestesiados.

A exposição a estressores físicos e psicológicos podem alterar profundamente a resposta imunológica. O estresse pode alterar a expressão e mitose de células imunológicas, a concentração, a distribuição, e a funcionalidade destas células (Fleshner et al, 1995). A redistribuição de células do sistema imunológico tem aos poucos sido observada em várias espécies de animais, mas ainda permanece pouco esclarecida (Fleshner et al, 1995). Neste estudo, considerando que macrófagos e leucócitos são dependentes do metabolismo glicêmico, ou seja, dependem desta fonte de energia (Fleshner et al., 1995), a hipoglicemia observada, associada a correlação

entre hemácias e glicemia, é tentadora para a explicação do menor aporte relativo de linfócitos e monócitos, após o estresse no grupo S, em relação aos demais grupos.

Observou-se que em cavalos submetidos ao estresse de exercício físico durante 2 dias, há uma normocortisolemia acompanhada de linfocitose. A linfocitose foi caracterizada por um aumento temporário de neutrófilos (por 6 horas), o que pode ser um indicativo da adaptação ao estresse (Korhonen et al., 2000). De fato, a primeira linha de defesa do organismo na resposta inflamatória, os neutrófilos (macrófagos), na resposta ao estresse, parece ser bifásica, com um aumento imediato mediado por catecolaminas adrenais, removendo as células dos compartimentos marginais e um aumento posterior de macrófagos maduros, mediado por cortisol. Pode ser que o prolongamento das venopunções nas próximas horas, se encontrasse níveis semelhantes entre a fase pré e pós neste estudo. Em algumas espécies, a taxa das células que compõem a série branca pode ser um mais sensível indicador de estresse agudo do que os níveis de cortisol (por exemplo, Korhonen et al., 2000).

Interessante observar que em microtíneos a redução acentuada da glicemia resultante do estresse do jejum, acompanha uma leucopenia que é revertida com a realimentação e hiperglicemia (Mosin, 1982).

A redução na atividade de alguns sub-tipos celulares da resposta imunológica, e na resposta como um todo, foi observado em vários estudos empregando roedores e símios em estresse de derrota social (revisado em Björkqvist, 2001). Ademais, tanto o desafio de HPL como suscetibilidade à infecções respiratórias, demonstram uma fragilidade em animais sob estresse social.

Fleshner et al. (1995) sugeriram que pode haver uma migração de macrófagos para tecidos imunopoiéticos (linfonodos), com a ativação de mensageiros químicos que mediariam a resposta de outras células do sistema imunológico. Hormônios liberados durante o estresse alteram a proporção de macrófagos/monócitos (Fleshner et al., 1995).

Linfócitos sintetizam e liberam ACTH e induzem um aumento dos glicocorticóides (Ottaviani & Franceschi, 1996). O comportamento de inapetência e imobilidade, assemelha-se com a condição experimental de indução de LPS e mediação destes comportamentos por citocinas em roedores (Turnbull & Rivier, 1999). Uma das mais importantes, a IL1β é induzida em altas concentrações após

estresse crônico em humaos e roedores (Turnbull & Rivier, 1999). Particularmente a IL1β provoca anorexia, febre, aumento regional do fluxo vascular, ativação autonômica e alterações no metabolismo intermediário.

Os hemogramas apresentados por todos os grupos denotam algum tipo de estresse, provavelmente crônico, uma vez que não se observou leucocitose e neutrofilia, apenas monocitose e uma redução no número dos linfócitos. Segundo Leonard & Song (1996), indivíduos estressados e deprimidos apresentam um aumento na atividade monocitária, além de uma redução na proliferação linfocitária e na fagocitose neutrofílica condizente com o observado no presente estudo. Apesar de que nos animais a existência de um compartimento celular marginal para monócitos não ter sido até então bem esclarecida, em humanos está claro que os monócitos encontram-se distribuídos entre os compartimentos celulares circulante e marginal. Como em cães, após a administração de glicocorticóides é observada monocitose (Feldman *et al.*, 2000), a hipótese da existência de um compartimento marginal pode ser também postulada para os primatas não humanos.

O número total de leucócitos e a concentração de neutrófilos segmentados, primeira linha de defesa no organismo para a atividade fagocítica, não diferiram entre os grupos e nem entre as fases pré e pós tratamentos de cada grupo. Os efeitos observados se relacionaram aos grupos celulares que compõem a resposta imune. Os monócitos foram mobilizados intensamente em todos os grupos na fase pós tratamento, mas substancialmente menos no grupo S quando comparado ao grupo C. Isto é sugestivo de que o estresse crônico interferiu na resposta imune do grupo S.

Muitos são os fatores que influenciam a resposta imunológica, mas parece que o tipo de estressor direciona a resposta alterando os níveis e tipos de leucócitos mobilizados. Por exemplo, em humanos o estresse psicológico altera a distribuição dos sub-tipos celulares imunológicos comparado á uma situação basal (Uchakin et al., 2001); em macacos-rhesus, testando a citólise de linfócitos, um estressor psicológico (separação social) aumenta a atividade em relação ao estressor físico (laparoscopia) (Lemieux *et al.*, 1996). Dhabhar et al., (1995) demonstraram que o estresse de contenção em ratos alterou o número e a porcentagem de neutrófilos e linfócitos na circulação periférica, mas com o retorno aos valores basais depois de 3 horas.

È possível que o aumento na concentração de monócitos se contrapondo à diminuição de linfócitos, verificado neste estudo, seja o resultado da manipulação experimental. Os sujeitos dos grupos C e E receberam o "estímulo neutro" e as inovações respectivamente, todos os dias do experimento. A sensibilidade de *C. penicillata* à interferência diária humana, pode ter causado uma perturbação no bem-estar. Neste caso, a menor mobilização de monócitos do grupo S, indica que o isolamento e a exposição à novidade afetou com maior severidade a resposta deste grupo ao estresse agudo da contenção.

A baixa disponibilidade de linfócitos observada pode ser transitória, ou seja, uma vez passando o estressor, algumas horas depois os níveis tendem a se normalizar, como demonstrado por Dhabhar *et al.* (1995) em um estudo com ratos sob estresse agudo. A ativação do sistema nervoso autônomo, com liberação de catecolaminas na circulação periférica, intermedia o quadro leucocitário ao atuar nos receptores de vasos e órgãos linfóides (Bauer *et al.*, 2001). Como foi observado, nem na primeira venopunção (pré tratamentos), nem na segunda (pós tratamentos) ocorreu alteração significativa na concentração total de leucócitos ou hemácias. Houve uma alteração na proporção das células envolvidas, provavelmente resultante da ação dos glicocorticóides adrenais, que agem tanto na mitogênese, como na comunicação química e na adesividade (*adesiveness*) das células hamáticas da resposta imunológica (Leonard & Song, 1996; Bauer *et al.*, 2001; Turnbull & Rivier, 1999).

Apesar de os paradigmas de estresse empregados neste estudo (isolamento; estímulos negativos, imprevisão, falta de controle e cronicidade) serem de extrema severidade, a mobilização de linfócitos permaneceu fisiologicamente inalterada em todos os grupos, ou seja, acima do mínimo de 4×10^9/L (Hawkey *et al.*, 1982), independente do tratamento. Considera-se possível que a resistência aos glicocorticóides observada em sagüis tenha contribuído para um menor efeito na resposta linfocitária observada no presente estudo.

Quanto à falta de diferenças hematológicas do grupo E em relação ao grupo C, é possível que esta seja devido à condição de enriquecimento adotado neste estudo. O fato dos indivíduos viverem em grupos socialmente compatíveis em viveiros que já continham em sua estrutura vários dos substratos considerados apropriados para um ambiente enriquecido pode ter minimizado as possíveis

contribuições de enriquecimento adotadas (Boere, 2001). Adicionalmente deve-se considerar que o CPUnB se localiza em uma área de preservação ambiental, onde os sagüis cativos estão submetidos às mesmas condições climáticas e "paisagísticas" de seu habitat natural, o que pode ter criado um fator adicional de bem-estar.

Alternativamente, a falta de diferenças entre os grupos E e S pode ser devida ao fato de que as necessidades etológicas de *C. penicillata* sejam um pouco diferentes daquelas de outros sagüis, como o *C. jacchus*. De fato, devido às diferenças no comportamento (por exemplo, Guerra et al., 1998), parece que *C. penicillata* possui um perfil emocional um pouco mais reativo do que *C. jacchus* (observações pessoais). A introdução diária de novidades pode ter sensibilizado o eixo HPA, resultando em um aumento crônico supra-basal de glicocorticóides suficiente para inibir uma resposta maior do que o grupo S.

Em resumo, o estresse do isolamento associado ao efeito crônico de estressores psicológicos, não alterou a concentração de leucócitos e nem de segmentados, mas alterou a resposta imunológica ao disponibilizar um menor aporte de monócitos como células de primeira linha de defesa do organismo. O enriquecimento ambiental dinâmico, com introdução diária de novidades supostamente positivas, não parece ter contribuído substancialmente para a melhoria da resposta imunológica. Os tratamentos não causaram uma redução substancial na resposta linfocitária entre os grupos, mas ocorreu uma redução em relação à primeira venopunção. Apesar disto, esta redução não foi suficiente para causar uma linfopenia patológica, mesmo no grupo sob estresse intenso.

Devido ao pequeno porte, os sagüis são vulneráveis a uma série de predadores aéreos e terrestres (Stevenson & Rylands, 1988). Por isso, seu comportamento é ativo e vigilante, moldado com uma série de adaptações comportamentais e fisiológicas para se contrapor à forte pressão de predação (Barros *et al.*, 2002). A vantagem adaptativa da resistência aos glicocortcóides seria um mecanismo complementar que instrumentalizaria os sagüis a se adaptarem aos desafios freqüentes e imprevisíveis em seu habitat natural.

A hipoglicemia acentuada parece ter influenciado a regulação térmica. Isto pode ser notado no grupo S onde houve uma queda acentuada da temperatura retal, concomitante a hipoglicemia, com uma forte correlação entre ambas. De fato, este

grupo foi penalizado metabolicamente pelos efeitos do estresse, ao dispor de menor aporte energético. Entretanto, uma queda de 2 a 3 °C na temperatura retal, é um evento fisiológico observado em sagüis comuns, que ocorre no período noturno durante o sono, sugerido como uma estratégia de economia energética (M. B. Cordeiro de Souza, comunicação pessoal). Portanto, pode ser que a queda na temperatura retal no grupo S durante o experimento, signifique uma adaptação ao baixo aporte de nutrientes pela inibição comportamental de comer na fase pós. Esta baixa TR parece ser uma resposta adaptativa, pois mesmo não havendo crise metabólica no grupo C e E, estes grupos não diferiram do grupo S.

A temperatura retal foi significativamente maior do que a TTE em todos os grupos, na fase de pré-tratamentos. Este achado está em concordância do que foi observado em outros estudos com primatas, em que a TR é maior do que as temperaturas timpânicas, explicando-se que este fenômeno se deve ao processo de metabolismo constante do tecido cerebral. Esta contante ativação, leva à produção de fatores vasodilatadores como CO_2 (subproduto do metabolismo) e NO (ativada por ação reflexa autonômica). Entretanto, a TR não se diferenciou da TTD, com exceção do grupo S na fase pré. Esta discrepância é surpreendente e uma análise demandaria novas abordagens para entender o fenômeno. Isto porque se esperaria uma diferença da TR, que geralmente é mais alta, em relação à TTD, pois é na porção direita de estruturas límbicas, corticais e hipotalâmicas, onde ocorreria a regulação preponderante das emoções (Pauli et al., 1999). O lado direito é indicado como predominante na inibição comportamental e ativação emocional (Lyons et al., 2000).

Se os fundamentos do estudo do metabolismo cerebral pela termometria timpânica estão corretos, então se esperaria uma menor TTD em relação à TR. Entretanto, a TTD e a TR não se diferenciaram em na fase pré e na pós, com uma exceção: no grupo S a TR foi maior do que a TTD. Inversamente ao esperado, a TTE foi significativamente menor do que a TR.

Tentativas de explicação para este fenômeno podem incorrer em especulação. Se isto for aceito, pode se argumentar que, ao contrário do que é normalmente defendido na maioria dos estudos de termometria timpânica, lateralidade e metabolismo (Boyce et al., 1996; Meiners & Dabbs, 1977), o controle emocional em sagüis está mais relacionado ao lado esquerdo.

Como o comportamento depende do metabolismo cerebral (e é influenciado pelo mesmo), a alteração comportamental marcante no grupo E foi a redução do agonismo. Isto sugere que houve uma menor ativação emocional, o que se esperaria estar ligado a um relaxamento no metabolismo cerebral direito, representada por uma menor TTD. Isto não ocorreu. Alternativamente, o efeito trófico do enriquecimento (discutido anteriormente), pode ter favorecido um aumento da atividade cognitiva, preponderantemente ligada a estruturas do lado esquerdo do cérebro. Neste caso, se maior metabolismo significa menores temperaturas, os resultados são contraditórios, pois no lado esquerdo ocorreram menores temperaturas em relação à TR. A performance na latência de saída e erros no labirinto entre o grupo C e o grupo E foram semelhantes, o que sugere que a melhoria ou ativação de estruturas de aprendizagem (cognitivas) não diferiu entre ambos. A TTE também não, o que torna difícil interpretar os dados com esta argumentação.

A nosso ver, esta é uma questão aberta e o nosso estudo contradiz o senso comum, embora Parr e Hopkins (2000) estudando reação emocional em chimpanzés, tenham lançado a sugestão de que alterações no lado esquerdo (com maiores diferenças térmicas) estejam mais relacionadas ao controle emocional. Conclui-se que são necessários mais estudos e de forma mais controlada para entender o processo de regulação térmica timpânica, as relações entre TR, TT e metabolismo cerebral.

O microclima em animais criados livremente, pode afetar profundamente a atividade geral, o forrageio e o comportamento reprodutivo (Prosser & Heath, 1991). Animais domésticos criados de forma semi-extensiva ou tipo semi-natural, encontram sérios problemas frente às variações climáticas. Em animais de laboratório, semi-selvagens criados em sistemas mistos de viveiros abrigados e expostos às intempéries, como ocorrente no CPUnB, também estariam sujeitos a estas variações.

Os resultados indicaram valores mais extremos de temperatura mínima e umidade máxima, no pavilhão do que no recinto de estresse. Apesar desta diferença, o comportamento do grupo enriquecido alojado no pavilhão, foi bem estável em relação ao grupo controle, alojado neste mesmo local. No grupo estresse, por outro

lado, observou-se uma grande variabilidade comportamental, em que pese a maior estabilidade microclimática.

Estas observações sobre o comportamento, também são válidas para as variáveis fisiológicas. Se o microclima estivesse influenciando fortemente a fisiologia e o comportamento, então se esperaria uma semelhança maior entre os grupos controle e enriquecido. O grupo estresse poderia apresentar menor variabilidade nas respostas comportamentais e fisiológicas. Além disso, estatisticamente, por meio de uma análise discriminante, o grupo enriquecido esteve mais próximo do grupo controle, do que o grupo estresse, sugerindo que as alterações climáticas não diferenciou estes grupos.

Considerando que o problema climático nesta região do Planalto Central, são as mínimas de umidade e as máximas de temperatura ambiente (Eiten, 1972). interpretou-se que os extremos de temperatura e umidade não estariam afetando criticamente o comportamento e a fisiologia dos sujeitos alojados em qualquer dos recintos. Além disso, a menor variação ambiental verificada no recinto de estresse, parece trazer mais estabilidade à homeostasia dos sujeitos ali alojados, quando comparado aos sujeitos no pavilhão de controle e enriquecimento.

Baseado nestes argumentos interpreta-se que as alterações comportamentais e fisiológicas encontradas neste estudo, estão sob a influencia de fatores outros que as variações microclimáticas. Até é possível que a condição seminatural tenha trazido uma maior capacidade adaptativa dos animais alojados no CPUnB, do que relatado para colônias totalmente fechadas, como veremos adiante.

4.3 ANÁLISE COMPORTAMENTAL NA FASE DE HABITUAÇÃO

A exploração livre do labirinto é uma oportunidade para se estudar o processo de habituação, um tipo de aprendizagem. Além disso o labirinto é um ambiente estranho e pode ser usado para comparar diferentes tipos de reações emocionais. Os resultados deste estudo são ilustrativos de que os grupos, após os tratamentos, reagiram diferentemente à exposição a um novo ambiente.

Da primeira até a segunda passagem no labirinto, os sujeitos não se diferenciaram nos comportamentos avaliados (ambulação, descansar, explorar, marcar, agonístico e coçar).

Na terceira sessão de passagem pelo labirinto livre, houve uma clara diferença entre o grupo E em relação ao grupo C e S. O grupo E explorou por mais tempo do que C e S. Esta diferença se manteve na quarta sessão, mas desta, o grupo E se diferenciou somente em relação ao grupo S, não ocorrendo diferenças em relação ao grupo C. Devido ao valor intermediário de tempo de exploração, o grupo C também não se diferenciou em relação ao grupo S.

Na quinta sessão o grupo S manteve um baixíssimo nível de exploração, se diferenciando não somente aos altos índices de exploração do grupo E mas também, em relação ao grupo C. O grupo C se aproximou dos níveis do grupo E e não se diferenciou deste. Entretanto o grupo C foi o único que descansou nesta sessão, caracterizando-o como significativamente diferente do grupo E e S.

Na sexta sessão os grupos voltaram a não se diferenciar estatisticamente. Porém, na sétima sessão, o grupo C voltou a descansar por mais tempo, diferenciando-se significativamente do grupo E, mas não diferindo do grupo S. O grupo S, embora apresentasse algum descansar nesta sessão, não se distinguiu do grupo C e nem do grupo E.

A habituação foi descrita brevemente nos estudos de Barros e colaboradores (2000; 2001; 2002). Estes autores utilizaram a locomoção (ambulação) como indicativo de que, comparado à primeira sessão, há uma diminuição ao longo das sessões. No presente estudo, não se analisou as estatisticas da ambulação e diferenciação entre as sessões. Entretanto pode se visualmente verificar que houve um decréscimo e estabilidade de ambulação a partir da segunda sessão, no grupo E. Esta estabilidade não ficou evidente para o grupo C e S. Pelo contrário, aparentemente o grupo S demostrou oscilações entre as sessões, destacando-se a 4ª e 7ª sessão. No grupo C, estas oscilações ficaram menos evidentes, mas pode se visualizar dois picos, na 3ª e 6ª sessão, quando comparada aos níveis baixos nas outras sessões (excetuando-se a primeira).

Especificamente, o comportamento de explorar foi determinante para diferenciar os grupos. Inicialmente, nas duas primeiras sessões não ocorreram diferenças entre os grupos. Entretanto, na 3ª, sessão parece ter ocorrido uma desinibição no comportamento de explorar do grupo E, em um patamar que parece ter se mantido estável e diferenciado do grupo S nas próximas 2 sessões. Um pouco

tardiamente o grupo C também explorou mais do que o grupo S (a partir da 3ª sessão). Os grupos não se diferenciaram a partir da 6ª sessão.

Explorar pode ser interpretado como a busca de significado no ambiente, um mecanismo de adaptação complexo em primatas (Meyer-Holzapfel, 1968). Isto é importante, pois o reconhecimento e a busca de atividades alternativas no ambiente, podem suplantar comportamentos defensivos ou expectativas "defensivas". Primatas e especialmente sagüis, são conhecidos por um comportamento ativo, de busca de alimentos e interação com o meio, em ambiente natural. Seu comportamento defensivo se caracteriza por ocultação e criptismo, o que leva a interpretar a exploração como um comportamento relacionado á diminuição do medo e da ansiedade. Neste particular, o grupo E foi mais rápido do que o grupo C e preponderante sobre o grupo S na aquisição de comportamentos específicos de adaptação.

Assim como observado por Blanchard e colaboradores (Blanchard et al.,1998), na avaliação de risco em ratos, os dominantes, com menor nível de cortisol, foram os que se distinguiram em explorar o ambiente após a exposição ao predador. Aqueles autores interpretaram que estes animais mais exploradores, tiveram maior eficiência em avaliar o risco de explorar o ambiente, sendo vantajoso para que realizassem comportamentos que aumentam as chances de sobrevivência e reprodução.

Se por um lado houve esta adaptação mais rápida do grupo E, verificou-se que o descansar foi preponderante no grupo C em relação aos demais grupos, ao final das sessões, quando se esperava que os animais já estivessem consistentemente habituados. Descansar é um comportamento interpretado como reparador e positivamente relacionado ao bem estar. Neste quesito, seria interessante interpretar que apesar da adaptação mais rápida do grupo E, o grupo C adquiriu o estado de bem estar mais consistente do que o grupo E. Seria correto interpretar que o grupo C adotou uma estratégia de "espera-ganha" (*win-stay*) enquanto o grupo E adotou uma estratégia ativa de sair do labirinto (*win-shift*) ao explorar mais. Estas estratégias foram observadas em testes cognitivos em *C. jacchus*, podendo significar alternativas e plasticidade na resolução de problemas do ambiente.

Reatividade emocional e estilos de lida são derivados, como todo fenótipo, da interação gênica e ambiente. Neste estudo, pode-se observar que o enriquecimento ambiental causou um longo efeito na propensão dos sujeitos em explorarem mais o ambiente, adquirindo talvez o que Koolhaas et al (2000) definiram como um perfil proativo (*proactive*). O grupo C por sua vez parece ter se definido tardiamente por um estilo proativo. Em compensação, o grupo S, face à experiência passada durante o experimento, parece ter desenvolvido um estilo comportamental reativo (*reactive*), de espera passiva (na habituação e teste com a droga) ou ocultação (na fase de estresse). A neuroendocrinologia de animais com estilo reativo, que adotam estratégias passivas de defesa, é caracterizada de maneira geral, por menor ativação catecoleminérgica e maior glicocorticosolemia (Koolhaas et al., 2000); esta última condição parece estar adequada ao grupo S.

O estilo de defesa adotado, se proativo ou reativo, coloca os animais sob a susceptibilidade de diferenças alterações clínicas. Ademais, se prediz que psicofármacos agem diferentemente conforme o estilo (Haller et al, 2000). Por exemplo, camundongos proativos são mais suscetíveis ao efeito de apomorfina, um agonista dopaminérgico (Koolhaas et al., 2000). Estes estilos de defesa e resolução de problemas nos sujeitos deste estudo, se refletiram no teste com a droga, como será discutido adiante.

A adoção de diferentes estratégias, devida à experiência passada, parece ter alterado susceptibilidades serotonérgicas. Aliás estas vias parecem ser extremamente plásticas e suscetíveis às alterações do ambiente (Azmitia, 1999). Os GCs permitem um crescimento neuronal, que por sua vez, devido à ubiqüidade no cérebro, são pensados como mediadores de vários aspectos comportamentais relacionados às emoções e à cognição (Azmitia, 1999).

A perda da capacidade em memorizar está amplamente relatada na literatura, sendo a conseqüência de fatos traumáticos em humanos. As alterações neurais encontradas levam a duas hipóteses principais em predizer que fatos traumáticos afetaram sistemas de memória (Markowitsch, 1998). O primeiro mecanismo defende que a interação dos glicorticóides e o balanço de seus receptores são críticos para manutenção, estocagem e evocação a informação. O segundo defende que uma ativação prolongada de sistemas colinérgicos são fundamentais para formação de

memórias. Em ambos entretanto, parece que o desenvolvimento de uma dificuldade mnemônica derivada de traumas, apresenta um envolvimento maior do eixo HPA (Markowitsch, 1998).

Neste estudo, os efeitos sobre a dificuldade em reduzir a latência de saída, um efeito que pode ser interpretado como uma dificuldade de aprendizagem e memorização, pode ser explicado devido às conseqüências do isolamento mais do que a novidade do estressor. Evidencias de observações em roedores, são sugestivas de que o isolamento aumenta as interleucinas no hipocampo e córtex, piorando a consolidação do aprendizado (Pugh et al., 1999; Pugh et al., 2001). Em suínos, o isolamento e a exposição a um ambiente novo, causam uma ruptura no processo de aprendizagem espacial (Laughlin et al., 1999). Em roedores, o estresse crônico de contenção e o isolamento causaram uma deficiência na memória espacial no labirinto em "Y" (Conrad et al., 1999). Em cobaias isolados, um ambiente socialmente inadequado, levou á uma baixa performance em testes espaciais (Bartesaghi & Sagai, 2001). O isolamento social contínuo em *Saimiris* causou hipercortisolismo duradouro (Levine et al., 1997). A alta concentração de cortisol observada no grupo S pode ter contribuído para a dificuldade de aprendizagem, da saída do labirinto.

Possivelmente os animais do grupo S sofreram conseqüências semelhantes aos serem expostos ao labirinto e ao herdarem as conseqüências do estresse do isolamento. O retraimento e a perda do ímpeto consumatório para comportamentos essenciais à sobrevivência (comer, descansar, etc), é característico de comportamentos que são mediados pela ação indireta das interleucinas em estados mórbido. A forte ativação de monócitos, linha de defesa imunológica primária e fonte de IL-1β, sugere que houve uma mediação através da cadeia química para ativação de cortisol, tanto por ação central ou nas estações endócrinas intemediárias. Isto foi suficiente para que inibisse por longo tempo, o efeito de ativação de receptores MR e o aumento de fatores tróficos neurais. Interessante notar que para evitar confundir o efeito do ambiente novo, neste estudo a performance da saída do labirinto somente foi mensurada a partir da 5ª. sessão de habituação. Portanto, os efeitos na aprendizagem estariam mais ligados ao isolamento.

O mecanismo de piora na consolidação do aprendizado, pode ser através da inibição de LTP, pois as interleucinas diminuem a transmissão glutamatérgica por

ativação de receptores de adenosina A_1. A despolarização pós sináptica é diminuída na LTP, pois as interleucinas aumentam a condutância do íon cloro no receptor GABA, além de diminuírem o influxo de cálcio (revisado em Pugh et al., 2001).

Alternativamente, áreas relacionadas ao aprendizado como o hipocampo e outras estruturas límbicas, se mostram sob menor vascularização e fluxo metabólico energético, em macacos estressados, investigados em testes de memória com retardo (Eberling *et al.*, 1997). Em testes mais simples como a localização em um labirinto em Y, se demonstrou que a performance depende da integridade hipocampal, pois atrofia induzida por drogas ou por contenção, pode causar uma deficiência acentuada dos ratos testados neste paradigma (Conrad et al., 1999). Distúrbios relacionados ao estresse são indutores de amnésia (Markowitsch, 1998). O bloqueio seletivo dos receptores MR, causa uma ineficiência na aprendizagem por habituação (Cole et al., 2000). O bloqueio de ambos os receptores (MR e GR) já é capaz de diminuir a resposta à aprendizagem (Cole et al., 2000).

A temperatura timpânica do grupo S não foi diferente entre as fases pré e pós tratamento, mas ocorreu uma correlação positiva entre a variação de TTE e a alteração de peso. A TR do grupo S esteve positivamente correlacionada com a glicemia. A variação glicêmica esteve correlacionada com a variação na concentração de hemácias. Estas correlações parecem não ser ao acaso e de fato, todas estas variáveis, significativamente ou não, reduziram os seus índices entre a fase pré e pós. A menor performance do grupo S na saída do labirinto, pode ser explicada por uma redução do metabolismo e menor aporte energético cerebral. O estresse é conhecido por causar alterações no metabolismo energético do cérebro, sendo até mesmo responsável, talvez, pela exacerbação dos danos causados pela estimulação excessiva de áreas críticas como o hipocampo, durante desafios emocionais intensos (Roy & Sapolsky, 1999).

A saída do labirinto, dependeria de algum tipo de memória espacial. Como se sabe, o hipocampo está envolvido em memória espacial. O estresse, através da elevação dos GCs nas vias serotonérgicas, é conhecido por exercer uma inibição mitótica na região CA3 do hipocampo em ratos, sagüis e macacos rhesus. Mais ainda, o estresse através do aumento dos GCs e dos efeitos nos receptores GR, pode causar uma inibição na LTP e uma facilitação na LTD (Pavlides & Mcewen, 1999).

Presume-se que os efeitos amnésticos neste estudo podem estar relacionados aos efeitos dos GCS, que atingiram níveis altos no grupo S. Quanto a isso, tanto o grupo E como C apresentaram melhor performance no aprendizado, ou em outras palavras, no escape do labirinto.

O aumento na exploração observada no grupo E, pode estar relacionado á uma maior preservação do comportamento espécie-específico de sagüis, tipicamente ativo e perscrutador. Naturalmente que esta preservação do comportamento específico, tem que se apoiar em um substrato neural íntegro. Mais do que a integridade, o grupo E pareceu ser mais eficiente na resolução do aprisionamento no labirinto. Procurou explorar mais o ambiente a partir da terceira sessão. Explorar o ambiente em uma espécie que adota estratégias de defesa mais passivas do que ativas, é considerado um sinal de menor ansiedade. O enriquecimento ambiental é conhecido por causar alterações neurofunconais em áreas como córtex e o hipocampo, que aumentam a capacidade de aprendizagem de ratos e primatas (Rosenzweig & Bennett, 1996) e diminuem a reatividade emocional. Presume-se que esta melhoria ocorra não somente devido aos efeitos tróficos, mas ao ativar com mais eficiência áreas cerebrais responsáveis pelo controle emocional (ver adiante).

O grupo C também rapidamente estabeleceu uma estratégia de explorar mais o ambiente. E de fato, o grupo C parece ter adotado a partir do final das sessões de habituação ao labirinto, uma estratégia mista (passiva e ativa) e resolução do aprisionamento, ao aumentar a exploração e posteriormente descansar mais.

Lyons et al (2000) observaram em macacos-de-cheiro (*Saimiri sicureus*) uma piora no desempenho de um teste cognitivo, sob efeito de altos níveis crônicos de cortisol, em que deveria haver um inibição da "direção do objetivo em ganhar uma recompensa" – o "teste da mudança do objetivo-em-vista". Lyons et al (2000) interpretaram estes resultados como uma piora no controle do comportamento por vias corticais dopaminérgicas , pois os animais depois de treinados, deveriam re-orientar a direção do ato de retirar uma recompensa de uma caixa cujo orifício permissivo para tal, havia trocado de lado. A diferença nos erros e latências de saída do labirinto observadas, podem ser em parte imputadas a uma menor eficiência no aprendizado, tanto por alterações hipocampais diretas, alterando a capacidade de

orientação espacial, como por alterações corticais dependentes de cortisol, na transmissão dopaminérgica frontal.

A hipoglicemia observada no grupo estresse, precedendo a fase de testes no labirinto, pode explicar um menor aporte energético cerebral e baixa performance nas saídas do labirinto. Entretanto, apesar da resistência aos GCs, é mais plausível propor que da hipoglicemia, o metabolismo cerebral foi preservado, mas não suficientemente para proteger o hipocampo da ação devastadora de altas concentrações de cortisol, nos receptores MR e GR. A ação de vias serotonérgicas e dopaminérgicas, parecem ser sensíveis aos efeitos dos GCs, e poderiam ser causadoras das modificações comportamentais e cognitivos observados neste estudo.

4.4 FASE DE TESTE COM A DROGA

No trabalho que realizamos no CPUnB com o desenvolvimento do modelo de labirinto em oito e exposição ao predador, o diazepam, uma droga ansiolítica clássica, causou uma redução em "coçar" e aumentou o comportamento de explorar. Ao mesmo tempo, a droga foi capaz de induzir um aumento substancial no tempo gasto próximo ao modelo de predador (Barros et al., 2000).

Outro estudo, em condições semelhantes, investigou os efeitos da substância P (SP) no teste do labirinto e exposição ao predador (Barros et al., 2002). Estes autores observaram que a locomoção aumentou sob todas as doses de SP em relação à salina mas não alterou substancialmente o comportamento exploratório e os comportamentos deslocados (coçar, cheirar e lamber). Devido aos efeitos dose dependentes da SP, aqueles autores verificaram que ocorreu um aumento significativo no quadrante mais próximo do predador (QP) sob doses de 5, 50 e 500 μg/Kg, em relação à salina. Isto foi interpretado como um efeito ansiolítico da SP, embora não tenha alterado outros comportamentos indicativos de reação emocional.

Barros et al. (2001), utilizando o mesmo modelo, testaram os efeitos de buspirona nas mesmas doses empregadas neste estudo (0,1 mg/Kg, 0,5 mg/Kg e 1,0 mg/Kg) e salina. Estes autores observaram que a freqüência de marcação de cheiro diminuiu em doses de 0,5 mg/Kg e 1,0 mg/Kg, quando comparados à salina.

Este resultado contrasta com o achado neste estudo, pois em nenhuma das doses e em nenhum grupo, se observou algum efeito significativo em marcar. Uma das possíveis explicações desta discrepância pode ser o nível de mensuração, pois o tempo absoluto, parâmetro medido neste estudo, poderia ter um efeito estatístico, contrastando com a freqüência estudada naquele outro estudo. Entretanto, marcação de cheiro é um comportamento muito breve, sem prolongadas seqüências, o que pode ter contribuído para ficar mais próximo do índice dado pela freqüência, observado no estudo de Barros et al. (2001).

Neste estudo, foi possível observar que o comportamento de explorar se modificou. Comparando-se dentro dos grupos, a dose de 0,5 mg/Kg inibiu a exploração do ambiente, quando comparada ao efeito salina, no grupo enriquecido. Em relação à dose de 0,5 mg/Kg, a dose de 1,0 mg/Kg de buspirona desencadeou uma redução ainda maior no comportamento de explorar, quase atingindo uma significância estatística. A queda em exploração foi gradual e inversamente proporcional ao aumento da dose de buspirona. Paradoxalmente, no grupo S houve um maior aporte de explorar na dose de 1,0 mg/Kg em relação à dose de 0,1 mg/Kg. Estes resultados estão em contraste com aqueles apresentados por Barros et al (2001), quando observaram uma tendência para aumentar a exploração na dose de 0,5 mg/Kg. Contudo, esta tendência de aumento da exploração foi observada no grupo estressado mas somente sob o efeito de uma dosagem maior, ou seja, 1,0 mg/Kg, relativamente à dose de 0,1 mg/Kg.

No presente estudo, pode se observar um efeito das doses de buspirona na proximidade do sujeito ao predador. Comparando os grupos entre si, pode se observar que a dose de 1,0 mg/Kg foi efetiva em diferenciar os grupos, resultando em um maior tempo na proximidade ao predador do grupo enriquecido, comparado ao grupo controle e estresse. Entretanto, esta diferença embora tenha atingido um patamar três vezes maior, foi significativamente limiar.

Comparando o efeito das doses em cada grupo, pode se observar que o grupo controle permaneceu mais tempo próximo ao predador na dose de 0,5 mg/Kg em relação à dose de 1,0 mg/Kg. No grupo enriquecido observou-se o contrário, que a dose de 0,5 mg/Kg inibiu fortemente a proximidade do predador em relação à salina. Em contraste ao efeito inibitório da dose anterior, a dose de 1,0 mg/Kg estimulou um

maior tempo de permanência próximo ao predador nos sujeitos do grupo E. O grupo estresse, pareceu ser refratário às diversas doses e à salina, pois não ocorreram diferenças significativas na proximidade do predador.

No estudo de Barros et al. (2001) com buspirona, houve uma maior proximidade ao predador nas doses de 0,1 e 0,5 mg/Kg, quando comparada à salina. Embora a abordagem e o nível de comparação tenha sido um pouco diferente, o resultado daqueles autores contrasta frontalmente com o deste estudo.

Primeiro, comparado à salina, um dos grupos (enriquecido) mostrou um efeito oposto, ou seja, de menor permanência no quadrante mais próximo ao predador. Por outro lado, não houve diferença de qualquer dose de buspirona em relação à salina, no grupo controle e estresse.

As diferenças emergiram quando a dose de 0,5 mg/Kg foi comparada à dose de 1,0 mg/Kg no grupo controle. Isto pode ter sido o resultado da forte inibição do comportamento de proximidade observado na dose de 1,0 mg/Kg, o que poderia resultar em um efeito de contraste.

Esta alteração do comportamento sob o efeito de buspirona neste estudo, associado à investigação realizada por Barros et al. (2001), sugere que o comportamento de explorar e locomoção são sensíveis à ação de uma droga agonista 5-HT_{1A} como a buspirona, no paradigma do labirinto em oito com exposição ao predador. A tendência de diminuição da ambulação na dose de 1,0 mg/Kg no grupo controle é semelhante à diminuição da ambulação do estudo de Barros et al. (2001), embora neste último a dose de 1,0 mg tenha sido mais efetiva. Este é um efeito mais sedativo do que emocional, sugerido pelo trabalho daqueles autores e outros (por exemplo, Costall et al.,1992) usando a mesma dose de buspirona, o que parece pertinente na interpretação dos dados do presente estudo.

Outros comportamentos oriundos dos estudos com buspirona, não são relatados por Barros et al (2001), mas neste estudo pudemos observar uma tendência para maior tempo de ambulação do grupo C, na dose de 0,5 mg/Kg, em relação à dose de 1,0 mg/Kg. Este aumento da ambulação na dose efetiva de 0,5 mg/Kg, contrasta com a diminuição relatada em outros estudos com roedores e macacos empregando agentes serotonérgicos (Raleigh et al., 1985). Outros comportamentos, como marcar,

descansar, parar, coçar e agonísticos não foram alterados em quaisquer das doses de buspirona ou salina.

O comportamento de explorar foi o mais efetivo sob o efeito da buspirona, tanto neste como no estudo de Barros et al. (2001). No presente estudo, o explorar incluiu a manipulação (além de cheirar e lamber), o que pode ter reforçado os efeitos estatísticos observados. Entretanto, mais importante, no explorar ocorreu uma discrepância entre os grupos. O grupo enriquecido diminuiu o explorar, quase que gradativamente, enquanto o grupo estresse aumentou o explorar na dose de 1,0 mg/Kg. Neste caso, quanto ao explorar, o grupo estresse se assemelhou mais aos sujeitos do estudo de Barros et al (2001), que não sofreram manipulações. Entretanto o grupo controle deste estudo não sofreu efeitos no explorar. Talvez a definição operacional do comportamento de explorar, o nível de mensuração e a análise estatística podem ter influenciado nesta discordância de resultados.

Por outro lado, o grupo E vinha desde o labirinto, apresentando um comportamento de explorar diferenciado, em relação ao grupo C e especialmente ao grupo S. Interpretou-se que os efeitos advindos do enriquecimento, predispuseram os animais do grupo E a responderem diferentemente aos efeitos da buspirona. Ao invés de ocorrer um aumento (que se esperaria), os sujeitos do grupo E diminuíram o explorar, resultante, talvez, do aumento glicocortisolêmico causada pela buspirona, observada em administração aguda em roedores (Meltzer & Maes, 1994; Haller, 2000) e em humanos (Maes et al., 1996). Dados experimentais com roedores sugerem que o isolamento social melhora a ação ansiolítica da buspirona, mas pode ser diminuída pelos glicocorticódies (Haller, 2001).

Drogas ansiolíticas diminuem a atividade teta no hipocampo e principalmente no sistema septo-hipocampal (Mcnaughton, 1997). Buspirona tem a capacidade de liberar glicocorticóides em ratos (ao contrário de ansiolíticos clássicos), pode piorar o efeito de navegação em testes de labirinto em água mas parece não afetar o aprendizado de defesa inato (Mcnaughton, 1997). A buspirona age diretamente na amígdala e no sistema septo-hipocampal (Mcnaughton, 1997). A inibição inicial desencadeada por receptores serotonérgicos para a buspirona, sensibiliza fortemente a amígdala, que responde com forte estimulação por via amígdalo-hipocampal.

Os glicocorticóides podem diminuir determinados comportamentos como o exploratório (Haller et al., 2001). Neste estudo é bom observar que a diversidade do comportamento em sagüis esteve negativamente correlacionada com os índices de cortisol no grupo estresse. Além disso, as butirofenonas *per se* podem desencadear efeitos ansiogênicos em animais sob tratamento agudo (brevemente revisado em Viana et al., 1994).

O efeito ansiolítico das butirofenonas é mais observado em tratamentos crônicos. Entretanto, neste estudo observou-se que um efeito ansiolítico ocorreu no grupo estresse enquanto na dose de 1,0 mg/Kg houve uma forte tendência de aumento de explorar. Portanto, pode-se sugerir que as condições adversas prolongadas tenham sensibilizado o sistema serotonérgico, particularmente os receptores 5HT-$_{1A}$, a responderem ao efeito ansiolítico.

Se interpretarmos sob o ponto de vista de estratégia de defesa, pode se supor que a buspirona liberou o comportamento de explorar no grupo S em doses elevadas, em que pese a baixa ambulação. Isto pode significar que a buspirona tenha influencia específica sobre o comportamento de exploração. Explorar pode ter sido uma mudança de estratégia de resposta ao labirinto e exposição ao predador. Mais precisamente, pode ter estimulado a exploração do ambiente para a busca de uma estratégia alternativa. As butirofenonas, agindo como agonistas em receptores 5HT-$_{1A}$, são conhecidas por estimular em roedores comportamentos relacionados à defesa, especificamente ao aumento da perscrutação do ambiente (*scanning*) e diminuição da avaliação de risco (Setem et al., 1999).

O explorar no repertório de sagüis poderia ser um correlato de reação emocional, diminuindo no caso de aversão e aumentando no caso de ansiólise. Os resultados dos estudos de Barros e colaboradores (2000; 2001; 2002) são claros quanto ao efeito de drogas com ação ansiolítica em sagüis. A diminuição de explorar no grupo enriquecido, pode estar relacionada ao efeito em vias serotonérgicas em coadjuvação com o eixo HPA, resultando em aumento ansiolítico. Isto pode ser verdade se considerarmos que na dose de 0,5 mg/Kg, que normalmente causa um aumento da proximidade ao predador (grupo controle neste estudo; Barros et al, 200; 2001; 2002), induziu um menor tempo no QP no grupo enriquecido.

Isto nos remete à possibilidade de que as vias serotonérgicas, nestas condições de estresse, estejam suficientemente alteradas para responder de maneira específica ao efeito de buspirona. Por exemplo, Connor et al (1997) observaram que o estresse do nado forçado em roedores causava um robusto efeito no aumento dos GCs com concomitante redução de 5-HT no hipotálamo. Isto pode levar ao mascaramento dos efeitos ansiolíticos pela ação dos GCs, que por vezes agem como "agentes endócrinos reforçadores de comportaaemtnos específicos" ou ter um efeito permissivo para a ação de ansiolíticos como a buspirona. Daí pode se explicar porque em parte a resposta dos grupos foi diferenciada com a administração de buspirona.

No grupo enriquecido, entretanto, a interação leva a uma resposta paradoxal, provavelmente devido a um aumento de cortisol. No grupo S, que apresentou altos níveis de cortisol na fase pós, a resposta à buspirona com a tendência de aumento do explorar com doses maiores, relativo ao estudo de Barros et al (2001), pode ser indicativo de que a resistência ao cortisol seria responsável por este efeito. Sob depressão sabe-se que há um escape do eixo HPA, com aumento dos GCs, no Teste de resistência a dexametasona (Maes et al., 1996). O efeito da buspirona em aumentar os GCs, acredita-se que possa ser por ativação direta dos receptores 5HT-$_{1A}$, ou alternativamente, pelo metabólito da buspirona, o 1-2-pirimidinil-piperazina (1-PP) que estimula catecolaminas adrenais, que por sua vez são potentes ativadores do eixo HPA (Maes et al., 1996). Em pacientes deprimidos, onde há uma baixa da sensibilidade ou número de receptores 5HT-$_{1A}$, observa-se uma resposta atenuada à buspirona. No presente estudo, uma dose relativa maior foi necessária para desencadear algum efeito desinibidor no grupo S. O grupo S, é bom lembrar, apresentou um comportamento inibido, quadro semelhante à depressão.

Em conjunto, os resultados indicam que a manipulação comportamental neste estudo induziu uma alteração na resposta á administração sistêmica de buspirona. Estes dados são importantes para a compreensão da variabilidade de resposta ao tratamento com buspirona que se observa em humanos. Isto é, diferentes reações podem estar relacionadas às diferentes histórias dos sujeitos. Este é um aspecto que merece outros estudos, particularmente pelas implicações clínicas terapêuticas no uso de fármacos psicotrópicos em distúrbios emocionais.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOT, D.H.; GEORGE, L.M.; BARRET, J.; HODGES, J.K.; O'BYRNE, K.T.; SHEFFIELD, J.W.; SUTHERLAND, I.A.; CHAMBERS, P.C.; KUNN, S.F.; RUIZ DE ELVIRA, M-C. Social control of ovulation in marmoset monkeys: a neuroendocrine basis for the study of infertility. In: ZIEGLER, T. E.; BERCOVITCH, F. B., eds. **Socioendocrinology of Primate Reproduction**. New York, Wiley-Liss, 1990. 217 p.

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

ALONSO, C.; FARIA, D.S.; LANGGUTH, A.; SANTEE, D.F. Variação da pelagem na área de intergradação entre *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*. **Revista Brasileira de Biologia**, v.47, n.4, p.465-470, 1987.

ANDREWS, N.; HOGG, S.; GONZALES, L.E.; FILE, S.E. 5-HT_{1A} receptors in the median raphe nucleus and dorsal hippocampus may mediate anxiolytic and anxiogenic behaviours respectively. **European Journal of Pharmacology**, v.264, p.259-264, 1994.

ARBORELIUS, L.; OWENS, M.J.; PLOTSKY, P.M.; NEMEROFF, C.B. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. **Journal of Endocrinology**, v.160, p.1-12, 1999.

ARMARIO, A.; MARTÍ, O.; MOLINA, T.; PABLO, J.; VALDES, M. Acute stress markers in humans: response of plasma glucose, cortisol and prolactin to two examinations differing in the anxiety they provoke. **Psychoneuroendocrinology**, v.21, n.1, p.17-24, 1996.

AZMITIA, E. C. Serotonin neurons, neuroplasticity, and homeostasis of neural tissue. **Neuropsychopharmacology**, v. 21, n. 25, p. 33S-45S, 1999.

BAHR, N.I.; PALME, R.; MÖHLE, U.; HODGES, J.K. Comparative aspects of the metabolism and excretion of cortisol in three individual nonhuman primates. **General and Comparative Endocrinology**, v.117, p.427-438, 2000.

BAKER, K.C.; AURELI, F. Behavioural indicators of anxiety: an empirical test in chimpanzees. **Behaviour**, v.134, p.1031-1050, 1997.

BAKER, M.A.; STOCKING, R.A.; MEEHAN, J.P. Thermal relationship between tympanic membrane and hypothalamus in conscious cat and monkey. **Journal of Applied Physiology**, v.32, p.739-742, 1972.

BALDWIN, J.D.; BALDWIN, J.I. The role of learning phenomena in the ontogeny of explotation and play. In: CHEVALIER-SKOLNIKOFF, S; POIRIER, F.E., eds. **Primate Bio-Social Development**. New York, Garland Publishing, 1977. 406 p.

BARRET, D.H.; GREEN, M.L.; MORRIS R.; GILES, W.H.; CROFT, J.B. Cognitive functioning and posttraumatic stress disorder. **American Journal of Psychiatry**, v.153, n.11, p.1492-1494, 1996.

BARROS, M.; BOERE, V.; HUSTON, J.B.; TOMAZ, C. Measuring fear and anxiety in the marmoset (*Callithrix penicillata*) with a novel predator confrontation model: effects of Diazepam. **Behavioural Brain Research**, v.108, p.205-211, 2000.

BARROS, M.; BOERE, V.; MELLO JUNIOR., E.L. ; TOMAZ, C. Reactions to potential predators in captive-born marmosets (*Callithrix penicillata*). **International Journal of Primatology,** v.23, n.5, p.443-454, 2002.

BARROS, M.; MELLO JUNIOR, E.L.; HUSTON, J.B.; TOMAZ, C. Behavioral effects of buspirone in the marmoset employing a predator confrontation test of fear and anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.68, n.2, p.255-262, 2001.

BARTESAGHI, R.; SERRAI, A. Effects of early environment on granule cell morphology in the dentate gyrus of the guinea-pig. **Neuroscience**, v.102, n.1, p.87-100, 2001.

BAYNE, K.; DEXTER, S.; SUOMI, S. Social housing ameliorates behavioral pathology in *Cebus apella*. **Laboratory Primate Newsletter**, v.30, n.2, p.7-11, 1991.

BECKER, J.B. Hormonal influences on extrapyramidal sensorimotor function and hippocampal plasticity. In: BECKER, J.B.; BREEDLOVE, S.M.; CREWS, D., eds. **Behavioral Endocrinology**. Cambridge, The MIT Press, 1993. 574 p.

BEERDA, B.; SCHILDER, M.B.H.; VAN HOOF, J.A.R.A.M.; DE VRIES, H.W.; MOL, J.A. Behavioural and hormonal indicators of enduring environmental stress in dogs. **Animal Welfare**, v.9, p.49-62, 2000.

BEGGS, J.M.; BROWN, T.H.; BYRNE, J.H.; CROW, T.; LEDOUX, J.E.; LEBAR, K.; THOMPSON, R.F. Learning and memory: basic mechanisms. In: ZIGMOND, M.J.; BLOOM, F.E.; LANDIS, S.C.; ROBERTS, J.L.; SQUIRE, L.R., eds. **Fundamental Neuroscience**. San Diego, Academic Press, 1999. p. 1411-1454.

BENZINGER, T.H. Heat regulation: homeostasis of central temperature in man. **Physiological Reviews**, v.49, p.671-759, 1969.

BERCOVITCH, F.B.; HAUSER, M.D.; JONES, J.H. The endocrine stress and alarm vocalizations in rhesus macaques. **Animal Behaviour**, v.49, p.1703-1706, 1995.

BERNARD, C.; GREEN, H. C. **Introduction to the study of experimental medicine**. In: BERNARD, C.; GREEN, H. C. Inglaterra: Dover, 1957. 226 p.

BERNARDINI, R.; JOHNSON, E.O.; KAMILARIS, T.; CHIARENZ, A.; CANTARELLA, G.; CALOGERO, AE.; LAMPEREUR, L.; CHROUSOS, G.P.; GIUFFRIDA, R.; GOLD, P.W. Increased ACTH and cortisol secretion after interleukin-1α injection in the common marmoset (*Callithrix jacchus jacchus*). **Life Sciences**, v.68, p.1657-1665, 2001.

BERNE, R.M.; LEVY, M.N. **Physiology**. Saint louis, Mosby, 1993.

BERNIER, N.J.; PETER, R.E. The hypothalamic-pituitary-interrenal axis and the control of food intake in teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.129B, p.639-644, 2001.

BIRD, S.J.; PARLEE, M.B. Of mice and men (and women and children): scientific and ethical implications of animals models. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.24, p.1219-1227, 2000.

BITRAN, D.; SHIEK, M.; DOWD, J.A.; DUGAN, M.M.; RENDA, P. Corticosterone is permissive to the anxiolytic effect that results from the blockade of hippocampal mineralocorticoid receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.60, n.4, p.879-887, 1998.

BJÖRKQVIST, K. Social defeat as a stressor in humans. **Physiology and Behavior**, v.73, p.435-442, 2001.

BJÖRNTORP, P. Neuroendocrine perturbations as a cause of insulin resistance. **Diabetes, Metabolism Research and Reviews**, v.15, p.427-441, 1999.

BLANCHARD, D.C.; SAKAI, R.R.; MCEWEN, B.; WEISS, S.M.; BLANCHARD, R.J. Subordination stress: behavioral, brain, and neuroendocrine correlates. **Behavioural Brain Research**, v.58, p.113-121, 1993a.

BLANCHARD, R.J.; HEBERT, M.; SAKAI, R.R.; MCKITTRICK, C.; HENRIE, A, YUDKO, E.; MCEWEN, B.; BLANCHARD, D.C. Chronic social stress: changes in behavioral and physiological indices of emotion. **Aggressive Behavior**, v.24, p.307-321, 1998a.

BLANCHARD, R.J.; MCKITTRICK, C.R.; BLANCHARD, D.C. Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. **Physiology and Behavior**, v.73, n.3, p.261-271, 2001.

BLANCHARD, R.J.; NIKULINA, J.N.; SAKAI, R.R.; MCKITTRICK, C.; MCEWEN, B.; BLANCHARD, D.C. Behavioral and endocrine change following chronic predatory stress. **Physiology and Behavior**, v.61, n.4, p.561-569, 1998b.

BLANCHARD, R.J.; YUDKO, E.B.; RODGERS, R.J.; BLANCHARD, D.C. Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. **Behavioural Brain Research**, v.58, p.155-165, 1993b.

BOCCIA, M.L., LAUDENSLAGER, M.L., BROUSSARD, C.L.; HIJAZI, A.S. Immune responses following competitive water tests in two species of macaques. **Brain, Behavior and Immunity**, v.6, p.201-213, 1992.

BOCCIA, M.L.; LAUDENSLAGER, M.L.; REITE, M.L. Individual differences in macaque responses to stressors based on social and physiological factors: implications for primate welfare and research outcomes. **Laboratory Animals**, v.29, p.250-257, 1995.

BOCCIA, M.L.; REITE, M.; LAUDENSLAGER, M. On the physiology of grooming in a pig tail macaque. **Physiology and Behavior**, v.45, p.667-670, 1989.

BOERE, V. Environmental enrichment for Neotropical primates in captivity: a review. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.543-551, 2001.

BOERE, V. **O cuidado com a prole em sagüis comuns *(Callithrix jacchus)***: uma abordagem funcional. Natal, 1994. 124p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

BOINSKI, S.; NOON, C.; STANS, S.; SAMUDIO, R.; SAMMARCO, P.; HAYES, A. The Behavioral profile and environmental enrichment of a squirrel monkey colony. **Laboratory Primate Newsletter**, v.33, n.4, p.1-5, 1994.

BORNSTEIN, M.H. Sensitive periods in development: structural characteristics and causal interpretations. **Psychological Bulletin**, v.105, n.2, p.179-197, 1989.

BOX, H. **Primate responses to environmental change**. London, Chapman-Hall, 1990. 430 p.

BOYCE, W.T.; HIHLEY, J.D.; JEREMIN, J.J.; CHAMPOUX, M.; SUOMI, S. J. Tympanic temperature asymmetry and stress behavior in rhesus monkeys and children. **Archives of Pediatric Adolescent Medicine**, v.150, p.518-523, 1996.

BRANDON, D.D.; MARKWICK, A.J.; CHROUSOS, G.P.; LORIAUX, D.L. Glucocorticoid resistance in humans and nonhumans primates. **Cancer Research**, v.49, p.2203s-2211s, 1989.

BRANTLEY, P.J.; THOMASON, B.T. Stress and stress management. In: GORECZNY, A.J., ed. **Handbook of Health and Rehabilitation Psychology**. New York, Plenum Press, 1995. 692 p.

BRATT, A.M.; KELLEYA, S.P.; KNOWLES, J.P.; BARRETO, J.; DAVISC, M. Long term modulation of the HPA axis by the hippocampus. **Psychoneuroendocrinology**, v.26, n.2, p.121-145, 2001.

BREZNITZ, S.; GOLDBERGER, L. Stress research at a crossroads. In: BREZNITZ, S.; GOLDBERGER, L., eds. **Handbook of Stress**. New York, The Free Press, 1986. 819 p.

BUCHANAN, T.W.; LOVALLO, W.R. Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. **Psychoneuroendocrinology**, v.26, n.3, p.307-317, 2001.

CAMERON, H.A.; MCEWEN, B.S.; GOULD, E. Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. **Journal of Neuroscience**, v.15, p.4687-4692, 1995.

CAMERON, H.A.; WOOLLEY, C.S.; GOULD, E. Adrenal steroid receptor immunoreactivity in cells born in the adult rat dentate gyrus. **Brain Research**, v.611, p.342-346, 1993.

CAMERON, J.L. Stress and behaviorally induced reproductive dysfunction in primates. **Seminars In Reproductive Endocrinology**, v.15, n.1, p.37-45, 1997.

CANALE, G.R.; NEGRÃO, M.F.; PIANTA, T.F.; BOERE, V.; TOMAZ, C. Reatividade emocional em sagüis (*Callithrix penicillata*). In: SANTOS, C. V.; VIEIRA, M. L., org. Anais do XVIII Encontro Anual de Etologia, 18. Florianópolis, 2000. **Anais**. Florianópolis, UFSC/CCB, 2000. p.167.

CARERE, C.; WELINK, D.; DRENT, P.J.; KOOLHAAS, J.M.; GROOTHUIS, T.G.G. Effect of social defeat in a territorial bird (*Parus major*) selected for different coping styles. **Physiology and Behavior**, v.73, n.3, p.427-433, 2001.

CAREY, G.J.; COSTALL, B.; DOMENEY, A.M.; JONES, D.N.C.; NAYLOR, R.J. Behavioural effects of anxiogenic agents in the common marmoset. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.42, p.143-153, 1992.

CARLSTEAD, K. Effects of captivity on the behavior of wild mammals. In: KLEIMAN, D.G.; ALLEN, M.E.; THOMPSON, K.V.; LUMPKIN, S. **Wild Mammals In Captivity**. Chicago, The University Chicago Press, 1996. p.317-333.

CATON, J.M.; HILL, D.M.; HUME, I.D.; CROOK, G.A. The digestive strategy of the common marmoset, *Callithrix jacchus*. **Comparative Biochemical Physiology**, v. 114A, n.1, p.1-8, 1996.

CHAMOVE, A.S. Cage design reduces emotionality in mice. **Laboratory Animals**, v.23, p.215-219, 1989.

CHAMPOUX, M.; HWANG, L.; LANG, O.; LEVINE, S. Feeding demand conditions and plasma cortisol in socially-housed squirrel monkey mother-infant dyads. **Psychoneuroendocrinology**, v.26, p.461-477, 2001.

CHENEY, D.L.; WRANGHAM, R.W. Predation. In: SMUTS, B.B; CHENEY, D.L.; SEYFARTH, R.M.; WRANGHAM, R.W.; STRUHSAKER, T.T. **Primates Societies**. Chicago, Chicago University Press, 1987. 578 p.

CHROUSOS, G.P.; RENQUIST, D.; BRANDON, D.; EIL, C.; PUGEAT, M.; VIGERSKY, R.; CUTLER JUNIOR; G.B., LORIAUX; D.L.; LIPSETT, M.B. Glucocorticoid hormone resistance during primate evolution: receptor-mediate

mechanisms. **Proceedings of National Academy of Sciences USA**, v.79, p.2036-2040, 1982.

CILIA, J.; PIPER, D.C. Marmoset conspecific confrontation: na ethologically-based model of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.58, p.85-91, 1997.

CIRULLI, F. Role of environmental factors on brain development and nerve growth factor expression. **Physiology and Behavior**, v.73, p.321-330, 2001.

CLARKE, A.S. ACTH and glucocorticoid responses under two conditions of stress in macaques. **American Journal of Primatology**, v.25, p.115-124, 1991.

CLARKE, A.S.; EBERT, M.H.; SCHMIDT, D.E.; MCKINNEY, W.T.; KRAEMER, G.W. Biogenic amine activity in response to fluoxetine and desipramine in differentially reared rhesus monkeys. **Biological Psychiatry**, v.46, p.221-228, 1999.

CLARKE, A.S.; SOTO, A.; BERGHOLZ, T.; SCHNEIDER, M.L. Maternal gestational stress alters adaptive and social behavior in adolescent rhesus monkey offspring. **Infant Behavior and Development**, v.19, p.451-461, 1996.

COE, C.L.; FRANKLIN, D; SMITH, E.; LEVINE, S. Hormonal responses accompanying fear and agitation in the squirrel monkey. **Physiology and Behavior**, v.29, p.1051-1057, 1982.

COE, C.L.; MENDOZA, S.P.; DAVIDSON, J.M.; SMITH, E.R.; DALLMAN, M.F.; LEVINE, S. Hormonal response to stress in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). **Neuroendocrinology**, v.26, p.367-377, 1978.

COLE, M.A.; KALMAN, B.A.; PACE, T.W.W.; TOPCZEWISKI, F.; LOWREY, M.J.; SPENCER, R.L. Selective blockade of the mineralocorticoid receptor impairs hypothalamic-pituitary-adrenal axis expression of habituation. **Journal of Neuroendocrinology**, v.12, p.1034-1042, 2000a.

COLLETTE, J.C.; MILLAM, J.R.; KLASING, K.C.; WAKENELL, P.S. Neonatal handling of Amazon parrots alters the stress response and immune function. **Applied Animal Behaviour Science**, v.66, n.4, p.335-349, 2000.

CONDE, C.A.; COSTA, V.; TOMAZ, C. Effects of emotional reactivity on inhibitory avoidance in the elevated T-maze. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research,** v.33, p.233-236, 2000.

CONDE, C.A.; COSTA, V.; TOMAZ, C. PROSTCOM, un conjunto de programas para registro y procesamiento de datos comportamentales en investigaciones de fisiologia y farmacologia. **Biotemas**, v.13, p.145-159, 2000.

CONNOR, T. J.; KELLY, J. P.; LEONARD, B. E. Forced swim test-induced neurochemical, endocrine, and immune changes in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 58, n. 4, p. 961-967, 1997.

CONRAD, C.D.; LEDOUX, J.E.; MAGARIÑOS, A.M.; MCEWEN, B.S. Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy**. Behavioral Neuroscience**, v.113, n.5, p.902-913, 1999.

CONRAD, C.D.; LEONE, D.; NEMIVANT, R.; ROY, E.J. Long-term adrenalectomy can decrease or increase hippocampal dentate gyrus volumes. **Journal of Neuroendocrinology**, v.9, p.355-361, 1997.

COPLAN, J.D.; ANDREWS, M.W.; ROSENBLUM, L.A; OWENS, M.J.; FRIEDMAN, S.; GORMAN, J.M.; NEMEROFF, C.B. Persistent elevations of cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing factor in adult nonhuman primates exposed to early-life stressors: implications for the pathophysiology of mood and anxiety disorders. **Proceedings of National Academy of Science**, v.93, p.1619-1623, 1996.

COSTALL, B.; DOMENEY, A.M.; FARRE, A.J.; KELLY, M.A.; MARTINEZ, L.; NAYLOR, R.J. Profile of action of a novel 5-hydroxytryptamine$_{1A}$ receptor ligand E-4424 to inhibit aversive behavior in the mouse, rat and marmoset. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.262, n.1, p.90-98, 1992.

COSTALL, B.; DOMENEY, A.M.; GERRARD, P.A.; JONES, D.N.C.; JUDGE, K.; NAYLOR, R.J. The marmoset 'human threat' test: a model for the assessment of anxiolytic drug action. **Journal of Psychopharmacology**, v.2, n.3-4, p.20-28, 1988.

CREEL, S. Social dominance and stress hormones. **Trends in Ecology and Evolution**, v.16, n.9, p.491-497, 2001.

CREPEAU, L.J.; NEWMAN, J.D. Gender differences in reactivity of adult squirrel monkeys to short-term environmental challenges. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, v.15, p.469-471, 1991.

D'ESPOSITO, M. Serotonin neurotoxity, implications for cognitive neuroscience and neurology. **Neurology**, v.51, p.1529-91530, 1998.

DAS, M.; PENKE, Z.; VAN HOOFF, A.R.A.M. Postconflict affiliation and stress-related behavior of long-tailed macaque aggressors. **International Journal of Primatology**, v.19, n.1, p.53-71, 1998.

DE GROOT, J.; RUIS, M.A.W.; SCHOLTEN, J.W. ; BOERSMA, W.J.A. Long-term effects of social stress on antiviral immunity in pigs. **Physiology and Behavior**, v.73 n.1/2, p.145-158, 2001.

DE JONGE, F.H.; BOKKERS, E.A.M.; SCHOUTEN, W.G.P.; HELMOND, F.A. Rearing piglets in a poor environment: developmental aspects of social stress in pigs. **Physiology and Behavior**, v.60, n.2, p.389-396, 1996.

DE KLOET, E.R. Stress in the brain. **European Journal of Pharmacology**, v.405, p.187-198, 2000.

DE KLOET, R.; VREUGDENHIL, E.; OITZL, M.S.; JOËLS, M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. **Endocrine Reviews**, v.19, n.3, p.269-301, 1998.

DEAKIN, J.F.; GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms of defense. **Journal of Psychopharmacology**, v.5, n.4, p.305-315, 1991.

DEPUE, R.A.; KLEIMAN, R.M. Free cortisol as a peripheral index of central vulnerability to major forms of polar depressive disorders: examining stress-biology interactions in subsyndromal high-risk persons. In: DEPUE, R.A., ed. **The Psychobiology of the Depressive Disorders**. New York, Academic Press, 1979. 204 p.

DHABHAR, F.S.; MILLER. A.H.; MCEWEN. B.S.; SPENCER, R.L. Effects of stress on immune cell distribution, dynamics and hormonal mechanisms. **Journal of Immunology**, v. 154, p. 5511-5527, 1995.

DINIZ, L.S.M. **Primatas em cativeiro, manejo e problemas veterinários**. Icone, São Paulo. 1997, 147 p.

DUMAN, R.S.; HENINGER, G.R.; NESTLER, E.J. A molecular and cellular theory of depression. **Archives of General Psychiatry**, v.54, n.7, p.597-606, 1997.

EASLEY, S.P.; COELHO, A.M.; TAYLOR, L.L. Scratching, dominance, tension, and displacement in male baboons. **American Journal of Primatology**, v.13, p.397-411, 1987.

EBERLING, J.L.; ROBERTS, J.A.; RAPP, P.R.; TUSZYNSKI, M.H.; JAGUST, W.J. Cerebral glucose metabolism and memory in aged rhesus macaques. **Neurobiology of Aging**, v.18, n.4, p.437-443, 1997.

ECKERT, R. **Animal Physiology, Mechanisms and Adaptations**. New York, W. H. Freeman, 1988. 683 p.

ECKERT, R.; RANDALL, D.; AUGUSTINE, G. Hypothalamus and Pituitary. In: ECKERT, R., ed. **Animal Physiology, Mechanisms and Adaptations**. New York, W. H. Freeman, 1988. 683 p.

EICHENBAUM, H.B.; CAHILL, L.F.; GLUCK, M.A; HASSELMO, M.E.; KEIL, F.C.; MARTIN, A.J.; MCGAUGH, J.L.; MURRE, J.; MYERS, C.; PETRIDES, M.; ROOZENDAAL, B.; SCHACTER, D.L.; SIMONS, D.J.; CARTER SMITH, W.; WILLIAMS, C.L. Learning and memory: systems analysis. In: ZIGMOND, M.J., BLOOM, F.E.; LANDIS, S.C.; ROBERTS, J.L.; SQUIRE, L.R. **Fundamental Neuroscience**. San Diego, Academic Press, 1999. 1600 p.

EITEN, G. The Cerrado vegetation of Brazil. The Botanical Review, v. 39, n. 2, p. 201-341, 1972.

ERWIN, J.; DENI, R. Strangers in a strange land: abnormal behavior or abnormal environments? In: ERWIN, J.; MAPLE, T.L.; MITCHELL, G., eds. **Captivity and Behavior**. New York, Van Nostrand Rheinhold Company, 1979. 286 p.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000.

FELDMAN, S.; CONFORTI, N.; WEIDENFELD, J. Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli. **Neurosciences and Biobehavioral Reviews**, v.19, n.2, p.235-240, 1995.

FERRARI, S.; LOPES-FERRARI, M.A. Predator avoidance behaviour in the Buffy-headed marmoset, *Callithrix flaviceps*. **Primates**, v.31, n.3, p.323-338, 1990.

FERRARI, S.F. Ecological differentiation in the Callitrichidae. In: RYLANDS, AB., **Marmosets and Tamarins**. Oxford, Oxford University Press, 1993. 416 p.

FERRARI, S.F.; LOPES-FERRARI, M.A. A re-evaluation of the social organization of the callitrichidae with reference to the ecological differences between genera. **Folia Primatologica**, v.52, p.132-147, 1989.

FERRARI, S.F.; RYLANDS, AB. Activity budgets e differential visibility in field studies of three marmosets (*Callithrix* spp.). **Folia Primatologica**, v.63, p.78-83, 1994.

FILE, S.E.; ZANGROSSI JUNIOR, H.; SANDERS, F.; MABBUTT, P.S. Dissociation between behavioral and corticosterone resposnses on repeated exposures to cat odor. **Physiology and Behavior**, v.54, p.1109-1111, 1993.

FLESHNER, M.; BELLGRAU, D.; WATKINS, L.R.; LAUDENSLAGER, M.L.; MAIER, S.F. Stress-induced reduction in the rat mixed lymphocyte reaction is due to macrophages and not to changes in T cell phenotypes. **Journal of Neuroimmunology**, v.56, p.45-52, 1995.

FLÜGGE, G. Dynamics of central nervous 5-HT_{1A}-receptors under psychosocial stress. **The Journal of Neuroscience**, v.15, n.1, p.7132-7140, 1995.

FLÜGGE, G.; KRAMER, M.; FUCHS, E. Chronic subordination stress in male shrews: replacement of testosterone affects behavior and central $alpha_2$-adrenoceptors. **Physiology and Behavior**, v.73, p.293-300, 2001.

FONSECA, G.A.B.; LACHER JUNIOR, T. Exudate-feeding by *Callithrix jacchus penicillata* in semi-deciduous woodland (cerradão) in central Brazil. **Primates**, v.25, p.441-45, 1984.

FRAGASZY, D.M. Titi and squirrel monkeys in a novel environment. In: ERWIN, J.; MAPLE, T.L.; MITCHELL, G., eds. **Captivity and Behavior**. New York, Van Nostrand Rheinhold Company. 1979. 286 p.

FRENCH, J.; INGLETT, B.J. Responses to novel social stimuli in callitrichid monkeys: a comparative perspective. In: BOX, H., ed. **Primate Responses to Environmental Change**. London, Chapman Hall, 1991. 430 p.

FUCHS, E.; FLÜGGE, G. Stress, glucocorticoids and structural plasticity of the hippocampus. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, v.23, p.295-300, 1998.

FULLER, G.B.; HOBSON, W.C.; REYES, F.I.; WINTER, J.S.D.; FAIMAN, C. Influence of restraint and ketamine anesthesia on adrenal steroids, progesterone, and gonadotropins in rhesus monkeys. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.175, p.487-490, 1984.

GARBER, P.A.. Foraging decisions during nectar feeding by tamarin monkeys (*Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*, Callithrichidae, Primates) in Amazonian Peru. **Biotropica**, v.20, n.2, p.100-106, 1988.

GAZZANIGA, M.S. Consciousness and the cerebral hemispheres. In: GAZZANIGA, M.S., ed. **The Cognitive Neurosciences**. Cambridge, The MIT Press, 1996. p.1391-1400.

GENUTH, S.M. The endocrine system. In: BERNE, R.M.; LEVY, M.N., eds. **Physiology**. 3.ed. Saint Louis, Mosby Year Book, 1993. 1071 p.

GERRA, G.; ZAIMOVIC, A.; MASCETTI, G.G.; GARDINI, S.; ZAMBELLIA, U.; TIMPANO, M.; RAGGI, M.A.; BRANBILLA, F. Neuroendocrine responses to experimentally-induced psychological stress in healthy humans. **Psychoneuroendocrinology**, v.26, n.1, p.91-107, 2001.

GIBBS, W.W. Seeking the criminal element. **Scientific American**, v.7, n.1, p.102-110, 1997.

GOULD, E.; BEYLIN, A.;TANAPAT, P.; REEVES, A.; SHORS, T.J. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. **Nature Neuroscience**, v.2, p.260-265, 1999c.

GOULD, E.; CAMERON, H.A.; MCEWEN, B.S. Blockade of NMDA receptors increases cell death and birth in the developing rat dentate gyrus. **Journal of Comparative Neurology**, v.340, p.551-565, 1994.

GOULD, E.; REEVES, A.J.; FALLAH, M.; TANAPAT, P.; GROSS, C.G.; FUCHS, E. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. **Proceedings of National Academy of Sciences of USA**, v.96, p.5263-5267, 1999b.

GOULD, E.; REEVES, A.J.; GRAZIANO, M.S.A.; GROSS, C.G. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. **Science**, v.286, p.548-552, 1999a.

GOULD, E.; TANAPAT, P. Stress and hippocampal neurogenesis. **Biological Psychiatry**, v.46, p.1472-1479, 1999.

GOULD, E.; TANAPAT, P.; MCEWEN, B.S.; FLÜGGE, G.; FUCHS, E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminushed by stress. **Proceedings National Academy of Sciences USA**, v.95, p.3168-3171, 1998.

GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo, Atheneu, 1999. 238 p.

GRAEFF, F.G.; SILVEIRA, M.C.L.; NOGUEIRA, R.L.; AUDI, E.A.; OLIVEIRA, R.M.W. Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic. **Behavioral Brain Research**, v.58, p.123-131, 1993.

GRAEFF, F.G.; VIANA, M.B.; MORA, P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.21, n.6, p.791-799, 1997.

GREENOUGHT, W.T.; VOLKMAR, F.R.; JURASKA, J.M. Effects of rearing complexity on dendritic branching in frontolateral and temporal cortex of the rat. **Experimental Neurology**, v.41, p.371-378, 1973.

GREGORY, L.F. & SCHMID, J.R. Stress responses and sexing of wild Kemp's Ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*) in the northeastern gulf of Mexico. **General and Comparative Endocrinology**, v.124, p.66-74, 2001.

GUERRA, R.F.; TAKASE, E.; SANTOS, C.V. Cross-fostering between two species of marmosets (*Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata*). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 58, p. 665-669, 1998.

GUIMARÃES, F.G. Medicamentos antidepressivos e estabilizadores do humor. In: GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S., eds. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo, Atheneu, 1999. 238 p.

GUIMARÃES, F.S.; DEL BEL, E.A.; PADOVAN, C.M.; NETTO, S.M.; ALMEIDA, R.T. Hippocampal 5-HT receptors and consolidation of stressful memories. **Behavioral Brain Research**, v.58, p.33-139, 1993.

GUST, D.A.; GORDON, T.P.; BRODIE, A.R.; MCCLURE, H.M. Effect of a preferred companion in modulating stress in adult female rhesus monkeys. **Physiology and Behavior**, v.55, n.4, p.681-684, 1994.

HÄGGSTRÖM, J-E.; SJÖQUIST, B.; ECKERNÄS, S-Ä; INGVAST, A.; GUNNE, L.M. Discrete regional distribution of biochemical markers for the dopamine, noradrenaline, serotonine, GABA and acetylcholine systems in the monkey brain (*Cebus apella*): effects of stress. **Acta Physiologica Scandinavica**, Supplement, v.534, p.1-27, 1984.

HALLER, J. The link between stress and the efficacy of anxiolytics. A new avenue of research. Physiology and Behavior, v. 73, p. 337-342, 2001.

HALLER, J.; HALÁSZ, J.; MAKARA, G. B. Housing conditions and the anxiolytic efficacy of buspirone: the relationship between main and side effects. **Behavioural Pharmacology**, v. 11, p. 403-412, 2000.

HANLEY, K.A.; STAMPS, J.A. Does corticosterone mediate bidirectional interactions between social behaviour and blood parasites in the juvenile iguana, *Ctenosaura similis*? **Animal Behaviour**, v.63, p.311-322, 2002.

HARDIE, S.M.; BUCHANAN-SMITH, H.M. Responses of captive single-and mixse-species groups of *Saguinus* to novel nonthreatening objects. **International Journal of Primatology**, v.21, n.4, p.629-648, 2000.

HARLOW, H.F.; HARLOW, M.K.; SCHILTZ, K.A.; MOHR, D.J. The effects of early adverse and environments on the learning ability of Rhesus monkeys. In: JARRARD, L.E., ed. **Cognitive Processes of Nonhuman Primates**. New York, Academic Press, 1971. 187 p.

HARRISON, M.L.; TARDIF, S.D. Social implications of gummivory in marmosets. **American Journal of Physical Anthropology**, v.95, p.399-408, 1994.

HAWKEY, C. M.; HART, M. G.; JONES, D. M. Clinical hematology of the common marmoset *Callithrix jacchus*. **American Journal of Primatology**, v. 3, p. 179-199, 1982.

HEIM, C.; NEMEROFF, C.B. The impact of early adverse experiences on brain systems invloved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. **Biological Psychiatry**, v.46, p.1509-1522, 1999.

HELLER, K.E.; HOUBAK, B.; JEPPESEN, L.L. Stress during mother-infant separation in ranch mink. **Behavioural Processs**, v.17, p.217-227, 1988.

HENNESSY, M.B. Effects of social partners on pituitary-adrenal activity during novelty exposure in adult female squirrel monkeys. **Physiology and Behavior**, v.38, p.803-807, 1986.

HENNESSY, M.B. Hypothalamic-pituitary-adrenal responses to brief social separation. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.21, n.1, p.11-29, 1997.

HENNESSY, M.B.; KAPLAN, J.N. Influence of the maternal surrogate on pituitary-adrenal activity and behavior of infant squirrel monkeys. **Developmental Psychobiology**, v.15, n.5, p.423-431, 1982.

HENNESSY, M.B.; MENDOZA, S.P.; MASON, W.A.; MOBERG, G.P. Endocrine sensitivity to novelty in squirrel monkeys and titi monkeys: species differences in characteristic modes of responding to the environment. **Physiology and Behavior**, v.57, n.2, p.331-338, 1995.

HERSHKOVITZ, P. **Living New World Monkeys (Paltyrrhini).** Chicago: Chicago University Press, 1977. 1117 p.

HERSKIN, M.S.; JENSEN, K.H. Effects of different degrees of social isolation on the behaviour of weaned piglets kept for experimental purposes. **Animal Welfare**, v.9, n.3, p.237-249, 2000.

HOLLMANN, W.; STRÜDER, H.K. Brain function, mind, mood, nutrition, and physical exercise. **Nutrition**, v.16, n.7/8, p.516-519, 2000.

HOPKINS, W.D.; FOWLER, L.A. Lateralized changes in tympanic membrane temperature in relation to different cognitive tasks in chimpanzees (*Pan troglodytes*). **Behavioral Neuroscience**, v.112, n.1, p.83-88, 1998.

HOUSE, J.S.; LANDIS, K.R.; UMBERSON, D. Social relationships and health. **Science**, v.241, p.540-545, 1988.

HUSTON, J.P.; BURES, J. Innate and motivated behavior. In: BURES, J., BURESOVA, O.; HUSTON, J. P., eds. **Technics and Basic Experiments for the Study of Brain and Behavior**. Amsterdan, Elsevier, 1983. 326 p.

IMPERATO, A.; PUGLISIALLEGRA, S.; CASOLINI, P.; ANGELUCCI, L. Changes in brain dopamine and acetylcholine release during and following stress are independent of the pituitary-adrenocortical axis. **Brain Research**, v.538, p.111-117, 1991.

ISOVICH, E.; MIJNSTER, M.J.; FLÜGGE, G.; FUCHS, E. Chronic psychosocial stress reduces the density of dopamine transporters. **European Journal of Neuroscience**, v.12, p.1071-1078, 2000.

ISSA, AM.; ROWE, W.; GAUTHIER, S.; MEANEY, M.J. Hypothalamic-pituitary-adrenal activity in aged, cognitively impaired and cognitively unimpaired rats. **The Journal of Neuroscience**, v.10, n.10, p.3247-3254, 1990.

JOHNSON, E.O.; BRADY, L.; GOLD, P.W.; CHROUSOS G.P. Distribution of hippocampal mineralocorticoid and glucocorticoid receptor mRNA in a glucocorticoid resistant nonhuman primate. **Steroids**, v.61, p.69-73, 1996a.

JOHNSON, E.O.; KAMILARIS, T.C.; CALOGERO, A.E.; GOLD, P.W.; CHROUSOS, G.P. Effects of early parenting on growth and development in a small primate. **Pediatric Research**, v.39, n.6, p.999-1005, 1996c.

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

JÖHRENS, O.; TOPP, H.; SANDER, G.; SCHÖCH, G. Social stress in the tree shrews increases the whole-body RNA deradation rates. **Naturwissenschaften**, v.78, p.36-38, 1991.

KAISER, S.; SACHSER, N. Social stress during pregnancy and lactation affects in guinea pigs the male offspring's endocrine status and infantilizes their behaviour. **Psychoneuroendocrinology**, v.26, p.503-519, 2001.

KALIN, N.H. Defensive behavior in nonhuman primates. In: BROWN, M.R.; KOOB, G.F.; RIVIER, C., eds. **Stress Neurobiology and Neuroendocrinology**. New York, Marcel Dekker, 1991. 720 p.

KALIN, N.H. Defensive behavior in nonhuman primates. In: Brown, M.R., Koob, G.F., Rivier, C., **Stress Neurobiology and Neuroendocrinology**. Marcel Dekker: New York. 1991.

KALIN, N.H. The neurobiology of fear. **Scientific American**, v.7, n.1, p.76-83, 1997.

KALIN, N.H.; SHELTON, S.E.; BARKSDALE, C.M. Opiate modulation of separation-induced distress in nonhuman primates. **Brain Research**, v.404, p.285-292, 1988.

KAMARCK, T.W.; PETERMAN, A.H.; RAYNOR, D.A. The effects of the social environment on stress-related cardiovascular activation: current findings, prospects, and implications. **Annals of Behavioral Medicine**, v.20, n.4, p.247-256, 1998.

KAMPEN, M.V.; SCHMITT, U.; HIEMKE, C.; FUCHS, E. Diazepam has no beneficial effects on stress-induced behavioural and endocrine changes in male tree shrews. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.65, n.3, p.539-546, 2000.

KAPLAN, J.R.; ADAMS, M.R.; CLARKSON, T.B.; MANUCK, S.B.; SHIVELY, C.A. Social behavior and gender in biomedical investigations using monkeys: studies in atherogenesis. **Laboratory Animal Science**, v.41, p.1-9, 1991.

KAPLAN, J.R.; ADAMS, M.R.; KORITNIK, D.R.; ROSE, J.C.; MANUCK, S.B. Adrenal responsiveness and social status in intact and ovariectomized *Macaca fascicularis*. **American Journal of Primatology**, v.11, p.181-193, 1986.

KAPLAN, J.R.; MANUCK, S.B.; CLARKSON, T.B.; LUSSO, F.M.; TAUB, D.M.; MILLER, E.W. Social stress and atherosclerosis in normocholesterolemic monkeys. **Science**, v.220, p.733-735, 1983.

KAUFER, D.; FRIEDMAN, A.; SEIDMAN, S.; SOREQ, H. Acute stress facilitates long-lasting changes in cholinergic expression. **Nature**, v.393, p.373-377, 1998.

KELLNER, M.; WIEDEMANN, K.; YASSOURIDIS, A.; LEVENGOOD, R.; GUO, L.S.; HOLSBOER, F.; YEHUDA, R. Behavioral and endocrine response to cholecystokinin tetrapeptide to patients with Posttraumatic Stress Disorder. **Biological Psychiatry**, v.47, p.107-111, 2000.

KERL, J.; ROTHE, H. Influence of cage size and cage equipment on physiology and behavior of common marmosets (*Calliithrix jacchus*). **Laboratory Primate Newsletter**, v.35, n.3, p.10-15, 1996.

KNUTSON, B.; COLE, S.; WOLKOWITZ, O.; REUS, V.; CHAN, T.; MOORE E. Serotonergic intervention increases affiliative behavior in humans. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v.807, p.492-493, 1997.

KOOLHAAS, H. J.; DE JONG I.C.; SGOIFO, A,; LAMBOOIJ, E.; KORTE S. M.; BLOKHUIS, J. M. Effects of social stress on heart rate and heart rate variability in growing pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 80, n. 2, p. 273-280, 2000.

KORHONEN, P.A.S.; LILIUS, E.-M.; HYYPPÄ, S.; RÄSÄNEN, L.A.; PÖSÖ, A.R. Production of reactive oxygen species in neutrophils after repeated bouts of exercise in standardbred trotters. **Journal of Veterinary Medicine**, v.A47, p.565-573, 2000.

KORTE, S.M.; BOUWS, G.A.H.; BOHUS, B. Adrenal hormones in rats before and after stress-experience: effects of Ipsapirone. **Physiology and Behavior**, v.51, p.1129-1133, 1992.

KORTE, S.M.; KORTE-BOUWS, G.A.H.; KOOB, G.F.; DE KLOET, E.R.; BOHUS, B. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor antagonists in animal models of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.54, n.1, p.261-267, 1996.

KRAMER, M.; HIEMKE, C.; FUCHS, E. Chronic psychosocial stress and antidepressant treatment in tree shrews: time-dependent behavioral and endocrine efects. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.23, p.937-947, 1999.

KUNES, J.; DEMIN, A.N.; JELINEK, J.; CAPEK, K.; BELKANIYA, G.S. Stress hypertension in monkeys. **Physiologia Bohemoslovaka**, v.39, p.417-423, 1990.

LAUDENSLAGER, M.L.; FLESHNER, M. Stress and immunity: of mice, monkeys, models, and mechanisms. In: GLASER, R.; KIECOLT-GLASER, J.K., eds. **Handbook of Human Stress and Immunity**. San Diego, Academic Press, 1994. 414 p.

LAUGHLIN, K.; HUCK, M. ; MENDL, M. Disturbance effects of environmental stimuli on pig spatial memory. **Applied Animal Behaviour Science**, v.64, p.169-180, 1999.

LAZARO-PEREA, C.; SNOWDON, C.T. ; ARRUDA, M.F. Scent-marking behavior in wild groups of common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.46, p.313-324, 1999.

LEDOUX, J. Fear and the brain: where have we been, and where are we going. **Biological Psychiatry**, v.44, p.1229-1238, 1998.

LEDOUX, J.E. In search of an emotional system in the brain: leaping from fear to emotion and consciousness. In: GAZZANIGA, M.S., ed. **The Cognitive Neuroscience**. Cambridge, The MIT Press, 1996. 1447 p.

LEE, P.C. Environmental influences on development: play, weaning and social structure. In: ELSE, J.G.; LEE, P.C., eds. **Primate Ontogeny and Social Behaviour**. Cambridge, Cambridge University Press, 1986. v.3, 400 p.

LEHNER, P.N. **Handbook of Ethological Methods**. Cambridge, Cambridge University Press, 1996. 672 p.

LEMIEUX, A. M.; COE, C .L.; ERSHLER, W .B.; KARASZEWSKI, J. W. Surgical and psychological stressors differentially affect cytolytic responses in the rhesus monkey. **Brain Behavavior and Immunity.** V. 10, p. 27-43, 1996

LEONARD, B.E.; SONG, C. Stress and immune system in the etiology of anxiety and depression. **Pharmacology Biochemistry Behavavior**, v.54, n.1, p.299-303, 1996.

LEVERENZ, J.B.; WILKINSON, C.W.; WAMBLE, M.; CORBIN, S.; GRABBER, J.E.; RASKIND, M.A.; PESKIND, E.R. Effect of chronic high-dose exogenous

cortisol on hippocampal neuronal number in aged nonhuman primates. **The Journal of Neuroscience**, v.19, n.6, p.2356-2361, 1999.

LEWIS, M.H.; GLUCK, J.P.; BEAUCHAMP, A.J.; KRESZTURY, M.F.; MAILMAN, R.B. Long-term effects of early social isolation in *Macaca mulatta*: changes in dopamine receptor function following apomorphine challenge. **Brain Research**, v.513, p.67-73, 1990.

LIBERZON, I.; ABELSON, J.L.; FLAGEL, S.B.; RAZ, J.; YOUNG, E.A. Neuroendocrine and psychophysiologic response in PTSD. **Neuropsychopharmacology**, v.21, n.1, p.40-50, 1999.

LINCOLN III, H.; ANDREWS, M.W.; ROSENBLUM, L.A. Pigtail macaque performance on a challenging joystick task has important implications for enrichment and anxiety within a captive environment. **Laboratory Animal Science**, v.45, n.3, p.264-268, 1995.

LINE, S.W.; MORGAN, K.N.; MARKOWITZ, H.; STRONG, S. Influence of cage size on heart and behavior in rhesus monkey. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, n.9, p.1523-1526, 1989.

LIPP, H.P. Aggression and flight behaviour of the marmoset monkey *Callithrix jacchus*: an ethogram for the brain stimulation studies. **Brain, Behavior and Evolution**, v.15, p.241-259, 1978.

LÓPEZ, J.F.; CHALMERS, D.T; LITTLE, K.Y.; WATSON, S.J. Regulation of serotonin$_{1A}$, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. **Biological Psychiatry**, v.43, p.547-573, 1998.

LOWRY, C.A; BURKE, K.A; RENNER, K.J.; MOORE, F.L.; ORCHINIK, M. Rapid changes in monoamine levels following administration of corticotropin-releasing factor or corticosterone are localized in the dorsomedial hypothalamus. **Hormones and Behavior**, v.39, p.195-205, 2001.

LUPIEN, S.J.; KING, S.; MEANEY, M.J.; MCEWEN, B.S. Child's stress hormone levels correlate with mother's socioeconomic status and depressive state. **Biological Psychiatry**, v.48, n.10, p.976-980, 2000.

LUPIEN, S.J.; LEON, M.; SANTI, S.; CONVIT, A.; TARSHISH, C.; NAIR, N.P.V.; THAKUR, M.; MCEWEN, B.S.; HAUGER, R.L.; MEANEY, M.J. Cortisol

levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. **Nature Neuroscience**, v.1, p.69-73, 1998.

LYONS, D.M.; LOPEZ, J.M.; YANG, C. ; SCHATZBERG, A.F. Stress-level cortisol treatment impairs inhibitory control of behavior in monkeys. **Journal of Neuroscience**, v.20, n.20, p.7816-7821, 2000a.

LYONS, D.M.; YANG, C.; MOBLEY, B.W.; NICKERSON, J.T.; SCHATZBERG, A.F. Early environmental regulation of glucocorticoid feedback sensitivity in young adult monkeys. **Journal of Neuroendocrinology**, v.12, n.723-728, 2000b.

LYONS, D.M.; YANG, C.M.A; SAWYER-GLOVER, A.M.; MOSELEY, M.E.; SCHATZBERG, A.F. Early life stress and inherited variation in monkey hippocampal volumes. **Archives of General Psychiatry**, v.58, n.12, p.1145-1151, 2001.

MAES, M.; GASTEL, A.V.; MELTZER, H.Y.; COSYNS, P.; BLOCKX, P.; DESNYDER, R. Acute administration of buspirone increases the escape of hypothalamic-pituitary-adrenal-axis hormones from suppression by dexametasone in depression. **Psychoneuroendocrinology**, v.21, n.1, p.67-81, 1996.

MAESTRIPIERI, D. Measuring temperament in rhesus macaques: consistency and change in emotionality over time. **Behavioural Processes**, v.49, p.167-171, 2000.

MAESTRIPIERI, D.; SCHINO, G.; AURELI, F.; TROISI, A. A modest proposal: displacement activities as an indicator of emotions in primates. **Animal Behaviour**, v.44, p.967-979, 1992.

MAISONNETTE, S.; MORATO, S. ; BRANDÃO, M.L. Role of resocialization and of 5-HT_{1A} receptor activation on the anxiogenic effects induced by isolation in the elevated plus-maze test. **Physiology and Behavior**, v.54, n.4, p.753-758, 1993.

MANN, J.J.; BRENT, D.A.; ARANGO, V. The neurobiology and genetics of suicide and attempted suicide: a focus on the serotonergic system. **Neuropsychopharmacology**, v.24, n.5, p.467-477, 2001.

MARKOWITSCH, H.J. Anatomical basis of memory disorders. In: GAZZANIGA, M.S., ed. **The Cognitive Neuroscience**. Cambridge, The MIT Press, 1996. 1447 p.

MARKOWITSCH, H.J. The mnestic block syndrome: environmentally induced amnesia. **Neurology, Psychiatry and Brain Research**, v.6, p.73-80, 1998.

MARKOWITSCH, H.J; KESSLER, J.; VAN DER VEM, C.; WEBER-LUXENBURGER, G.; ALBERS, M.; HEISS, W-D. Psychic trauma causing grossly reduced brain metabolism and cognitive deterioration. **Neuropsychologia**, v.36, p.1, p.77-82, 1998.

MARTIN, P. Animal models sensitive to anti-anxiety agents. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v.98, p.74-80, 1998.

MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring Behaviour**. Cambridge, Cambridge University Press, 1986. 200 p.

MASON, G.J. Stereotypies: a critical review. **Animal Behavavior**, v.41, p.1015-1037, 1991a.

MATHEW, S.J.; COPLAN, J.D.; SMITH, E.L.P.; SCHOEPP, D.D.; ROSENBLUM, L.A; GORMAN, J.M. Glutamate-hypothalamic-pituitary-adrenal axis interactions: implications for mood and anxiety disorders. **Central Nervous Systems Spectrums**, v.6, n.7, p.565-572, 2001.

MCEWEN, B.S. Stress and hippocampal plasticity. **Annual Review of Neurosciences**, v.22, p.105-122, 1999.

MCEWEN, B.S. Stressfull experience, brain, and emotions: developmental, genetic, and hormonal influences. In: GAZZANIGA, M.S., ed. **The Cognitive Neuroscience**. Cambridge, The MIT Press, 1996. 1447 p.

MCINTOSH, L.J.; CORTOPASSI, K.M.; SAPOLSKY, R.M. Glucocorticoids may alter antioxidant enzyme capacity in the brain: kainic acid studies. **Brain Research**, v.791, p.215-222, 1998b.

MCINTOSH, L.J.; HONG, K.E.; SAPOLSKY, R.M. Glucocorticoids may alter antioxidant enzyme capacity in the brain: baseline studies. **Brain Research**, v.791, p.209-214, 1998a.

MCNAUGHTON, N. Cognitive dysfunction resulting from h ippocampal hyperactivity – a possible cause of anxiety disorder? **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.56, n.4, p.603-611, 1997.

MEANEY, M.J.; AITKEN, D.H.; VAN BERKEL, C.; BHATNAGAR, S. ; SAPOLSKY, R.M. Effect of neonatal handling on age-related impairments associate with the hippocampus. **Science**, v.239, p.766-768, 1988.

MEINERS, M.L.; DABBS, J.M. Ear temperature and brain blood flow: laterality effects. **Bulletin of the Psichonomic Society**, v.10, p.194-196, 1977.

MELTZER, H. Y. & MAES, M. Effects of buspirone on plasma prolactin and cortisol levels in major depressed and normal subjects. **Biological Psychiatry**, v. 35, p. 316-323, 1994.

MENAKER, M.; MOREIRA, L.F.; TOSINI, G. Evolution of circadian organization in vertebrates. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.30, n.3, p.305-313, 1997.

MENDOZA, S.P. Sociophysiology of well-being in nonhuman primates. **Laboratory Animal Science**, v.41, n.4, p.344-349, 1991.

MENDOZA, S.P.; MASON, W.A. Autonomic balance in *Saimiri sciureus* and *Callicebus moloch*: relation to life-style. **Folia Primatologica**, v.68, p.307-318, 1997.

MENDOZA, S.P.; MASON, W.A. Behavioral and endocrine consequences of heterosexual pair formation in squirrel monkeys. **Physiology and Behavior**, v.46, p.597-603, 1989.

MENDOZA, S.P.; MASON, W.A. Contrasting responses to intruders and to involuntary separation by monogamous and polygynous New World monkeys. **Physiology and Behavior**, v.38, p.795-801, 1986.

MEYER, U.; VAN KAMPEN, M.; ISOVICH, E.; FLUGGE, G.; FUCHS, E. Chronic psychosocial stress regulates the expression of both GR and MR mRNA in the hippocampal formation of tree shrews. **Hippocampus**, v.1, n.3, p.329-336, 2001.

MEYER-HOLZAPFEL, M. Abnormal behavior in zoo animals. In: FOX, M.W., ed. **Abnormal Behavior in Animals**. Philadelphia, W. R. Saunders, 1968. 563 p.

MINEKA, S.; GUNNAR, M.; CHAMPOUX, M. Control and early socioemotional development: infant rhesus monkeys reared in controllable versus uncontrollable environment. **Child Development**, v.57, p.1241-1256, 1986.

MIRANDA, G.H.B. Observações preliminares sobre a atividade do mico-estrela (*Callithrix penicillata*) no cerrado denso e cerradão da Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. In: LEITE, L.L.; SAITO, C.H., eds. **Contribuição ao Conhecimento Ecológico do Cerrado**. Brasília, UCL/UnB, 1997. 325 p.

MITSUSHIMA, D.; YAMANOI, C.; KIMURA, F. Restriction of environmental space attenuates locomotor activity and hippocampal acetylcholine release in male rats. **Brain Research**, v.805, p.207-212, 1998.

MORATO, S.; BRANDÃO, M.L. Transporting rats to the test situation on a cart modify rat exploratory behavior in the elevated plus-maze. **Psychobiology**, v. 24, n. 3, p. 247-252, 1996.

MOSIN, A.F. Some physiological and biochemical features of starvation and refeeding in small wild rodents (Microtinea). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.71A, p.461-464, 1982.

MULLER, G.H.; KIRK, R.W. **Small Animal Dermatology**. Philadelphia, Saunders, 1969. 487 p.

NAGORSEN, D.W.; PETERSON, R.L. **Mammal Collectors' Manual**. Toronto, The Royal Ontario Museum, 1980, 78 p.

NESSE, R.M. Proximate and evolutionary studies of anxiety, stress and depression: synergy at the interface. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.23, p.895-903, 1999.

NOVAK, M.A.; SUOMI, S.J. Psychological well-being of primates in captivity. **American Psychologist**, v.43, n.10, p.765-773, 1988.

O'SHEA, B. Post-traumatic stress disorder: a review for the general psychiatrist. **International Journal of Psychiatry in Clinical Practice**, v.5, n.1, p.11-18, 2001.

O'BRIEN, J. The "glucocorticoid cascade" hypothesis in man. **British Journal of Psychiatry**, v.170, p.199-201, 1997.

OGDEN, J.A. Neurorehabilitation in the third millenium: new roles for our environment, behaviors, and mind in brain damage and recovery? **Brain and Cognition**, v.42, p.110-112, 2000.

OHL, F.; FUCHS, E. Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew. **Cognitive Brain Research**, v.7, p.379-387, 1999.

O'REILLY, K.M.; WINGFIELD, J.C. Ecological factors underlying the adrenocortical response to capture stress in arctic-breeding shorebirds. **General and Comparative Endocrinology**, v.124, p.1-11, 2001.

OSSA, J.DE LA; MORENO, J.G.; SEGURA, C. Anotaciones sobre el comportamiento agresivo en la conformacion de una colonia semicautiva de

Saguinus oedipus (Linnaeus, 1758) (Mammalia: Primates). **Trianea**, v.1, p.131-139, 1988.

OTTAVIANI, E. & FRACESCHI, C. The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. **Progress in Neurobiology**, v. 48, p. 421-440, 1996.

PAGANA, K.D. **Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference**. New York, Mosby Year, 1992. 1005 p.

PARR, L. A., HOPKINS, W. D. Brain temperature assymetries and emotional perception in chimpanzees, *Pan troglodytes*. **Physiology and Behavior**, v. 71, n. 3-4, p. 363-371, 2000.

PARR, L. A., HOPKINS, W. D., DE WAAL, F. B. M. Haptic discrimination in capuchin monkeys (*Cebus apella*): Evidence of manual specialization. **Neuropsychologia**, v. 35, n. 2, p. 143-152, 1997.

PATEL, P.D.; LOPEZ, J.F.; LYONS, D.M.; BURKE, S.; WALLACE, M.; SCHATZBERG, A. F. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in squirrel monkey brain. **Journal of Psychiatry Research**, v.34, p.383-392, 2000.

PAULI, P.; WIEDEMANN, G.; NICKOLA, M. Pain sensitivity, cerebral laterality, and negative affect. **Pain**, v.80, p.359-364, 1999.

PAVLIDES, C.; MCEWEN, B.S. Effects of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors on long-term potentiation in the CA3 hippocampal field. **Brain Research**, v.851, p.204-214, 1999.

PAYKEL, E.S. Recent life events in the development of the depressive disorders. In: DEPUE, R.A., ed. **The Psychobiology of the Depressive Disorders**. New York, Academic Press, 1979. 262 p.

PROSSER, C.L.; HEATH, J.E. Temperature. In: PROSSER, C.L., ed. **Environmental and Metabolic Animal Physiology**. New York, Wiley-Liss, 1991. 578 p.

PUGH, C.R.; FLESHNER, M.; WATKINS, L.R.; MAIER, S.F.; RUDY, J.W. The immune system and memory consolidation: a role for cytokine IL-1β. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.25, p.29-41, 2001.

PUGH, C.R.; NGUYEN, K.T.; GONYEA, J.L.; FLESHNER, M.; WATKINS, L.R.; MAIER, S. F.; RUDY, J.W. Role of interleukin-1β in impairment of contextual

fear conditioning caused by social isolation. **Behavioral Brain Research**, v.106, p.109-118, 1999.

PURI, C.P.; PURI, V.; KUMAR, T.C.A. Serum levels of testosterone, cortisol, prolactin and bioactive luteinizing hormone in adult male rhesus monkeys following cage-restraint or anaesthetizing with ketamine hydrochloride. **Acta Endocrinologica**, v.97, p.118-124, 1981.

QUERVAIN, D.J-V. DE; ROOZENDAAL, B.; MCGAUGH, J.L. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. **Nature**, v.394, p.787-790, 1998.

RALEIGH, M. J.; BRAMMER, G. L.; MCGUIRE, M. T.; YUWILLER, A. Dominant social status facilitates the behavioral effects of serotonergic agonists. **Brain Research**, v. 348, p. 274-282, 1985.

REINHARDT, V. Training adult male rhesus monkeys to actively cooperate during in-homecage venipuncture. **Animal Technology**, v.42, n.1, p.11-17, 1991.

REINHARDT, V.; REINHARDT, A. Social enhancement for adult nonhuman primates in research laboratories: a review. **Laboratory Animal**, v.29, n.1, p.34-41, 2000.

REUL, J.M.H.M.; DE KLOET, E.R. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. **Endocrinology**, v.117, p.2505-2511, 1985.

REYNOLDS, P.D.; RUAN, Y; SMITH, D.F. ; SCAMMELL, J.G. Glucocorticoid resistance in the squirrel monkey is associated with overexpression of the immunophilin FKBP51. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.84, n.2, p.663-669, 1999.

ROSENZWEIG, M.; BENNET, E.L. Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. **Behavioural Brain Research**, v.78, p.57-65, 1996.

ROSENZWEIG, M.R. Aspects of the search for neural mechanisms of memory. **Annual Review Psychology**, v.47, p.1-32, 1996.

ROY, M.; SAPOLSKY, R.M. Neuronal apoptosis in acute necrotic insults: why is this subject such a mess. **Trends in Neurosciences**, v.22, n.10, p.419-422, 1999.

ROY, M.P.; KIRSCHBAUM, C.; STEPTOE, A. Psychological, cardiovascular, and metabolic correlates of individual differences in cortisol stress recovery in young men. **Psychoneuroendocrinology**, v.26, p.375-391, 2001.

RYLANDS, A.B. Habitat and the evolution of social and reprodutive behavior in Callitrichidae. **American Journal of Primatology**, v.38, p.5-18, 1986.

SACKEIM, H.A.; WEBER, S.L. Functional brain asymmetry in the regulation of emotion: implications for bodily manifestation of stress. In: BREZNITZ, S.; GOLDBERGER, L., eds. **Handbook of Stress**. New York, The Free Press, 1986. 819 p.

SACKET, G.P. Abnormal behavior in laboratory-reared rhesus monkeys. In: FOX, M.M., ed. **Abnormal Behavior in Animals**. Philadelphia, Saunders, 1968. 563 p.

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

SALTZMAN, W.; SCHULTZ-DARKEN, N.J.; SCHEFFLER, G.; WEGNER, F.H.; ABBOTT, D.H. Social and reproductive influences on plasma cortisol in female marmoset monkeys. **Physiology and Behavior**, v.56, n.4, p.801-810, 1994.

SANTEE, D. P.; FARIA, D. S. Padrões de comportamento utilizados pelos sagüis (*Callithrix jacchus penicillata*) na retirada de exsudado. **Psicologia**. v.11, n. 1, p. 65-74, 1985.

SANTEE, D. P.; FARIA, D. S. Padrões de comportamento utilizados pelos sagüis (*Callithrix jacchus penicillata*) na retirada de exsudado. **Psicologia**. v.11, n. 1, p. 65-74, 1985.

SAPOLSKY, R.M. A mechanism for glucocorticoid toxicity in the hippocampus: increased neuronal vulnerability to metabolic insults. **The Journal of Neuroscience**, v.5, n.5, p.1228-1232, 1985.

SAPOLSKY, R.M. Glucocorticoid toxity in the hippocampus: reversal by supplementation with brain fuels. **The Journal of Neuroscience**, v.6, n.8, p.2240-2244, 1986.

SAPOLSKY, R.M. Neuroendocrinology of the stress-response. In: BECKER, J.B., BREEDLOVE, S.M; CREWS, D., eds. **Behavioral Endocrinology**. Cambridge, The MIT Press, 1993. 574 p.

SAPOLSKY, R.M. Stress in the wild. **Scientific American**, v.262, n.1, p.106- 113, 1990.

SAPOLSKY, R.M. **Stress, the Aging Brain, and the Mechanisms of Neuron Death.** Cambridge, The MIT Press, 1992. 429 p.

SAPOLSKY, R.M. The endocrine stress-response and social status in the wild baboon. **Hormones and Behavior**, v.16, p.279-292, 1982.

SAPOLSKY, R.M. Why stress is bad for your brain. **Science**, v.273, p.749-750, 1996.

SAPOLSKY, R.M.; ALBERTS, S.C.; ALTMANN, J. Hypercortisolism associate with social subordinance or social isolation among wild baboons. **Archives General Psychiatry**, v.54, p.1137-1143, 1997.

SAPOLSKY, R.M.; KREY, L.C.; MCEWEN, B.S. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. **Proceedings of National Academy of Sciences USA**, v.81, p.6174-6177, 1984.

SAPOLSKY, R.M.; KREY, L.C.; MCEWEN, B.S. Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: implications for aging. **The Journal of Neuroscience**, v.5, n.5, p.1222-1227, 1985.

SAPOLSKY, R.M.; KREY, L.C.; MCEWEN, B.S. The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. **Endocrine Reviews**, v.7, n.3, p.284-301, 1986.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUNCK, A.U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews**, v.21, p.55- 89, 2000.

SAPOLSKY, R.M.; SPENCER, E.M. Insulin-like growth factor I is suppressed in socially subordinate male baboons. **American Journal of Physiology**, v.273, n.42, p.1346-1351, 1997.

SAPOLSKY, R.M.; UNO, H.; REBERT, C.S.; FINCH, C.E. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. **The Journal of Neuroscience**, v.10, n.9, p.2897-2902, 1990.

SAPOLSKY, R.M.; ZOLA-MORGAN, S.; SQUIRE, L.R. Inhibition of glucocorticoid secretion by the hippocampal formation in the primate. **The Journal of Neuroscience**, v.11, n.12, p.3695-3704, 1991.

SCHINO, G.; TROISI, A.; PERRETA, G.; MONACO, V. Measuring enxiety in nonhuman primates: effect of lorazepam on macaque scratching. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.38, p.889-891, 1991.

SCHNEIDER, M.L.; CLARKE, A.S.; KRAEMER, G.W.; ROUGHTON, E.C.; LUBACH, G.R.; RIMM-KAUFMAN, S.; SCHMIDT, D.; EBERT, M. Prenatal stress alters brain biogenic amine levels in primates. **Developmental Psychopathology**, v.10, n.3, p.427-440, 1998.

SCHNEIDER, M.L.; SUOMI, S.J. Neurobehavioral assessment in Rhesus monkey neonates (*Macaca mulatta*): developmental changes, behavioral stability, and early experience. **Infant Behavior and Development**, v.15, p.155-177, 1992.

SCHOENFELD, D. Effects of environmental impoverishment on the social behavior of marmosets (*Callithrix jacchus*). **American Journal of Primatology**, v.1, p.45-51, 1989. Supplement.

SCHULKIN, J.; GOLD, P.W.; MCEWEN, B.S. Induction of corticotropin-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: implication for understanding the states of fear and anxiety and allostatic load. **Psychoneuroendocrinology**, v.23, n.3, p.219-243, 1998.

SCHULTZ, W. The reward signal of midbrain dopamine neurons. **News in Physiological Sciences**, v.14, p.249-255, 1999.

SELYE, H. **Stress Without Distress**. Toronto, McClelland & Stewart, 1974.171 p.

SETEM, J; PINHEIRO, A.P.; MOTTA, V.A.; MORATO, S.; CRUZ, A.P.M. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.62, n.3, p.515-521, 1999.

SilVA, M.R.P.; OLIVEIRA, C.A.; FELICIO, L.F.; NASELLO, A.G. ; BERNARDI, M.M. Perinatal treatment with picrotoxin induces sexual, behavioral, and neuroendocrine changes in male rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.60, n.1, p.203-208, 1998.

SILVA, N.G.; ADES, C.; YAMAMOTO, M.E. Ausência de efeitos depressivos decorrentes de isolamento parcial ou total do filhote de sagui comum (*Callithrix*

jacchus). In: YAMAMOTO M.E.; SOUSA M.B.C., eds. **A Primatologia no Brasil**. Natal, EDUFRN, 1993. v. 4, 327 p.

SMITH, D.; TRENNERY, P.; FARNINGHAM, D.; KLAPWIJK, J. The selection of marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) in pharmaceutical toxicology. **Laboratory Animals**, v.35, n.2, p.117-130, 2001.

SMITH, T.E.; FRENCH, J.A. Psychosocial stress and urinary cortisol excretion in marmoset monkeys (*Callthrix kuhli*). **Physiology and Behavior**, v.62, n.2, p.225-232, 1997a.

SMITH, T.E.; FRENCH, J.A. Social and reproductive conditions modulate urinary cortisol excretion in black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*). **American Journal of Primatology**, v.42, p.253-267, 1997b.

SMITH, T.E.; MCGREER-WHITWORTH, B.; FRENCH, J.A. Close proximity of the heterosexual partner reduces the physiological and behavioral consequences of novel-cage housing in black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*). **Hormones and Behavior**, v.34, p.211-222, 1998.

SOL, D.; TIMMERMANS, S.; LEFEBVRE, L. Behavioural flexibility and invasion success in birds. **Animal Behaviour**, v.63, p.495-502, 2002.

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

SPINA, M.G.; BASSO, A.M.; ZORRILLA, E.P.; HEYSER, C.J.; RIVIER, J.; VALE, W.; MERLO-PICH, E.; KOOB, G.F. Behavioural effects of central administration of the novel CRF antagonist astressin in rats. **Neuropsychopharmacology**, v.22, n.3, p.230-239, 2000.

STARKMAN, M.N.; GEBARSKI, S.S.; BERENT, S.; SCHTEINGART, D.E. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's Syndrome. **Biological Psychiatry**, v.32, p.756-765, 1992.

STAVISKY, R.C.; ADAMS, M.R.; WATSON, S.L.; KAPLAN, J.R. Dominance, cortisol, and behavior in small groups of female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). **Hormones and Behavior**, v.39, p.232-238. 2001.

STEIN, M.B. Neurobiological perspectives on social phobia: from affiliation to zoology. **Biological Psychiatry**, v.44, p.1277-1285, 1998.

STEIN-BEHRENS, B.; MATTSON, M.P.; CHANG, I.; YEH, M.; SAPOLSKY, R. Stress exacerbates neuron loss and cytoskeletal pathology in the hippocampus. **The Journal of Neuroscience**, v.14, n.9, p.5373-5380. 1994.

STEVENSON, M.F.; RYLANDS, A.B. The marmosets, genus *Callithrix*. In: MITTERMEIER, R.A.; RYLANDS, A.B.; COIMBRA-FILHO, A.F.; FONSECA, G.A.B., eds. **Ecology and Behaviour of Neotropical Primates**. Washington, World Wildlife Fund, 1988. v.2, 610 p.

SULEMAN, M.A.; WANGO, E.; FARAH, I.O.; HAU, J. Adrenal cortex and stomach lesions associated with stress in wild male African green monkeys (*Cercopithecus aethiops*) in the post-capture period. **Journal of Medical Primatology**, v.29, n.5, p.338-342. 2000.

SUTKER, P.B.; WINSTEAD, D.K.; GALINA, Z.H.; ALLAIN, A.N. Cognitive deficits and psychopathology among former prisoners of war and combat veterans of the korean conflict. **American Journal of Psychiatry**, v.148, n.1, p.67-72, 1991.

SWIFT, A.B. Tympanic thermometry: An index of hemisferic activity. **Perceptual and Motor Skills**, v.73, p.275-293, 1991.

TAJIMA, T.; ENDO, H.; SUZUKI, Y.; IKARI, H.; GOTOH, M.; IGUCHI. A. Immobilization stress-induced increase of hippocampal acetylcholine and plasma epinephrine, norepinephrine and glucose in rats. **Brain Research**, v.720, p.155-158, 1996.

TANAPAT, P.; GALEA, L.A.; GOULD, E. Stress inhibits the proliferation of granule cell precursors in the developing dentate gyrus. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.16, p.235-239. 1998.

TANAPAT, P.; HASTINGS, N.B.; REEVES, A.J.; GOULD, E. Estrogens stimulate a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. **The Journal of Neuroscience**, v.19, n.14, p.5792-5801, 1999.

TAVARES, M. C. H.; TOMAZ, C. Working memory in capuchin monkeys (*Cebus apella*). **Behavioural Brain Research**, v. 131, p. 131-137, 2002.

TAYMANS S. E.; DEVRIES, A. C.; DEVRIES, M. B.; NELSON, R. J.; FRIEDMAN, T. C.; CASTRO, M.; DETERAWADLEIGH, S.; CARTER, C. S.; CHROUSOS, G. P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis of prairie voles

(*Microtus ochrogaster*): Evidence for target tissue glucocorticoid resistance. **General and Comparative Endocrinology**, v.106, n. 1, p. 48-61, 1997.

THAKORE, J.H.; DINAN, T.G. Cortisol synthesis inibition: a new tratment strategy for the clinical and endocrine manifestations of depression. **Biological Psychiatry**, v.37, p.364-368, 1995.

THOME, J.; PESOLD, B.; BAADER, M.; HU, M.; GEWIRTZ, J.C.; DUMAN, R.S.; HENN, F.A. Stress differentially regulates synaptophysin and synaptotagmin expression in hippocampus. **Biological Psychiatry**, v.50, p.809-812, 2001.

THOMPSON, K.V. Behavioral development and play. In: KLEIMAN, D.G.; ALLEN, M.E.; THOMPSON, K.V.; LUMPKIN, S., eds. **Wild Mammals in Captivity**. Chicago, The University Chicago Press, 1996. 639 p.

TIEFENBACHER, S.; NOVAK, M.A.; JORGENSEN, M.J.; MEYER, J.S. Physiological correlates of self-injurious behavior in captive, socially-reared rhesus monkeys. **Psychoneuroendocrinology**, v.25, n.8, p.799-817, 2000.

TOMAZ, C.; VERBURG, M.S.; BOERE, V.; PIANTA, T.F.; BELO, M. Evidence of hemispheric specialization in marmosets (*Callithrix penicillata*): a study using tympanic membrane thermometry. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 2002. [No prelo]

TROISI, A; SCHINO, G.; D'ANTONI, M.; PANDOLFI, N.; AURELI, F.; D'AMATO, F.R. Scratching as a behavioral index of anxiety in macaque mothers. **Behavioral and Neural Biology**, v.56, p.307-313, 1991.

TRUT, L.N. Early canid domestication: the farm-fox experiment. **American Scientist**, v.87, p.160-169, 1999.

TURKKAN, J.S.; BRADY, J.V.; HARRIS, A.H. Animal studies of stressful interactions: a behavioral-physiological overview. In: BREZNITZ, S.; GOLDBERGER, L., eds. **Handbook of Stress**. New York, The Free Press, 1986. 819 p.

TURNBULL, A.V.; RIVIER, C. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. **Psychological Reviews**, v.79, n.1, p.1-71, 1999.

UCHAKIN, P. N.; TOBIN, B.; CUBBAGE, M.; MARSHALL, G.; SAMS, C.. Immune responsiveness following academic stress in first-year medical students. **Journal of Interferon and Cytokine Research,** v. 21, p. 687-694, 2001

UNO, H.; TARARA, R.; ELSE, J.G.; SULEMAN, M.A.; SAPOLSKY, R.M. Hippocampal damage associated with prolonged and fatal stress in primates. **The Journal of Neuroscience**, v.9, p.1705-1711, 1989.

VIANA, M.B.; TOMAZ, C.; GRAEFF, F.G. The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.49, n.3, p.549-554, 1994.

VIVO, M. **Taxonomia de Callithrix Erxleben, 1777 (Callitrichidae, Primates)**. Belo Horizonte, Fundação Biodiversitas, 1991, 105 p.

WALTERS, J.R. Transition to adulthood. In: SMUTS, B.B; CHENEY, D.L.; SEYFARTH, R.M.; WRANGHAM R.W.; STRUHSAKER, T.T., eds. **Primates Societies.** Chicago, Chicago University Press, 1987. 578 p.

WARBURTON, D.M. Stress and distress in response to change. In: BOX, H., ed. **Primate Responses to Environmental Change**, London, Chapman-Hall, 1990. 430 p.

WARD, H.E.; JOHNSON, E.A; SALMC, A.K.; BIRKLE, D.L. Effects of prenatal stress on defensive withdrawal behavior and corticotropin repeasing factor systems in rat brain. **Physiology and Behavior**, v.70, n.3/4, p.359-366, 2000.

WATSON, S.L.; WARD, J.P.; DAVIS, K.B.; STAVISKY, R.C. Scent-marking and cortisol response in the small-eared bushbaby (*Otolemur garnettii*). **Physiology and Behavior**, v.66, n.4/9, p.695-699, 1999.

WEINSTOCK, M. Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, v.21, p.1-10, 1997.

WEMELSFELDER, F.; HASKELL, M.; MENDL, M. T.; CALVERT, S.; LAWRENCE, A. B. Diversity of behaviour during novel object tests is reduced in pigs housed in substrate-impoverished conditions. **Animal Behaviour**, v. 60, p. 385-394, 2000.

WESTERGAARD, G.C.; SUOMI, S.J.; HIGLEY, J.D.; MEHLMAN, P.T. CSF5-HIAA and aggression in female macaque monkeys: species and interindividual differences. **Psychopharmacology**, v.146, n.4, p.440-446, 1999.

WESTLUND, K.; LJUNGBERG, T.; BOREFELT, U.; ABRAHAMSSON, C. Post-conflit affiliation in common marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*). **American Journal of Primatology**, v.52, p.31-46, 2000.

WOOLLEY, C.S.; GOULD, E.; MCEWEN, B. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. **Brain Research**, v.531, p.225-231, 1990.

YARBROUGH, L. W., TOLLETT, J. L., MONTREY, R. D., BEATTIE, R. J. Serum biochemical, hematological and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*). **Laboratory Animal Science**, v. 34, p. 276-280, 1984.

YUSIM, A.; AJILORE, O.; BLISS, T.; SAPOLSKY, R. Glucocorticoids exacerbate insult-induced declines in metabolism in selectively vulnerable hippocampal cell fields**. Brain Research**, v.870, n.1/2, p.109-117, 2000.

ZAR, J.H. **Biostatiscal Analysis**. Prentice Hall, New Jersey, 1999. 212 p.

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

Anexo 1: Valores médios das variáveis comportamentais e fisiológicas, para o grupo controle, na fase pré tratamento. ±DP: desvio padrão. N: tamanho da amostra.

Variável	Média	± DP	Unidade	N
Peso	-4,8667	5,6095	g	6
Glicemia	-49,8139	150,9664	mg/ml	6
Ácidos Graxos Livres	-,3209	,3175	mg/dl	6
Cortisol	228,6020	389,9935	ng/ml	5
Hemácias	,5120	1,0362	CélulasX 10^3/ml	5
Segmentados	3,0000	16,8819	Células/ml	5
Eosinófilos	,2000	,4472	Células/ml	5
Leucócitos	-10,9600	18,7413	Células/ml	5
Linfócitos	-24,4000	15,4693	Células/ml	5
Monócitos	21,6000	13,0499	Células/ml	5
Temperatura Timpânica Esquerda	-6,6667E-02	,6947	ºC	6
Temperatura Timpânica Direita	-,7750	1,3247	ºC	6
Temperatura Retal	1,421E-15	,4637	ºC	5
Movimentar	13,6180	72,6159	s	6
Parar	-39,5460	269,3132	s	6
Descansar	-34,9874	37,5570	s	6
Explorar	79,7123	171,7440	s	6
Comer	-3,3158	69,2316	s	6
Escarificar	-1,7872	3,3898	s	6
Autocatação	-2,2452	4,2213	s	6
Alocatação	2,0456	7,4593	s	6
Coçar	-12,1715	14,3741	s	6
Marcar	-3,1181	2,4987	s	6
Brincar	-30,6008	40,8225	s	6
Agonistico	-3,6005	3,4900	s	6
Caixa ninho	40,0851	180,8994	s	6

Anexo 2: Valores médios das variáveis comportamentais e fisiológicas, para o grupo enriquecido, na fase pré tratamento. ±DP: desvio padrão. N: tamanho da amostra.

Variável	Média	± DP	Unidade	N
Peso	-9,5571	10,6480	g	7
Glicemia	-86,0542	95,9292	mg/ml	7
Ácidos Graxos Livres	-,2595	,4509	mg/dl	7
Cortisol	465,9167	1324,0184	ng/ml	6
Hemácias	-,2957	1,1343	CélulasX 10^3/ml	7
Segmentados	13,5714	15,4473	Células/ml	7
Eosinófilos	-,1429	,6901	Células/ml	7
Leucócitos	6,6929	12,2753	Células/ml	7
Linfócitos	-26,5714	11,3704	Células/ml	7
Monócitos	12,4286	10,9370	Células/ml	7
Temperatura Timpânica Esquerda	8,571E-02	1,2622	°C	7
Temperatura Timpânica Direita	-,1286	,1604	°C	7
Temperatura Retal	-,1286	,1604	°C	7
Movimentar	-7,2331	35,1131	s	7
Parar	-94,8004	199,5173	s	7
Descansar	41,7524	87,5657	s	7
Explorar	-47,9544	38,3713	s	7
Comer	-87,7854	37,8180	s	7
Escarificar	-9,2196	16,0956	s	7
Autocatação	12,0979	14,7665	s	7
Alocatação	6,7139	13,0643	s	7
Coçar	-9,7367	55,8259	s	7
Marcar	-4,4975	5,6338	s	7
Brincar	-38,4547	29,9247	s	7
Agonistico	-4,1301	3,5723	s	7
Caixa ninho	-2,0569	3,3750	s	7

Anexo 3: Valores médios das variáveis comportamentais e fisiológicas, para o grupo estresse, na fase pré tratamento. ±DP: desvio padrão. N: tamanho da amostra. grupo

Variável	Média	± DP	Unidade	N
Peso	-23,8778	13,7901	g	9
Glicemia	-137,2453	77,8225	mg/ml	9
Ácidos Graxos Livres	,2796	,4173	mg/dl	9
Cortisol	1531,5013	1701,5930	ng/ml	8
Hemácias	9,778E-02	,6716	CélulasX 10^3/ml	9
Segmentados	15,4444	11,9907	Células/ml	9
Eosinófilos	-,2222	,4410	Células/ml	9
Leucócitos	-1,4778	6,4772	Células/ml	9
Linfócitos	-25,3333	16,8893	Células/ml	9
Monócitos	10,3333	6,7454	Células/ml	9
Temperatura Timpânica Esquerda	-,1944	1,6661	°C	9
Temperatura Timpânica Direita	-,1611	1,0346	°C	9
Temperatura Retal	-8,8889E-02	,1691	°C	9
Movimentar	-83,1482	51,7398	s	8
Parar	-560,4143	262,3289	s	8
Descansar	-40,4218	46,6463	s	8
Explorar	-30,0225	26,4603	s	8
Comer	-89,5448	60,2832	s	8
Escarificar	-2,0574	3,0071	s	8
Autocatação	-5,4337	5,7738	s	8
Alocatação	1,8496	2,3843	s	8
Coçar	-22,8165	20,4312	s	8
Marcar	-2,3070	2,8796	s	8
Brincar	-16,4466	18,1351	s	8
Agonistico	-14,6637	37,8459	s	8
Caixa ninho	867,3441	355,0362	s	8

EX LIBRIS

EX LIBRIS

EX LIBRIS

EX LIBRIS