

Monitoramento hormonal do par reprodutor de sagui comum (*Callithrix jacchus*) antes e após o nascimento dos filhotes

Daiane Martins Saldanha¹, Heveline Gomes do Nascimento², Maria de Fátima Pedrosa Pinto Barbosa³ e Maria Bernardete Cordeiro de Sousa⁴

1- Aluna bolsista da PPq; 2- Aluna bolsista do PIBIC-CNPq; 3- Professora co-orientadora, aluna de Pós-graduação; 4- Profa. Orientadora do Departamento de Fisiologia, Univ. Federal do Rio Grande do Norte

Resumo

O comportamento reprodutivo em mamíferos é modulado por hormônios, particularmente nas fêmeas. O presente trabalho tem como objetivo investigar as concentrações dos hormônios esteróides no par reprodutor, antes e após o parto, considerando a importância de *Callithrix jacchus* como modelo experimental em fisiologia reprodutiva. Foram usados cinco pares de *C. jacchus* e dosados os hormônios esteróides pelo ELISA, quatro semanas antes e após o parto. As alterações de progesterona e cortisol nas fêmeas após o parto indicam as condições fisiológicas de final de gestação e estro pós-parto. Embora os níveis de estradiol e andrógenos tenham se elevado e os de cortisol diminuído após o parto, nos machos essas diferenças não foram estaticamente significativas. Esses resultados sugerem que os hormônios estudados parecem não ter participação na modulação hormonal no comportamento de machos no pós-parto.

Palavras chave: hormônios sexuais, sagüi comum, modulação hormonal, cuidado parental.

Abstract

Reproductive behavior in mammals is modulated by hormones, mainly in females. The aim of this study was to investigate the concentration of steroid hormones in the reproductive pairs of *Callithrix jacchus*, before and after parturition, taken into account the importance of this species as an experimental model in reproductive physiology. Five pairs of *C. jacchus* were used and hormone measurement was performed by ELISA, four weeks before and after the parturition. Changes in plasma progesterone in females after parturition indicate physiological profile at the end of pregnancy and the occurrence of post partum estrus. Although estradiol and androgen levels increased and cortisol decreased after parturition in males, these changes were not statistically significant. These findings suggest that these hormones do not participate or have a secondary role in the hormonal modulation on behavior of males during the post partum of their mates.

Key words: Sexual hormones, common marmosets, hormonal modulation, parental care

Introdução

As alterações hormonais relacionadas à reprodução de *Callithrix jacchus*, conhecido vulgarmente como sagüi comum, têm despertado o interesse de muitos pesquisadores. São comuns nessa área, estudos sobre as alterações hormonais que ocorrem durante a gravidez e pós-parto, bem como em contextos de disputa entre fêmeas de *C. jacchus*. Os eventos fisiológicos, endócrinos e comportamentais relacionados à reprodução durante o ciclo ovulatório, gravidez e lactação na espécie *C. jacchus* já foram estudados por diversos pesquisadores (HEARN, 1983; DIXSON e LUNN, 1987).

As fêmeas de *C. jacchus* não apresentam sinais externos da ovulação, não menstruam, os ciclos ovulatórios são contínuos e o estro pós-parto pode ser observado poucos dias após o nascimento dos filhotes (CHAMBERS e HEARN, 1979). Os filhotes são amamentados, normalmente, por um período de aproximadamente 70 dias após o nascimento, embora alguns filhotes possam mamar por até 100 dias. O desmame se inicia 30 dias após o nascimento, quando os filhotes já conseguem pegar os alimentos com suas mãos ou receber alimentos oferecidos pelos seus parentes (HEARN, 1983). A lactação não influencia a ovulação em *C. jacchus* sendo comumente observado o estro pós-parto e a concepção logo após o nascimento dos filhotes (KHOLKTE, 1984). Entretanto, os níveis de prolactina no sangue de fêmeas de sagüi comum aumentam durante o período de amamentação (MUNRO et al., 1995). Segundo Hearn (1983), as fêmeas que amamentam gêmeos têm níveis de prolactina mais elevados do que mães que amamentam apenas um filhote.

Vários trabalhos descrevem alterações no padrão hormonal dos machos em diversas espécies de animais em função da gravidez da sua parceira ou da presença dos filhotes (GUBERNICK e NELSON, 1989; DIXSON e GEORGE, 1982). Em *C. jacchus* estes estudos referem-se principalmente a alterações nos níveis de prolactina e estão associados ao cuidado parental (MOTA e SOUSA, 2000; DIXSON E GEORGE, 1982). Apesar dos estudos sobre as interações entre os hormônios e o comportamento parental de machos de sagüi comum se referirem basicamente a alterações nos níveis de prolactina, diversos hormônios parecem ter papel importante na expressão do comportamento de machos de espécies que apresentam cuidado bi-parental (ZIEGLER et al., 2000, 2004), assim como já identificado em outros vertebrados (WYNNE-EDWARDS, 2001).

Com a finalidade de avaliar a influência do parto e do nascimento dos filhotes sobre os níveis hormonais do par reprodutor, foram analisadas as concentrações dos hormônios dos machos e das fêmeas durante as quatro semanas que antecederam ao parto e às quatro semanas

após o parto. Nas fêmeas foram medidos os níveis de progesterona e de cortisol no plasma. Para os machos os hormônios dosados foram andrógenos, estradiol e cortisol nas fezes. A avaliação desses dados foi feita tanto considerando a semana em que ocorreu o parto, como também, a primeira semana após o parto.

Materiais e Métodos

Neste estudo foram utilizados cinco pares reprodutores de *Callithrix jacchus* cujos filhotes sobreviveram além das quatro semanas após o nascimento, criados em cativeiro, no Núcleo de Primatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Os machos e fêmeas adultos foram retirados dos seus grupos familiares, acasalados e colocados em gaiolas individuais localizadas na área externa do Núcleo, medindo 2m de altura por 2m de comprimento e 1m de largura, enriquecidas com galhos de árvores, poleiros de madeira e caixa ninho na área externa sob condições naturais de temperatura, umidade e ciclo claro-escuro. A dieta oferecida aos animais consistiu de duas refeições diárias: uma papa protéica pela manhã e frutas à tarde. As fêmeas receberam após as coletas semanais de sangue, uma suplementação oral de ferro e complexo vitamínico. A gravidez foi confirmada por palpação trans-abdominal (PHILLIPS e GRIST, 1975) e, posteriormente, pela dosagem de progesterona pelo ELISA. Todas as gestações foram a termo.

As determinações das concentrações de progesterona e de cortisol plasmáticos foram realizadas no sangue das fêmeas por que, pelo menos para a progesterona, os valores fecais não são equivalentes aos observados no sangue (BARBOSA, 2003). Para os machos as dosagens de andrógenos, estradiol e cortisol foram realizadas nas fezes. Ambas as dosagens foram executadas usando métodos imunoenzimáticos (MUNRO e STABENFELDT, 1984). As determinações hormonais nas fezes dos machos foram feitas segundo metodologia adaptada para fezes a partir do método utilizado para as amostras de sangue (SOUSA e ZIEGLER, 1998; ZIEGLER et al., 1996).

Na análise dos dados foram utilizados testes estatísticos não-paramétricos, uma vez que os dados obtidos neste estudo não apresentaram distribuição normal. Em todos os testes empregados foi considerado como nível de significância estatística $p \leq 0,05$. Para se avaliar as alterações nos níveis hormonais do par reprodutor ao longo das oito semanas estudadas, foi utilizado o Teste de Friedman (Xr^2). Nas situações em que o valor de Xr^2 foi significativo ($p < 0,05$) foi empregado o Teste de Wilcoxon (T) para comparação dos resultados entre as

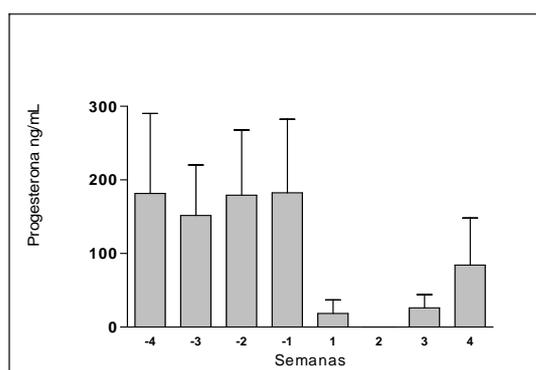
semanas estudadas. Os dados hormonais analisados correspondem aos valores médios semanais dos esteróides durante o período pré e pós-parto.

Resultados

De acordo com o tratamento estatístico, as concentrações médias de progesterona no plasma das fêmeas durante as quatro semanas após o parto foram significativamente mais baixas do que as concentrações de progesterona obtidas nas semanas que antecederam ao parto (progesterona antes= $90,62 \pm 8,67$; progesterona depois $13,62 \pm 4,43$; $Xr^2 = 22,60$; $p < 0,05$; Figura 1A). Os níveis de cortisol no sangue das cinco fêmeas analisadas também foram significativamente mais elevados antes do que após o parto (cortisol antes= $408,95 \pm 167,52$; cortisol depois= $154,74 \pm 25,51$; $Xr^2 = 24,73$; $p < 0,01$), conforme apresentado na Figura 1B.

Os níveis de andrógenos e de estradiol foram mais elevados após o parto (andrógenos antes= $146,8 \pm 62,27$; andrógenos depois= $175,27 \pm 108,27$; estradiol antes= $0,96 \pm 0,52$; estradiol depois $1,79 \pm 1,04$), enquanto os de cortisol foram mais baixos (cortisol antes= $30,62 \pm 9,98$; cortisol depois= $23,60 \pm 10,40$). Todavia não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis hormonais nas fezes dos machos entre os períodos antes e após o nascimento dos filhotes (andrógenos: $Xr^2 = 7,26$; $p = 0,40$; Figura 2A; estradiol: $Xr^2 = 8,00$; $p = 0,33$; Figura 2B; cortisol: $Xr^2 = 3,20$; $p = 0,865$).

A



B

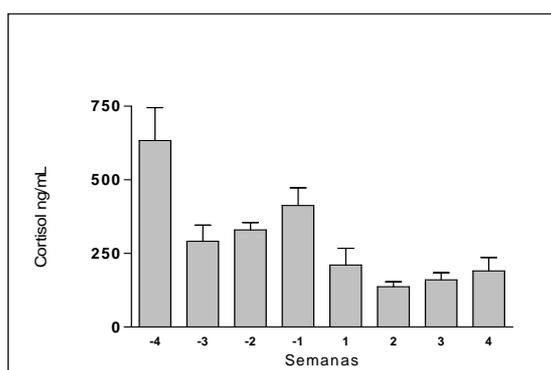


Figura 1 - Valores médios (+ EPM) da progesterona plasmática (**A**) e do cortisol plasmático (**B**) nas fêmeas reprodutoras durante as quatro semanas antes do parto (-4, -3, -2 e -1) e quatro semanas após o parto (1, 2, 3 e 4) (N=5).

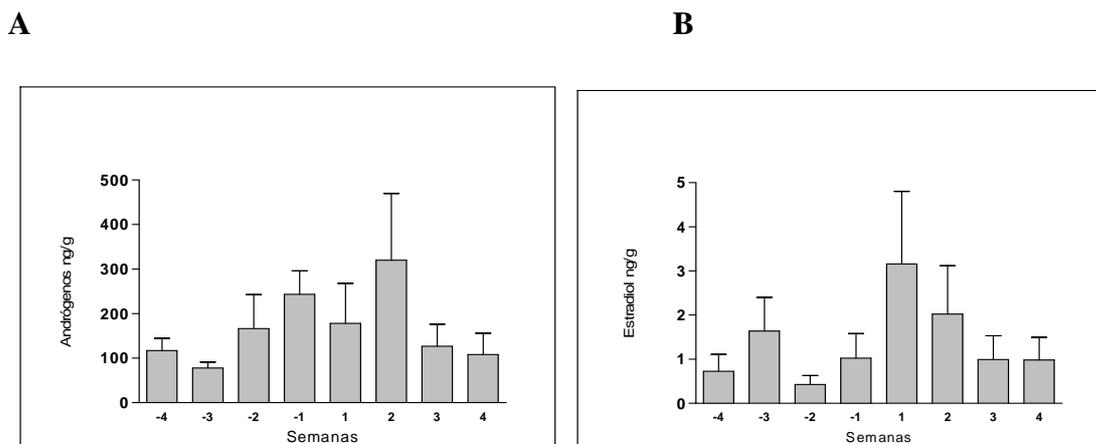


Figura 2 – Valores médios (+ EPM) de andrógenos fecais (**A**) e de estradiol fecal (**B**) dos machos durante as quatro semanas antes do parto (-4, -3, -2 e -1) e quatro semanas após o parto (1, 2, 3 e 4) (N=5).

Discussão

As diferenças nas concentrações dos esteróides de machos e fêmeas no período imediatamente anterior e posterior ao parto foram investigadas a partir da análise dos resultados das determinações hormonais dos animais do par reprodutor, realizadas no intervalo compreendido entre as quatro semanas que antecederam e sucederam o parto. Os resultados do monitoramento dos níveis plasmáticos de cortisol e de progesterona nas fêmeas evidenciaram que os níveis destes hormônios no plasma sanguíneo das fêmeas de *C. jacchus* diminuem logo após o parto. A redução nos níveis de cortisol deve estar relacionada à redução do estresse das fêmeas e a própria expulsão do feto que reduz a sobrecarga induzida pelo embrião sobre a adrenal materna. A diminuição da concentração de progesterona no sangue das fêmeas deve-se principalmente à expulsão da placenta que deixa de exercer a sua função endócrina temporária e ao restabelecimento do sistema-hipotálamo-hipofisário-gonadal (REZENDE, 2000). Em fêmeas de *C. jacchus* o restabelecimento do ciclo ovariano com a conseqüente ovulação ocorre precocemente (HEARN, 1983). Neste estudo, quatro das cinco fêmeas analisadas apresentaram na terceira semana após o parto níveis de progesterona plasmática acima de 10ng/mL, valores compatíveis com a ovulação (HARDING et al., 1982), caracterizando, portanto, o estro pós-parto.

Em *C. jacchus* as alterações nos níveis hormonais dos machos e as suas relações com a gravidez da fêmea, presença de filhotes e cuidado parental dos machos, foram inicialmente

descritas por Dixson & George (1982). Estes autores verificaram que machos de sagüi comum que conviviam com filhotes recém-nascidos, apresentavam níveis de prolactina significativamente mais elevados do que os machos que estavam acasalados com fêmeas não grávidas e sem a presença de filhotes. Também foi observada uma tendência de redução nos níveis de testosterona dos machos que estavam convivendo com filhotes recém-nascidos. Em diferentes espécies de vertebrados a relação entre cuidado parental e prolactina também tem sido evidenciada, particularmente em *Saguinus oedipus* (ZIEGLER et al., 2000).

Entre as estratégias reprodutivas dos calitriquídeos, *S. oedipus*: (SNOWDON, 1996); *Leontopithecus rosalia*: (KLEIMAN et al., 1988); *C. jacchus*: (BOX, 1975; EVANS e POOLE, 1983), se inclui a formação de um par reprodutor permanente, no qual são observados altos índices de interação e participação efetiva do macho no cuidado com a prole. Portanto, em espécies com essas características, esperava-se que a proximidade do parto da fêmea e a presença dos filhotes fossem capazes de induzir alterações significativas nos níveis dos esteróides sexuais e adrenais de machos. Entretanto, os dados obtidos neste trabalho se contrapõem a esta predição, uma vez que não foram detectadas alterações estatisticamente significativas nos níveis de andrógenos, de estradiol e de cortisol dos machos quando comparadas às quatro semanas antes do parto com as quatro semanas após o parto.

Apesar desses resultados, os valores médios nas concentrações de estradiol e de andrógenos nas fezes dos machos ao longo das oito semanas estudadas merecem algumas considerações. Os níveis de estradiol nas fezes dos machos acasalados com fêmeas grávidas apresentam um pico na 4ª e 5ª semanas de gestação (BARBOSA, 2003). A análise dos níveis de estradiol considerando-se apenas o período das oito semanas em torno do parto (quatro semanas pré-parto e quatro semanas pós-parto) mostrou uma elevação sem significado estatístico nos níveis deste hormônio nas duas primeiras semanas após o parto e uma manutenção dos níveis anteriores ao parto nas demais semanas do pós-parto. Estes resultados sugerem que os níveis de estradiol não parecem estar associados aos eventos reprodutivos do estro pós-parto ou cuidado parental em *C. jacchus*.

Para o cortisol fecal, os dados obtidos neste trabalho não mostraram alterações significativas nos machos quando analisados os valores durante as quatro semanas antes e após o parto, semelhante aos resultados apresentados por Mota (1999).

Com relação aos andrógenos também não foi encontrada diferença entre os períodos anterior e posterior ao parto. No trabalho de Castro (2002) e Castro e Sousa (2005) foi

encontrada uma tendência de elevação nos níveis de andrógenos nos machos quando as fêmeas ovularam no pós-parto. No presente estudo quatro das cinco fêmeas ovularam, mas a possível relação entre os níveis hormonais dos machos e a ocorrência do estro neste período não foi evidenciada.

Em resumo, as alterações hormonais detectadas nas fêmeas nas primeiras semanas após o parto são compatíveis com as alterações fisiológicas esperadas referentes ao término da gravidez e ocorrência de estro após o parto. Por outro lado, a ausência de variação significativa nos níveis de estradiol, de andrógenos e de cortisol nos machos, sugere que estes hormônios parecem não desempenhar papel importante na modulação do comportamento de machos nas quatro semanas que se seguem ao nascimento dos filhotes, como o cuidado parental e o comportamento sexual nas fases de estro pós-parto.

Agradecimentos

Agradecemos aos funcionários do Núcleo de Primatologia, Antonio Barbosa da Silva, Geniberto Cláudio dos Santos e Ednólia Câmara Rodrigues e ao veterinário José Flávio Vidal Coutinho pelo apoio técnico. Agradecemos ainda a Patrícia Lédo Guilhermino e Maja Veloso pelas dosagens hormonais. Esse projeto foi desenvolvido com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Programa PIBIC e Proc. No. 521186/96; 470601/2003-1 para M.B.C.S.

Referências

- BARBOSA, M.F.P.P. **Níveis de esteróides e comportamentos sócio-sexuais do par reprodutor de *Callithrix jacchus* durante os períodos de gestação e pós-parto.** 102fls. Tese (Doutorado em Psicobiologia) Programa de Pós-graduação em Psicobiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2003.
- BOX, H.O. (1975) Quantitative studies of behaviour within captive groups of marmosets monkeys (*Callithrix jacchus*). **Primates** v.16, p.155 – 174, 1975.
- CASTRO, D.C. **Estudo do perfil da excreção fecal de testosterona em machos de sagüi, *Callithrix jacchus* (Primate, Callitrichidae) vivendo em grupos familiares em cativeiro.** 67fls. Dissertação (Mestrado em Psicobiologia) Programa de Pós-graduação em Psicobiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2002.

- CASTRO, D.C e SOUSA, M.B.C. Androgen levels in common marmoset (*Callithrix jacchus*) males living in captive family groups. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 65-72, 2005.
- CHAMBRES, P.L. e HEARN, P. L. Peripheral plasma levels of progesterone, oestradiol-17 β , oestrone, testosterone, androstenedione and chronic ganadotrophin during pregnancy in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.56, p. 23-32, 1979.
- DIXSON A. F. e GEORGE, L. Prolactin and parental behavior in male New World Primate. **Nature**, v. 229, p. 551-553, 1982.
- DIXSON, A. F. & LUNN, S. F. Postpartum changes in hormones and sexual behavior in captive groups of marmosets (*Callithrix jacchus*). **Physiology and Behavior** v 4, p. 577-583, 1987.
- EVANS, S. e POOLE, T.B. Pair bond formation and breeding success in the common marmoset, *Callithrix jacchus jacchus*. **International Journal of Primatology**, v.4, p. 83-97, 1983.
- GUBERNICK, D. J. e NELSON, R. J. Prolactin and paternal behavior in the biparental California mouse (*Peromyscus californicus*). **Hormones and Behavior**, v. 23, p. 203-210, 1982.
- HARDING, R. D.; HULME, M.S.; LUNN, S. F.; HENDERSON, C. e AITKEN, R. J. Plasma progesterone levels throughout the ovarian cycle of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Journal of Medical Primatology**, v. 11, p. 43-51, 1982.
- HEARN, J. P. The common marmoset (*Callithrix jacchus*). In: J. P. Hearn (ed.) **Reproduction in New World Primates**. New models in Medical Science. Lancaster: MTP Press Limitep,1983.
- KLEIMAN, D.G.; HOAGE, R.J.; GREEN, K.M. The lion tamarins, Genus *Leontopithecus*. In: Mittermeier RA, Rylands AB, Coimbra-Filho A, Fonseca GAB (ed.) **Ecology and Behavior of Neotropical Primates**, v. 2, Contagem: Littera Maciel, p. 299-347, 1988.
- KHOLKUTE, S. D. Plasma progesterone levels throughout of the ovarian cycle of the common marmoset, (*Callithrix jacchus*). **Primates**, v. 25, p. 123-126, 1984.

- MORO, M. et al. Serum levels of prolactin during the ovarian cycle, pregnancy and lactation in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Primates**, v. 36(2), p. 249-257, 1995.
- MOTA, M.T. **Hormonal and behavioural studies of paternal and alloparental care and reproductive success in common marmosets (*Callithrix jacchus*)**. 197fls. Tese (Doutorado em Ciências) Psychology Department, University of Reading, UK, 1999.
- MOTA, M. T. e SOUSA, M. B. C. Prolactin levels of fathers and helpers related to alloparental care in common marmosets, *Callithrix jacchus*. **Folia Primatologica** v. 71, p. 22-26, 2000.
- MUNRO, C. e STABENFELDT, G. Development of a microtitre plate enzyme immunoassay for the determination of progesterone. **Journal of Endocrinology**, v. 101, p. 41-49, 1984.
- PHILLIPS, L. R. e GRIST, S. M. The use of transabdominal palpation to determine the course of pregnancy in the marmoset (*Callithrix jacchus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 43, p. 103-108, 1975.
- REZENDE, J. **Obstetrícia** ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2000.
- SNOWDON CT (1996) Infant care in cooperatively breeding species. In: Rosenblatt JS; Snowdon **Parental care: Evolution, mechanisms, and adaptive significance** CT (ed.), San Diego, Academic Press, p. 643-689, 1996.
- SOUSA, M. B. C. e 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.
- WYNNE-EDWARDS, K. E. Hormonal changes in mammalian fathers. **Hormones and Behavior**, v. 40, p. 139-145, 2001.
- ZIEGLER T.E.; SCHEFFLER G.; WITTWER D.J.; SCHULTZ-DARKEN N.J.; SNOWDON C.T. e ABBOTT D.H. Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of callithrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 91-99, 1996.
- ZIEGLER, T. E., WEGNER, F. H., CARLSON, A. A., LAZARO-PEREA, C. e SNOWDON, C. T. Prolactin levels during the periparturitional period in the biparental cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*). Interactions with gender, androgen levels and parenting. **Hormones and Behavior**, v. 38, p. 111-122, 2000.

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

Daiane Martins Saldanha

Endereço eletrônico: daianesaldanha@yahoo.com.br

Base de pesquisa: Laboratório de Endocrinologia comportamental

Endereço postal: Departamento de Fisiologia, Centro de Biociências, 59078-970, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Natal/RN – Brasil