

Myla de Aguiar Bittencourt

**Mudanças de temperatura corporal
induzidas por estresse em pombos (*Columba
livia*).**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-graduação em Neurociências, como pré-requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre.

Orientador: José Marino Neto.

Florianópolis

2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bittencourt, Myla de Aguiar

Mudanças de temperatura corporal induzidas por estresse em pombos (*Columba livia*). / Myla de Aguiar Bittencourt ; orientador, José Marino Neto - Florianópolis, SC, 2014. 97 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

Inclui referências

1. Neurociências. 2. estresse de isolamento social. 3. hipotermia. 4. habituação. 5. pombo. I. Marino Neto, José. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

MYLA DE AGUIAR BITTENCOURT

**“MUDANÇAS DE TEMPERATURA CORPORAL
INDUZIDAS POR ESTRESSE EM POMBOS (COLUMBA
LÍVIA)”**


Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do Grau de Mestre em Neurociências na área de Neuropsicobiologia no Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 26 de agosto de 2014.




Prof. Rodrigo Bainy Leal
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:



Prof. José Marino Neto
Orientador – UFSC



Prof. Ana Lúcia S. Rodrigues
Membro – UFSC



Prof. Cilene Lino de Oliveira
Membro - UFSC



Prof. Renato Hajenius Achê de Freitas

Dedicatória

Dedico esse trabalho à minha família...

Agradecimentos

O presente trabalho contou com a participação e apoio de várias pessoas, as quais direta e/ou indiretamente tornaram possível a conclusão do mesmo. Gostaria de expressar minha consideração.

Primeiramente, à minha família que me deu bons exemplos e base necessários para minha caminhada até aqui.

Ao professor Dr. José Marino Neto, meu orientador, pelos ensinamentos, orientações, incentivos e, por fim, por me tirar de vários momentos em que eu achava não ter saída.

Aos meus colegas de pós graduação e laboratório pelas conversas, trocas de dificuldades e aquelas ajudinhas nas situações mais desesperadoras. Em ordem alfabética, Ana Paula, Fernanda (Fê), Fernando, Gabryela, Juliane, Margel, Michele (Miche), Natália Paludo, Natália Saretta (Nati), Tiago, William (mexicano). Vários deles levo em meu coração, pela grande amizade e carinho despendido a mim.

Ao Pablo pela sua tolerância, cumplicidade, preocupação e paciência nos momentos mais difíceis desse caminho. Por compreender e apoiar minhas ausências em algumas situações e por ser uma das grandes motivações da minha vida.

Agradeço, também, a CAPES e CNPQ pelo incentivo financeiro prestado ao longo de toda minha pesquisa. De forma a viabilizar a compra e utilização do sistema telemétrico, parte fundamental para a pesquisa.

Ao final, quero agradecer a todos os “adversários” que obtive nessa etapa, porque sem eles, eu não teria crescido e melhorado profissionalmente o quanto evolui.

Resumo

Mudanças na Temperatura corporal (T_c) são consequências fisiológicas significativas induzidas por estímulos estressores em mamíferos e aves. Pombos (*Columba Livia*) vivem em ambientes urbanos potencialmente estressores e são comumente usados para estudos neurocomportamentais; entretanto, as respostas térmicas ao estresse em pombos são pouco conhecidas. Descrevemos alterações térmicas (intra-celomática), a partir de registros telemétricos, dada a uma variedade de estímulos potencialmente estressores, incluindo transferência a uma nova gaiola, que conduz a um isolamento visual entre os membros da mesma espécie; a presença do experimentador; a manipulação suave; injeção fictícia (i.p.); e contenção para indução à imobilidade tônica (IT). A transferência à gaiola experimental (GExp) provocou uma curta hipertermia (10-20 min), seguida por uma diminuição longa e substancial na T_c , retornando a valores basais cerca de 150 min após a transferência. Depois de cerca de 2 horas na GExp, os outros estímulos potencialmente estressantes evocaram apenas hipertermia marginalmente significativa no teste de IT e entrada do experimentador ou hipotermia na resposta de injeção fictícia. Estímulos oferecidos 26 horas após transferência induziram aumentos intensos na T_c nos testes de entrada do experimentador e manipulação suave ou resposta hipotérmica no teste de injeção fictícia. Essas mudanças na T_c não parecem estar relacionadas com modificações na atividade geral do animal (medidas de dados actimétricos registrados por telemetria). Repetidos testes não conseguiram afetar as respostas hipotérmicas da transferência à GExp, mesmo depois de 9 ensaios com 1 ou 8 dias de intervalo entre eles, o que sugere que o isolamento social (visual) entre os membros da mesma espécie pode ser um estímulo forte e dificilmente controlável nessa espécie. Esses dados indicam que mudanças de temperatura induzidas por estresse podem ser um parâmetro fisiológico consistente e confiável de estresse, mas que também podem mostrar atributos do tipo, direção e espécie específicos para cada estímulo estressor.

Palavras-chaves: estresse de isolamento social, hipertermia, hipotermia, habituação, bem-estar, pombo.

Abstract

Changes in body temperature are significant physiological consequences of stressful stimuli in mammals and birds. Pigeons (*Columba livia*) prosper in (potentially) stressful urban environments and are common subjects in neurobehavioral studies; however, the thermal responses to stress stimuli by pigeons are poorly known. Here, we describe acute changes in the telemetrically recorded celomatic (core) temperature (T_c) in pigeons given a variety of potentially stressful stimuli, including transfer to a novel cage (ExC) leading to visual isolation from conspecifics, the presence of the experimenter (ExpR), gentle handling (H), sham intracelomatic injections (SI), and the induction of the tonic immobility (TI) response. Transfer to the ExC cage provoked short-lived hyperthermia (10-20 min) followed by a long-lasting and substantial decrease in T_c , which returned to baseline levels 150 min after the start of the test. After a 2-hour stay in the ExC, the other potentially stressful stimuli evoked only weak, marginally significant hyperthermic (ExpR, IT) or hypothermic (SI) responses. Stimuli delivered 26 h after transfer to the ExC induced definite and intense increases in T_c (ExpR, H) or hypothermic responses (SI). These T_c changes appear to be unrelated to modifications in general activity (as measured via telemetrically recorded actimetric data). Repeated testing failed to affect the hypothermic responses to the transference to the ExC, even after nine trials and at 1- or 8-day intervals, suggesting that the social (visual) isolation from conspecifics may be a strong and poorly controllable stimulus in this species. The present data indicated that stress-induced changes in T_c may be a consistent and reliable physiological parameter of stress but that they may also show stressor type-, direction- and species-specific attributes.

Keywords: social isolation stress, hyperthermia, hypothermia, habituation, welfare, pigeon

Lista de figuras e tabelas:

Figura 1: Representação dos elementos básicos de controle da Tc.....Pág.19

Figura 2: Corresponde às imagens da gaiola residência, gaiola experimental, do sensor telemétrico e da cirurgia de implantação do sensorPág. 37

Figura 3: Valores de actimetria (média +/- EPM) por segundo, durante cada um dos comportamentos exibidos por um animal durante os registros.....Pág.46

Figura 4: Perfis individuais das variações na Tc após transferência à GExp durante 48h.....Pág. 48

Figura 5: Valores de Tc e Act em deltas e bruto após transferência à GExp, em um registro contínuo de 48hPág. 50

Figura 6: Respostas Telemétricas (Tc e Act) a diferentes estímulos estressores, 2 ou 26 horas após entrada na GExp..... Pág.55

Figura 7. Efeitos do re-teste sobre a Tc e Act, em 10, 60 e 90 minutos após introdução dos animais na GExpPág. 57

Tabela 1: Descrição dos registros comportamentaisPág. 39

Tabela 2: Efeito do re-teste no nadir da Tc e o tempo até o nadir.....Pág.57

Sumário

1.INTRODUÇÃO.....	17
1.1. TEMPERATURA CORPORAL E SUA REGULAÇÃO	17
1.1.1. Estresse e temperatura corporal em mamíferos .	23
1.1.2.Estresse e temperatura corporal em aves	27
2.OBJETIVOS.....	31
2.1.OBJETIVO GERAL:	31
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	31
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1. ANIMAIS E ACLIMATAÇÃO AO LABORATÓRIO .	33
3.2. CIRURGIA.....	33
3.2.1. Recuperação após cirurgia	34
3.3. ACLIMATAÇÃO À GAIOLA EXPERIMENTAL (GEXP).....	34
3.4. REGISTROS TELEMÉTRICOS	35
3.4.1. Validação dos registros de Temperatura corporal (Tc) e Actimetria (Act)	36
3.5. REGISTROS COMPORTAMENTAIS.....	38
3.6. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	40
3.6.1. Descrição dos registros contínuos de Tc e Act durante 48 horas após transferência à Gexp	40

3.6.2. Registros telemétricos após diferentes estímulos, potencialmente estressores, ministrados durante e após a ocorrência de outro estímulo estressor (transferência à GExp)	41
3.6.3. Respostas térmicas sobre transferência da GRes para a GExp: efeito do re-teste.....	42
3.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	43
4. RESULTADOS.....	45
4.1.VALIDAÇÃO DA TEMPERATURA E ACTIMETRIA PARA POMBOS:.....	45
4.1.1.Temperatura	45
4.2.DESCRICÃO DOS REGISTROS CONTÍNUOS DE TC E ACT DURANTE 48 HORAS APÓS TRANSFERÊNCIA À GEXP	47
4.3.REGISTROS TELEMÉTRICOS APÓS DIFERENTES ESTÍMULOS POTENCIALMENTE ESTRESSORES, MINISTRADOS DURANTE E APÓS A OCORRÊNCIA DE OUTRO ESTÍMULO ESTRESSOR.....	52
4.4.RESPOSTAS TÉRMICAS DA TRANSFERÊNCIA DA GRES PARA A GEXP: EFEITOS DO RE-TESTE	56
5.DISSCUSSÃO.....	61
6.REFERÊNCIAS.....	69

1. INTRODUÇÃO

1.1. TEMPERATURA CORPORAL E SUA REGULAÇÃO

Mamíferos e aves (animais homeotérmicos) conseguem manter a temperatura corporal (T_c) oscilando dentro de uma faixa estreita de valores, apesar das perturbações por fatores externos. A temperatura corporal relativamente constante impede que as flutuações térmicas (geradas por variações na temperatura do ambiente, por exemplo) interfiram nas reações bioquímicas corporais. Isto é importante, já que mudanças relevantes na temperatura celular alteram uma variedade de propriedades celulares, incluindo a redução na eficiência das enzimas e fluidez da membrana, prejudicando, dessa forma, a funcionalidade das células (MORRISON E NAKAMURA, 2011). Além do exposto acima, e de particular relevância para o presente trabalho, mudanças de temperatura podem ocorrer como consequência de desafios (estresses) dirigidos a outros sistemas de controle, como, durante reações a estímulos ameaçadores de caráter psicológico ou emocional.

Animais homeotérmicos mantêm a temperatura corporal constante através de mecanismos precisos de dissipação e produção interna de calor (ou termogênese; CLAPHAM, 2012). A produção de calor é controlada por mecanismos diferenciados em obrigatórios e facultativos. Os obrigatórios estão envolvidos com a taxa metabólica basal: calor produzido pelo metabolismo celular de todos os processos necessários para a vida (respiração, tônus muscular, transporte de íons pela membrana, etc). Os facultativos estão relacionados aos mecanismos “adicionais” para manutenção da T_c , como aumento da produção de calor pelo exercício físico (aumento da contratilidade muscular), tremores, ativação do tecido adiposo marrom e outros

(CLAPHAM, 2012). Já os mecanismos de dissipação de calor, como a sudorese e aumento da taxa respiratória, são acionados em decorrência ao aumento da Tc acima de valores basais.

A integração sobre o controle da Tc acontece na área pré-óptica (centro termorregulatório) que recebe informações através de termorreceptores ambientais (pele), viscerais e centrais (inclusive do próprio hipotálamo), sinais do sistema imune e outros parâmetros homeostáticos (como variações dos níveis de CRH; hormônio liberador de corticotrofina, por exemplo). Posteriormente, providencia sinais efetores através de eferências neurais e vias neuroendócrinas (MORRISON, NAKAMURA e MADDEN, 2008; NAKAMURA, 2011; MORRISON e NAKAMURA, 2011; CLAPHAM, 2012). O centro integrador dessas informações faz interação com outros núcleos encefálicos (como hipotalâmico dorsomedial, bulbar ventromedial, etc) e organiza respostas para o reequilíbrio da homeostase térmica, aumentando a produção e/ou dissipação de calor (MORRISON, NAKAMURA e MADDEN, 2008; NAKAMURA, 2011; MORRISON e NAKAMURA, 2011; CLAPHAM, 2012).

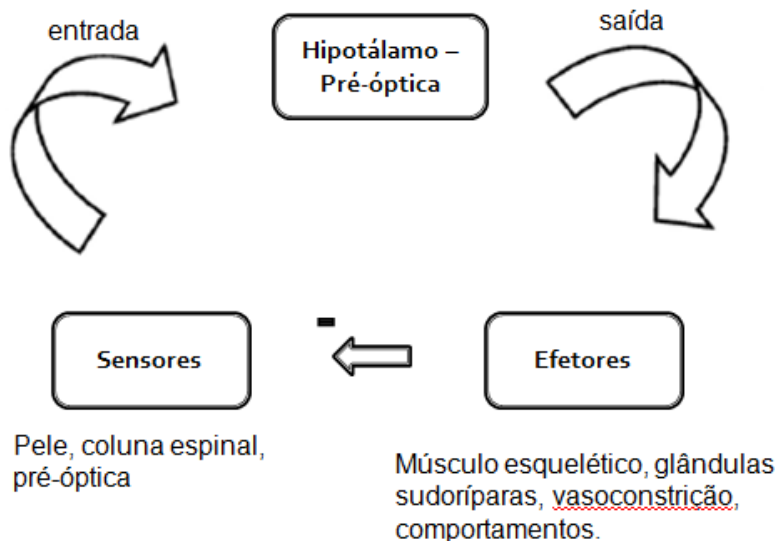


Figura 1: Representação dos elementos básicos de controle da Tc. Informações de vários sensores são interpretadas na área pré-óptica, que organiza respostas eforas. Ao alterar a produção e dissipação de calor, a Tc é mantida relativamente constante. Modificado de BICEGO et al., 2007.

Alguns fatores perturbam a homeostase térmica e alteram a Tc. Em mamíferos, observaram-se variações na Tc decorrentes a diferentes temperaturas ambientes e essas alterações foram inversamente proporcionais à temperatura ambiente. Ou seja, temperaturas ambientes baixas (abaixo da zona termoneutra; zona da temperatura ambiente em que a Tc é mantida pelo equilíbrio entre produção e dissipação de calor; IUPS, 2001) aumentaram a Tc cerca de 0,5°C em ratos adaptados ao frio (PÉTERVÁRI et al., 2002; PÉTERVÁRI et al., 2003). Além disso, durante o período prandial, observou-se aumento na temperatura central e hipotalâmica, em roedores,

associado ao início da alimentação. Esse aumento foi relacionado com a duração do comportamento de comer (ABRAMS e HAMMEL, 1964). As elevações da T_c e da taxa metabólica provocadas pela ingestão de alimentos estão relacionadas principalmente à quantidade de comida ingerida e, em menor grau, aos sinais calóricos dela derivados (HIMMS-HAGEN, 1995; EMBER et al., 2000; GÖBEL et al., 2001). Essa alteração (aumento) ocorre em proporção ao volume de alimento ingerido (EMBER et al., 2000).

A contratilidade do músculo também produz calor de forma facultativa. Exercício físico, tremores e termogênese sem tremores fornecem calor para o corpo que proporciona efeito adaptativo a uma ampla variedade de situações, como ambientes frios, por exemplo (BLOCK, 1994). Além disso, foi levantada a hipótese que a actimetria (medida de atividade motora geral) funciona como mecanismo termorregulador (termogênese sem tremores). Em ratos, a actimetria (Act) diurna apresenta ritmo bimodal, semelhante à T_c (REFINETTI e MENAKER, 1992; WEINERT e WATERHOUSE, 1998). Esta é elevada quando esses animais estão em temperaturas ambientes abaixo da zona termoneutra e/ou quando privados de comida (CAMPBELL e LYNCH, 1967; CAMPBELL e LYNCH, 1968). O sono parece fazer o efeito contrário sobre a T_c , diminuindo-a. Intensas variações de T_c são observadas durante o sono. Em ratos, a redução na T_c central e hipotalâmica após comportamento de sono, e a magnitude dessa hipotermia, foram associadas com a duração desse comportamento (ABRAMS e HAMMEL, 1964). Em humanos, o aumento de sono de ondas lentas e paradoxal está associado à hipertermia, e esta é mais intensa quando os voluntários são orientados a permanecer acordados (BORBÉLY, 1977; ZAMMIT et al., 1992). A T_c sofre mudanças ao longo do ciclo claro/escuro nesses mesmos animais. Em ratos, a T_c é maior durante a noite, visto que esses

animais estão mais ativos nesse período, do que o dia, mesmo estando em zona termoneutra (EIKELBOOM, 1986).

Grande parte dessas perturbações acomete, também, a homeostase térmica das aves. Nesses animais também ocorrem variações da T_c decorrentes do ciclo diário. Em aves, as temperaturas diurnas podem ser até 2,48°C maiores do que a noite (PRINZINGER et al., 1991). Em pombos, foi observado que a T_c noturna é mais baixa que a diurna, cerca de 1,5°C (RASHOTE et al., 1995; GERAN e RAHOTTE, 1997; RASHOTE et al., 1998); e a T_c diurna apresenta dois picos: início e final do dia (RASHOTE et al., 1995). Rashotte e colaboradores (1998) observaram relação entre o aumento de sono de ondas lentas, e diminuição do estado acordado, com a diminuição da T_c noturna em pombos. Os dados entre temperatura e estágios do sono são correlacionais, porém, não é possível afirmar que essa relação é causal, visto que, a hipotermia noturna é característica nessa espécie (RASHOTE et al., 1995; RASHOTTE et al., 1998). Interessantemente, a oscilação térmica noite/dia é diminuída com o aumento de massa corporal nas aves (PRINZINGER et al., 1991).

O consumo de alimentos (ou a falta dele) afeta, a curto e longo prazo, o controle da temperatura durante os estados de repouso (PHILLIPS e BERGER, 1989; PHILLIPS e BERGER, 1991; RASHOTTE et al., 1995; RASHOTTE et al., 1997; RASHOTTE et al., 1998; RASHOTTE et al., 1999). Ou seja, animais em situação de jejum prolongado têm T_c menor durante a noite (PHILLIPS e BERGER, 1991) e o volume ingerido durante o dia correlaciona-se com a temperatura noturna (REINERTSEN e BECH, 1994; RASHOTTE et al., 1997). Alimentos sem calorias (celulose) têm efeitos parecidos (aumento) sobre a T_c e também influenciam na T_c noturna (REINERTSEN e BECH, 1994; GERAN e RASHOTTE, 1997). Ou seja, a alteração da T_c parecer estar mais envolvida com a

quantidade de comida ingerida do que com as calorias contidas nela. Além disso, o aumento na termogênese é rapidamente perdido para o meio ambiente ou mesmo utilizado para substituir mecanismos facultativos de produção de calor, como os tremores. Pombos alimentados tiveram uma diminuição nos tremores noturnos, e a intensidade dos tremores é inversamente proporcional ao consumo diário de alimento (RASHOTTE et al., 1999; MARJONIEMI, 2000). Esses mesmos animais quando colocados em ambientes frios (abaixo da zona termoneutra) aumentaram o consumo alimentar (ENDERSON et al., 1992). Outro ponto interessante, foi observada diminuição na temperatura da superfície (vasoconstrição periférica), em galinhas, por antecipação e consumo de alimento palatável (indicando aumento na T_c central, MOE et al., 2012).

Apesar de as características gerais da termorregulação em aves parecerem similares às dos mamíferos, existem diferenças comportamentais e funcionais que influenciam no modo como esse controle acontece. A forma de isolamento térmico entre as espécies é diferente. Aves possuem penas que as protegem diante de ambientes frios, por exemplo (DAWSON e WHITTOW, 2000). A termogênese causada por tremores parece mais acentuada em aves do que em mamíferos (MARSH e DAWSON, 1989), que utilizam outros mecanismos de produção de calor como pelo tecido adiposo marrom (DAWSON e WHITTOW, 2000 apud MARSH, 1993). O principal mecanismo de termogênese observada em aves, quando mantidas em zonas abaixo da termoneutralidade, foi o tremor (MARSH e DAWSON, 1989). A termogênese causada por tremores foi suficiente para manter aquecidos os canários selvagens (*Carduelis tristis*) por durante 3 horas, em temperaturas de -60°C (DAWSON e CAREY, 1976). Aves parecem carecer de tecido adiposo marrom e a proteína desacopladora, que são essenciais aos mamíferos (DAWSON e O'CONNOR, 1996). Além dessas diferenças em relação à produção de calor, existem diferenças entre os grupos frente a

mecanismos de dissipação do mesmo. Foi observado que aves utilizam mecanismos de dissipação de calor pelo aumento da taxa respiratória e evaporação cutânea (MARDER e GAVRIELI-LEVIN, 1987; MARDER et al., 1989). Em aves aclimatadas ao calor, observou-se modificações fisiológicas como aumento da vascularização na área dorsal e abdominal, indicando aumento na taxa de evaporação cutânea (PELTONEN *et al.*, 1998). Esses dados demonstram diferenças entre os mecanismos de perda de calor por parte das aves, como evaporação pela taquipnéia e cutânea, e não por sudorese, como acontece em mamíferos. Mesmo com diferenças entre os mecanismos de produção e/ou dissipação de calor, esses animais controlam a T_c frente a diversas mudanças ambientais que estão expostos.

1.1.1. Estresse e temperatura corporal em mamíferos

Existem fortes evidências que o estresse afeta o sistema termorregulatório e induz alterações na temperatura em mamíferos (inclusive, em humanos; VINKERS et al., 2013). A exposição crônica ao estresse gera uma hipertermia crônica (aumento da temperatura), chamada “febre psicogênica” (TAKAKAZU et al., 2001; NAKAMURA, 2011). As primeiras evidências de alterações na temperatura corporal após situações estressoras foram observadas pelo aumento da T_c , dos últimos animais, após serem retirados de dentro da mesma gaiola/caixa, sequencialmente (EIKELBOOM, 1986; BORSINI et al., 1989). Em seguida, outros trabalhos também demonstraram que a temperatura corporal aumentava após a exposição dos animais em diferentes situações de estresse. A partir disso, esse efeito ficou conhecido como hipertermia induzida pelo estresse (ou do inglês: stress-induced hyperthermia; SIH).

É importante salientar a atuação de drogas ansiolíticas sobre mudanças na T_c , que estreitam a relação entre estresse e temperatura corporal. Alguns trabalhos demonstraram que com a

aplicação de drogas ansiolíticas (BORSINI et al., 1989; VINKERS et al., 2009; LKHAGVASUREN et al., 2011) e antagonistas β -adrenérgicas (LKHAGVASUREN et al., 2011) diminuem a termogênese induzida pelo tecido adiposo marrom (sigla do inglês: BAT; SHIBATA e NAGASAKA, 1984) e reduz a Tc após o estresse (OLIVIER et al., 2003; VINKERS et al., 2009; LKHAGVASUREN et al., 2011) e não sobre a infecção (VINKERS et al., 2009). Doses de ansiolíticos clássicos, como diazepam e outros benzodiazepínicos, provocaram reduções nas respostas de Tc e corticosterona após situações estressoras em modelos clássicos (grupos de animais na mesma caixa casa) ou modernos de SIH (T1-T2; VAN DER HEYDEN et al., 1997; SPOOREN et al., 2002).

As ferramentas utilizadas para gerar os efeitos estressores são diversas e incluem fatores físicos e psicológicos. Alguns exemplos de estresse físico mais utilizados são: perturbação leve (BOUWKNECHT et al., 2001), manuseio com as mãos (EIKELBOOM, 1986; MOE e BAKKEN, 1997; SUNDGREN-ANDERSSON et al., 1998), exposição ao ambiente novo (AKUTSU et al., 2002; SPOOREN et al., 2002; AMICO et al., 2004), jato de ar (STOTZ-POTTER et al., 1996) e ainda, injeção (VINKERS et al., 2009). Outros exemplos de estresse psicológicos são: cheiro do predador (RORICK-KEHN et al., 2005), derrota social (LKHAGVASUREN, et al., 2011), imersão em água (NAKAMORI et al., 1993), estresse de novidade (PATTIJ et al., 2002) e “ansiedade antecipatória” (observado no modelo clássico de “SIH”, onde os animais são retirados, um a um, de uma mesma gaiola; EIKELBOOM, 1986; BORSINI et al., 1989), sendo que, a maioria desses estímulos incluem os dois fatores (físico e psicológico). Esses efeitos foram observados em diversos mamíferos, como roedores (EIKELBOOM, 1986; BORSINI et al., 1989; SUNDGREN-ANDERSSON et al., 1998; AKUTSU et al., 2002; PATTIJ et al., 2002; STOTZ-POTTER et al., 1996), raposa (MOE e BAKKEN, 1997), primatas arborícolas

(*Tupaia glis*; KOHLHAUSE et al., 2011) e, ainda, em humanos (VINKERS et al., 2013). Curiosamente, observaram recentemente alterações térmicas, em humanos, frente ao estresse psicológico/social (VINKERS et al., 2013). Essas respostas incluem diminuição da temperatura central intestinal (cerca de 0,4°C) e nenhuma mudança na temperatura artéria temporal (VINKERS et al., 2013). As durações (tempo do efeito) e intensidades (deltas da Tc) variaram entre aumento de 1°C (EIKELBOOM, 1986; VAN DER HEYDEN et al., 1997; AMICO et al., 2004; VINKERS et al., 2009; ZHANG et al., 2010) até 2°C (LKHAGVASUREN et al., 2011), com durações de 60 minutos (VAN DER HEYDEN et al., 1997; AMICO et al., 2004; VINKERS et al., 2009) até 150 minutos (ZHANG et al., 2010), nos diversos tipos estressores.

Essas respostas parecem ser independentes da temperatura ambiente aos quais os animais estão expostos. Long e colaboradores (1990) observaram que os animais tinham a mesma variação da Tc (aumento), após a transferência dos mesmos a uma gaiola nova (que tinha sido ocupada por outro animal anteriormente) e quando colocados em ambientes frios (abaixo da zona termoneutra) ou termoneutros. Entretanto, a resposta actimétrica foi maior no grupo de animais colocados no ambiente frio. Alguns trabalhos mensuram Actimetria (Act) e Tc simultaneamente com o intuito de observar a influência da Act sob esse efeito térmico do estresse. Estes fatos indicam que os efeitos térmicos observados também podem sofrer influência da atividade motora geral do animal.

Outros trabalhos verificaram que quanto maior a temperatura corporal desses animais maiores os níveis de corticosterona, corroborando com a hipótese de que o estresse altera a temperatura em mamíferos (SPOOREN et al., 2002; AMICO et al., 2004; VEENING et al., 2004). Spooeren e colaboradores (2002) observaram aumento de corticosterona em

até 60 minutos após colocação dos animais em ambiente novo e aplicação de veículo, com pico de até 1,4°C e duração de 30 minutos após o estímulo. Veening e outros (2004) observaram picos de corticosterona e Tc em até 60 minutos após inserção do sensor retal. Amico e colaboradores (2004) observaram pico de corticosterona em 30 minutos (tempo final de medição), com variação de Tc em torno de 1°C, após troca de ambiente. Ou seja, em mamíferos, a resposta ao estresse tende a aumentar a Tc, em torno de 1 a 2°C, com concomitante elevação dos níveis de corticosterona e variações no tempo de duração desse efeito.

O aumento da Tc após situações estressoras parece depender de alterações homeostáticas e mecanismos centrais. Neste caso, ocorrem modificações homeostáticas importantes, como aumento da produção de CRH e glicocorticóides, podendo estar relacionadas com alterações térmicas. Além dessas alterações, foram observadas variações centrais oriundas de situações estressoras que podem, ou não, ter relações com as descritas anteriormente. Injeções i.c.v de antagonista beta-adrenérgico diminuíram a Tc após estresse do campo aberto (SOSZYNSKI et al., 1996) e imersão em água (NAKAMORI et al., 1993), em ratos. Existem evidências de que receptores serotoninérgicos também estão envolvidos com essas alterações térmicas. Pré-tratamento com drogas ansiolíticas (antagonistas 5-HT_{1A}) serotoninérgicas atenuam o aumento da Tc após estresse (GROENINK et al., 1995; ZETHOF et al., 1995). Estudos sugerem que os principais mediadores sobre as respostas térmicas ao estresse são alguns neurotransmissores (como serotonina e noradrenalina) e neuropeptídeo (como CRH).

Em resumo, as alterações na Tc causadas pelo estresse parecem ter origens diferentes das observadas em outras situações de aumento da Tc, indicando algum mecanismo/via específica para esse fenômeno. Esta depende do tipo e do tempo do estímulo estressor. Possivelmente, esses efeitos da Tc

ao estresse são observados devido a mudanças autonômicas importantes, juntamente com alterações neuroendócrinas e comportamentais, que podem ter importantes informações sobre possíveis mecanismos de defesa ou mesmo o entendimento fisiológico frente a essa situação.

1.1.2. Estresse e temperatura corporal em aves

Variações na temperatura corporal também foram observadas em aves após situações estressoras (FURLAN et al., 1998; CABANAC e AIZAWA, 2000; CABANAC e GUILLEMETTE, 2001; EDGAR et al., 2013). Esses achados foram observados em patos (CABANAC e GUILLEMETTE, 2001), galinhas (FURLAN et al., 1998; CABANAC e AIZAWA, 2000; EDGAR et al., 2013) e em pombos (NOMOTO, 1996; NOMOTO, 2003; LAURILLA e HOHTOLA, 2005). Os estímulos estressores utilizados nos experimentos foram manipulação (NOMOTO, 1996; CABANAC e AIZAWA, 2000; CABANAC e GUILLEMETTE, 2001; EDGAR et al., 2013), jato de ar quente (FURLAN et al., 1998), injeção (NOMOTO, 1996; NOMOTO, 2003) e predador (LAURILLA e HOHTOLA, 2005).

Os peptídeos ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) e CRH também parecem estar envolvidos com as regulações de situações estressoras em aves (CASTRO et al., 1986; MEDDLE et al., 2003; KUENZEL et al., 2013) e possíveis relações com aumento de Tc. Níveis de CRH e ACTH estão aumentados após situações estressoras nesses animais (MEDDLE et al., 2003; WOJCZULANIS-JAKUBAS et al., 2013). Trabalhos realizados em cultura de célula da pituitária anterior observaram um aumento de secreção de ACTH, após administração de CRH e AVT (traduzido do inglês: arginina vasotocina), em patos (CASTRO et al., 1986). Essas respostas foram observadas em vários tipos de situações estressoras, como contenção para imobilidade tônica (MELLEU, 2012), manuseio dos animais

(MEDDLE et al., 2003) e ambiente quente (GILOH et al, 2012). Além disso, observou-se aumento de Tc frente a situações estressoras semelhantes (FURLAN et al, 1998; CABANAC e GUILLEMETTE, 2001; EDGAR et al. 2013). Estes resultados indicam uma possível relação entre a ativação do eixo HPA e alterações da Tc. Em aves, o hipotálamo também parece estar envolvido com a termorregulação. Estudos apontam deficiência termorregulatória após lesão do hipotálamo anterior em várias espécies, tais como pardais (MILLS e HEATH, 1972), patos (HAGAN e HEATH, 1980) e pombos (NECKER e GNUSCHKE, 1989; KOMAROVA, 2009). É importante notar que, regiões termorreguladoras são afetadas por várias substâncias neuroativas como prostaglandinas, além de outras como a dopamina, epinefrina, noraepinefrina, serotonina e acetilcolina, que quando injetados em regiões hipotalâmica refletem sobre a temperatura corporal das aves (DAWSON e WHITTOW, 2000). Komarova (2009) observou que, após injeções de agonista muscarínico no hipotálamo de pombos, a temperatura encefálica aumentava, a periférica diminuía e a contração muscular era minimizada. Isso sugere que esses receptores podem estar envolvidos com a termorregulação envolvida por vasoconstrição (diminuição na dissipação de calor) e não com a termogênese induzida por tremores (comum nesses animais). Em resumo, mamíferos e aves parecem possuir mecanismos fisiológicos (neuroendócrino e centrais) similares, podendo ativá-los de forma parecida frente a situações adversas.

Em patos (*Somateria mollissima*), ocorreu um aumento da temperatura cloacal - em torno de 2°C -, após manipulação; mantendo-se em valores constantes entre 8 até 32 minutos (final da mensuração; CABANAC e GUILLEMETTE, 2001). Foi observado, nesses mesmos animais, que a temperatura da superfície foi aumentada, continuamente, até a última medida (32 minutos após); e que a frequência cardíaca estava elevada (nos primeiros 3 minutos) em relações a valores prévios ao estímulo

(CABANAC e GUILLEMETTE, 2001). O aumento da temperatura cloacal após manipulação, também foi observado em galinha (*Gallus domesticus*), sendo mantida constante em até 9 minutos após o estímulo (CABANAC e AIZAWA, 2000; EDGAR et al. 2013) e, ainda, aumento na concentração de corticosterona (GILOH et al, 2012). Nesse mesmo estudo, ocorreu uma queda da temperatura da superfície, indicando uma vasoconstrição periférica, e com isso facilitando o aumento da Tc (CABANAC e AIZAWA, 2000; EDGAR et al. 2013). Foi observado uma inibição do efeito térmico gerado pelo estresse após aplicação de anti-inflamatório (CABANAC e AIZAWA, 2000; NOMOTO, 2003). Em contrapartida, essa mudança não foi observada após o uso de anti-inflamatório no estresse de ar quente (FURLAN et al., 1998).

Nomoto (1996) observou um pequeno aumento (cerca de 0,5°C) da Tc após manuseio e injeção de salina em pombos (*Columba livia*). Interessantemente, esse mesmo autor, observou resposta bifásica, inicial queda e posterior subida, sob a Tc após aplicação (i.v.) de bactéria (NOMOTO, 1996; NOMOTO, 2003). O pré-tratamento com aspirina, diminuiu esses efeitos (NOMOTO, 2003). Laurilla e Hohtola (2005) observaram diminuição do efeito hipotérmico, gerado pelo jejum de 7 dias, após introdução de predador que voa.

Em suma, as alterações térmicas observadas em aves também podem ser um parâmetro fisiológico consistente e confiável de estresse. Estas podem mostrar especificidades (espécie-específica e tipo-específico) entre essas mudanças (hiper ou hipotermia) e dependem do estado/condição que esses animais se encontram.

Apesar das evidências encontradas na literatura sobre as alterações na Tc geradas por situações estressoras (sejam psicológicas/antecipação ou físicas), existem poucos estudos que examinaram essas mudanças em aves. Além de ser uma

espécie de laboratório comum, possuindo uma riqueza de dados neurobiológicos e comportamentais, os pombos são habitantes urbanos numerosos, mas as respostas aos inúmeros e persistentes estresses causados pelo ambiente urbano são pouco conhecidas. O aprofundamento desse conhecimento nessa espécie, ou mesmo em outras, ajuda a identificar e compreender alguns comportamentos e respostas de defesas que esses animais realizam frente a situações adversas. Além disso, é importante o estudo sobre as variações dos sinais fisiológicos que esses animais expressam, frente a essas situações, com o intuito de conhecer os motivos desses sinais se modificarem e possíveis associações com algumas patologias (por exemplo, estresse pós-traumático).

Os estudos que abordam esse tema não analisam as variações térmicas em intervalos menores de tempo, impossibilitando observações mais precisas sobre essas alterações e possíveis relações com outras variáveis, como comportamento, por exemplo. No mais, a observação sobre essas respostas frente a diferentes situações estressoras nos permite uma abordagem posterior de como e porque essas respostas acontecem (vias neurais, mecanismos termorregulatórios, por exemplo).

Por fim, durante as investigações desses sinais térmicos ao longo de situações prandiais e pós prandiais (que ocorreram em estudos pilotos), observaram variações térmicas oriundas apenas da presença do experimentador na sala e mudanças expressivas no início do registro telemétrico, despertando, dessa forma, o interesse em estudar esses aspectos, já mencionados em outros animais, também em pombos. A avaliação de respostas térmicas ao estresse em diferentes espécies pode ser relevante para avaliar objetivamente o estado (espécie-específico) de “bem-estar” desses animais.

2.OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL:

Descrever as variações de temperatura corporal e actimetria associadas a diferentes estímulos estressores em pombos (*Columba livia*).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

2.2.1. Descrever as mudanças da temperatura corporal (Tc) e actimetria (Act), medidas por telemetria a partir da cavidade celomática, induzidas pela manipulação/separação dos congêneres/transferência para gaiola experimental (GExp);

2.2.2. Estudar as modificações nestes sinais térmicos e actimétricos, provocados por diferentes estímulos potencialmente estressores, ministrados durante a ocorrência de outro estímulo (cerca de 2 horas após transferência à GExp) ou após período de adaptação à GExp (26 horas após transferência à GExp);

2.2.3. Examinar a eventual ocorrência de fenômenos de habituação após 9 repetidas exposições à GExp.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS E ACLIMATAÇÃO AO LABORATÓRIO

Foram usados 30 pombos (ambos os sexos, 350-450 g de peso corporal) mantidos em gaiolas individuais (Gaiola-residência, GRes, dimensões de 45cm x 40cm x 48cm; figura 1A) com água filtrada e alimento granulado para aves (ração especial para pombos, da Nutricol Ltda, São Ludgero / SC) ad libitum, em uma sala com temperatura entre 21-25°C (PHILLIPS et al., 1991; LAURILA, 2005), umidade relativa do ar entre 40-60% e um ciclo claro-escuro de 12 horas (luz das 7-19 h). Os animais permaneceram na sala de experimentação do Laboratório de Neurofisiologia Comparada da UFSC, por pelo menos 10 dias antes do início dos procedimentos cirúrgicos para ambientação às condições do laboratório. Durante esse período, os animais foram tratados 3 vezes por semana com troca de jornal, ração e água, pela mesma pessoa que realizava os experimentos e cirurgias. Procedimentos idênticos aos abaixo descritos foram aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o protocolo 23080.0383262/2008-65.

3.2. CIRURGIA

Após o período de adaptação ao laboratório, foi implantado, cirurgicamente, o sensor telemétrico na cavidade celomática. A cirurgia iniciava com a prévia assepsia dos materiais cirúrgicos e dos sensores telemétricos, com cloreto de benzalcônio 0,2% e do campo cirúrgico com Povidine (Iodopolividona; Rioquímica Indústria Farmacêutica). Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/kg, i.m.) e xilazina (10 mg/kg, i.m.). A incisão foi realizada abaixo do osso esterno, no lado esquerdo do animal, com 1,5 cm de comprimento (Figura 1D). O sensor telemétrico (figura 1C) foi implantado no interior dessa cavidade, onde ficou preso por um

fio de sutura de nylon não absorvível (Technofio; 5-0), para imobilizar o sensor nessa região, fixando-o no músculo abdominal. Ao final da cirurgia, a incisão foi fechada (respeitando as diferentes camadas de tecido) com outro fio de nylon (de mesma marca e modelo). Durante toda a cirurgia, o animal foi mantido sobre uma manta térmica (feita de camurça, marca La-Sure; M.S. 80224730001) conectada a um termostato (marca Logica Tec, V12 Plus), que mantinha a temperatura entre 37 e 39°C. A manta foi coberta por um papel filme (esterilizado com cloreto de benzalcônio, 0,2%).

3.2.1. Recuperação após cirurgia

Terminado o procedimento de implantação, os animais receberam terapia antimicrobiana profilática com Baytril® 5% (enrofloxacino, Bayer), injeções (i.m.) de 0,1 ml/kg, durante 5 dias; Furacin® (Nitrofurazolo, pomada; Mantecorp; 1 vez ao dia, durante 5 dias); e analgésico Ketofen 1% (Ketoprofeno; Merial) injeções (i.m.) de 0,2 ml/kg, durante 3 dias consecutivos, com intervalos de 24 horas. Os animais foram mantidos nas mesmas condições anteriores à cirurgia por mais 10 dias. Os animais foram liberados para o início da aclimação à GExp após retornarem ao peso corporal e consumo de comida anteriores à cirurgia.

3.3. ACLIMATAÇÃO À GAIOLA EXPERIMENTAL (GEXP)

Após implantação dos sensores e período de recuperação, iniciou-se o período de exposição dos animais à (GExp, figura 1B). A gaiola experimental (dimensões de 45cm x 30cm x 32cm) é feita de plástico (PEAD - polietileno de alta densidade) e vidro, com as laterais brancas, destinadas a impedir o contato visual entre os pombos. Abaixo da gaiola se encontrava o receptor/acoplador (figura 1B, com dimensões de 56 cm x 29 cm x 7 cm), que fornecia energia ao sensor

telemétrico e transmitia o sinal ao computador, durante o experimento. O alimento foi oferecido através de comedouros e bebedouros, feitos com garrafas plásticas (500 ml) com um orifício de 6,0 x 8,0 cm em seu terço médio, localmente projetada, visando diminuir a quantidade de ração que cai do comedouro. A água foi providenciada em bebedouros de mesmo padrão. Essas exposições foram realizadas em mínimo de 6 (seis) vezes, com intervalos de, no máximo, 2 dias. As mesmas aconteciam da seguinte forma: os animais foram transferidos (no mesmo horário em que os experimentos seriam realizados) para GExp, e por ali permaneciam por, pelo menos, 2 horas, recebendo ração normal e água *ad libitum*. Foi tomado cuidado para que todos os animais fossem expostos a todas as GExp existentes.

3.4. REGISTROS TELEMÉTRICOS

O registro da Tc e Act foram realizados através de um receptor-transmissor telemétrico (e-mitter, figura 1C) modelo PDT 4000 (Mini Mitter Company, Bend, OR, EUA), cujo tamanho é de 15.5 mm x 6.5 mm, com calibragem de fábrica entre 37°-41°C (~800Hz-1000Hz, respectivamente) e precisão de 0,1°C. Esses transmissores são sensores implantáveis, que se alimentam capturando a energia do campo elétrico gerado pelo receptor (ER-4000). O “ER-4000” recebe as informações dos sensores e transmite ao computador onde são interpretadas por um software (VitalView, Mini Mitter Company, Bend, OR, EUA). Os dados de Tc e Act foram amostrados a 1 Hz, representados graficamente pelo próprio software ou exportados para arquivos ASCII, onde foram processados para respectivas análises estatísticas. Foram realizados registros de 3 animais simultaneamente, por meio de 3 receptores ER-4000 conectados em série, com distância de 60 cm entre eles. Os registros telemétricos foram plotados a cada segundo e agrupados em 5 minutos, visando uma melhor visualização dessas variáveis ao longo do tempo. A escala da temperatura variava entre 37-44°C.

3.4.1. Validação dos registros de Temperatura corporal (Tc) e Actimetria (Act)

Como os sensores são calibrados dentro de uma zona de temperatura específicos para roedores (37-41°C) e não para pombos, achou-se a necessidade de validar os valores de temperatura lidos pelo sistema de telemetria dentro de faixas mais altas. Ao longo do piloto realizado com os animais em estudo, observou-se que a temperatura corporal variava entre 38° e 42,5°C, portanto, foi considerado esse intervalo de temperatura para verificação da veracidade do sistema. Primeiramente, os sensores foram imersos em água, dentro de um copo Becker; essa água tinha uma temperatura inicial de 43°C, medidas por 2 termômetros de mercúrio (Incoterm[®]) e um termosensor retal (Yellow Spring Instrument, Ohio, modelo 8402-10). Os mesmos foram posicionados sobre a placa receptora de sinal do sistema Mini Mitter e mantidos ali (com o sistema ligado) até o momento que o sistema alcançava a temperatura da água. Após isso, dava-se início ao registro simultâneo, a cada minuto, do sistema telemétrico e sensores teste. Ao longo do registro era acrescentados água quente ou gelo para observar as variações térmicas geradas pelo sistema.

Como os dados de actimetria foram oriundos do mesmo sistema telemétrico, também foi verificado o que cada comportamento, característico de pombo, representava em valores para o sistema. Portanto, após um registro telemétrico (actimetria) e comportamental (filmagem) durante uma situação controle desses animais, foram agrupados todos os valores actimétricos dentro de cada categoria comportamental (Tabela 1). Ou seja, foram sincronizados os valores actimétricos com os comportamentais e extraídos os valores médios de actimetria para cada comportamento (olhar em 5.1.2.).

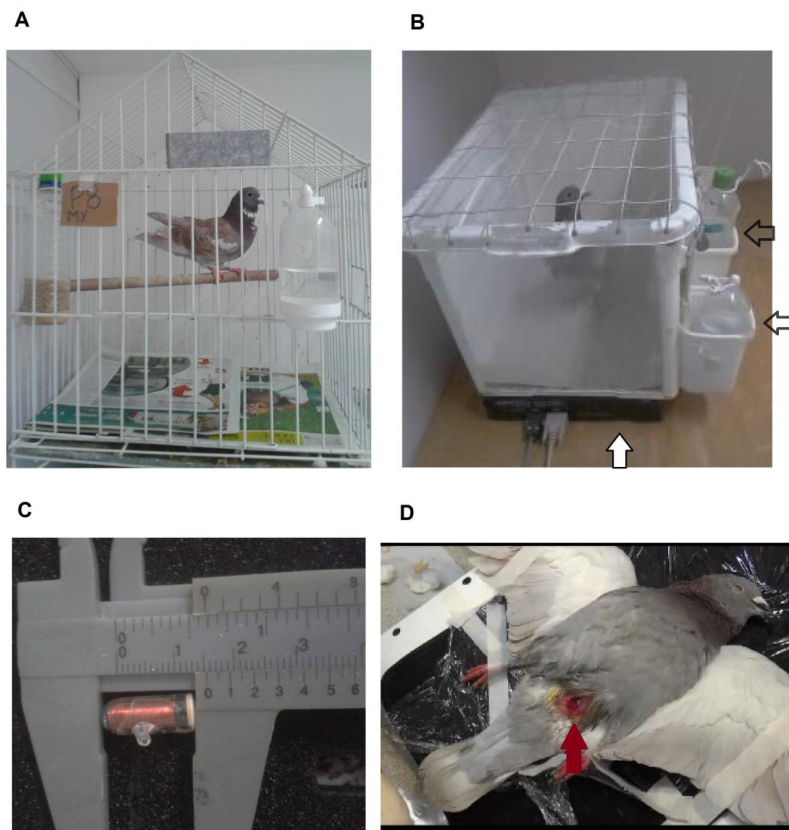


Figura 2. Corresponde às imagens da gaiola residência (A), gaiola experimental (B), do sensor telemétrico (C) e da cirurgia de implantação do sensor (D). Setas pretas (B) indicam o local inserção dos comedouros e bebedouro na GExp. Seta branca (B) indica o receptor-transmissor (PDT 4000) abaixo da GExp. A seta vermelha (D) indica local de inserção do sensor telemétrico.

3.5. REGISTROS COMPORTAMENTAIS

Os vídeos obtidos (câmeras tipo webcan, Microsoft LifeCam VX-2000) durante os experimentos foram, posteriormente, avaliados através de um software produzido em nosso laboratório (Ethowatcher®; CRISPIM et al., 2012; disponível gratuitamente no site www.ethowatcher.ufsc.br). O software permite o exame quadro a quadro do arquivo de vídeo e a inserção dos códigos relativos aos comportamentos, oferecendo um relatório (em arquivo texto) final da sequência comportamental completa, da latência, frequência e duração (totais e segmentadas por unidade de tempo) para cada comportamento característico da SCS (ver catálogo abaixo; SPUDEIT et al., 2013). Para a descrição da SCS, os dados comportamentais foram totalizados em segmentos de 5 minutos ao longo de todo o período de registro, visando aumentar a resolução temporal da descrição dos eventos. Os registros comportamentais foram sincronizados aos registros telemétricos pela utilização de um relógio enquadrado nas filmagens, com horas ajustadas igualmente à do registro telemétrico. O catálogo comportamental a ser utilizado inclui:

Tabela 1: Descrição dos registros comportamentais

Comportamento	Sigla	Descrição
Auto-limpeza	AL	O animal toca as próprias penas com a ajuda do bico e/ou com a pata.
Arrepiar Penas	AP	O animal altera a configuração normal das penas em relação à pele, deixando-as longe do contato com o corpo.
Beber	B	O animal introduz o bico no frasco de água e a suga.
Comer ração comum	CN	O animal segura a ração normal com a ajuda do bico e a deglute.
Exploração parado	EP	O animal explora a gaiola, com movimentos do pescoço/cabeça, sem locomoção.
Exploração em movimento	EM	O animal explora a gaiola, com movimentos do pescoço/cabeça, com locomoção.
Parado alerta	PA	O animal fica com uma ou duas patas fixas ao assoalho e os olhos abertos.
Tremor	T	Momento em que o animal mexe o corpo rapidamente, sem se locomover (membros inferiores ficam imóveis).
Sono	S	Ficar com uma ou duas patas fixas ao assoalho/ poleiro e os olhos podem estar totalmente fechados ou abrindo e fechando lentamente.

3.6. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Nos experimentos, descritos abaixo, todos os animais foram expostos a todas as gaiolas experimentais, mantendo um intervalo de 5 dias entre os experimentos, salvo quando estipulado pelo protocolo experimental. Os animais foram capturados/transferidos em ordem variada (quadrado latino). A temperatura ambiental foi mantida em 21-25°C (considerada como zona termoneutra para esses animais; PHILLIPS et al., 1991; LAURILA, 2005).

3.6.1. Descrição dos registros contínuos de Tc e Act durante 48 horas após transferência à Gexp

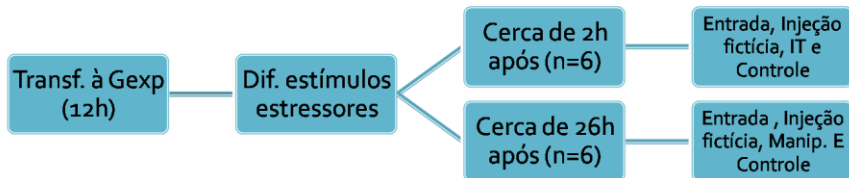
Seis pombos (4 machos e 2 fêmeas) foram transferidos (capturados pela região dorsal e mantidos com a asa fechada) da GRes para GExp (mantida dentro do mesmo ambiente, com distância cerca de 150-200 cm da GRes), após 6 exposições prévias a mesma gaiola (olhar em 3.4). O início do registro telemétrico (Tc e Act) foi às 12hs, estendendo-se por 48 horas; foram disponibilizados água e comida durante todo o procedimento experimental. Os animais não foram autorizados a ver uns aos outros durante as sessões de registro (bloqueio visual pela GExp; olhar em 3.4).



3.6.2. Registros telemétricos após diferentes estímulos, potencialmente estressores, ministrados durante e após a ocorrência de outro estímulo estressor (transferência à GExp)

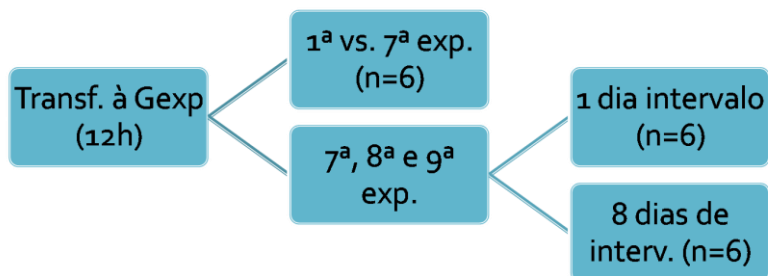
Para observar as respostas térmicas a diferentes estímulos estressantes e compará-los ao observado logo após a transferência para GExp, 12 animais foram expostos a estímulos potencialmente estressores em dois momentos: durante o efeito estressor da transferência (cerca de 2 horas após transferência; n=6; 3 machos e 3 fêmeas) ou após esse efeito (26 horas depois da transferência; n=6; 4 machos e 2 fêmeas). Os 12 pombos, após período de registro da linha de base, foram expostos a 1) entrada do experimentador na sala experimental por até 60 segundos na frente da GExp (realizado 2 e 26 horas após transferência à GExp); 2) retenção manual suave, seguida por envolvimento de jornal no corpo do animal, e posterior inserção (e remoção imediata) de uma agulha de seringa (22G) na cavidade celomática (i.p.; realizado 2 e 26 horas após transferência à GExp) e 3) animal contido na posição em decúbito dorsal por 30 segundos (com bloqueio do contato visual), seguido por imobilidade tônica (IT; realizado 2 horas

após transferência); ou imobilização postural manual por 30 segundos, mantendo o animal em uma postura vertical estática (manipulação; realizado 26 horas após transferência). Os experimentos foram realizados após período de adaptação, com início às 12 horas, intervalo de 7 dias entre eles e livre acesso a água e comida. Cada animal foi tratado seguindo a ordem de tratamento especificada com o esquema amostral em quadrado latino.



3.6.3. Respostas térmicas sobre transferência da GRes para a GExp: efeito do re-teste

Os efeitos do re-teste sobre as respostas térmicas observadas nos experimentos acima descritos foram examinados em um grupo de 12 animais (6 machos e 6 fêmeas). Esses animais tiveram a Tc e Act registrada continuamente, durante



105 minutos, na 7ª, 8ª e 9ª exposições à GExp, com intervalos de 1 dia (n=6) ou 8 dias (n=6). Em 3 animais de cada grupo, os registros também foram feitos na 1ª e 7ª exposições à GExp, com intervalo entre as sessões de 1-2 dias. Os experimentos iniciaram no mesmo horário dos demais (12 horas) e os animais receberam água e ração livremente.

3.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados usando ANOVA de medida repetida (2 way), com o tempo como medida repetida (usando Statistica 8.0, Statsoft, Tulsa, Oklahoma, EUA), seguido por teste post hoc de Duncan, quando apropriado. Os dados, quando não apresentarem distribuição de Gauss significativa (teste de Shapiro-Wilks, teste de normalidade da distribuição da amostra)

ou não conseguiram homocedasticidade (teste de Levene), foram analisados por ANOVAs não paramétricas (ANOVA de Friedman), seguido por teste post hoc de Wilcoxon, quando apropriado. O teste de Spearman (não paramétrico) foi usado para examinar a correlação entre os dados de Tc e Act. As representações gráficas foram plotadas em médias (\pm EMP) de 5 ou 10 minutos (onde realizou-se as análises estatísticas), e, em alguns casos, utilizou-se a estimativa de mínimos quadrados para as curvas de Tc e Act, para melhor visualização do efeito. Alguns animais foram excluídos da análise devido a falhas de registros ou problemas técnicos.

4. RESULTADOS

4.1. VALIDAÇÃO DA TEMPERATURA E ACTIMETRIA PARA POMBOS:

4.1.1. Temperatura

Os testes com os sensores foram feitos seguindo o mesmo protocolo dos experimentos. Ou seja, o equipamento telemétrico foi ligado cerca de 15 minutos antes do início dos registros simultâneos dos sensores. Após os testes, observou-se que os valores registrados nos sensores telemétricos estavam de acordo com os observados no sensor retal (Yellow Spring Instrument, Ohio, modelo 8402-10) e no termômetro de mercúrio. Ou seja, as variações de temperatura que foram registradas no sensor da Mini Mitter estavam compatíveis com as observadas nos sensores teste. É importante notar que, o sistema de telemetria possui uma velocidade menor para alcançar a temperatura estimada em comparação com o termômetro de mercúrio ou o termosensor retal. No entanto, a temperatura final foi a mesma. Por isso, a escolha de plotar e analisar os dados em médias de, no mínimo, 5 minutos.

4.1.2. Actimetria

As médias (\pm EPM) dos valores actimétricos para cada comportamento foram analisadas estatisticamente e representadas na figura 3. Os comportamentos que ofereceram os maiores valores actimétricos (Kruskal-Wallis: $H(7, N: 12382) = 1148,42$, $p < 0,001$) foram os de bater asas, arrepiar penas e exploração em movimento, quando comparado ao comportamento de sono. Esses comportamentos caracterizam-se pela presença de movimentação da região abdominal (onde foi inserido o sensor). Observamos o contrário nos comportamentos de sono, parado alerta, comer e auto limpeza;

característicos por representarem pouca ou nenhuma movimentação do tronco do animal. Portanto, observou-se que o sensor é mais sensível a comportamentos em que o animal movimenta a região em que ele está inserido (tronco), representando que os maiores valores de actimetria registrados pelo sistema se dão pela movimentação do sensor junto ao corpo do animal. No entanto, como esses animais realizam movimentos constantes com a cabeça e pescoço, esses movimentos não foram detectados pelo registro de actimetria gerado pelo sistema telemétrico. Também é importante notar que, o comportamento de maior inatividade, o sono, teve índices médios iguais à zero. Dessa forma, quando os valores actimétricos estiverem próximos ou iguais a esse valor, pode-se considerar que os mesmos estão realizando comportamentos de inatividade.

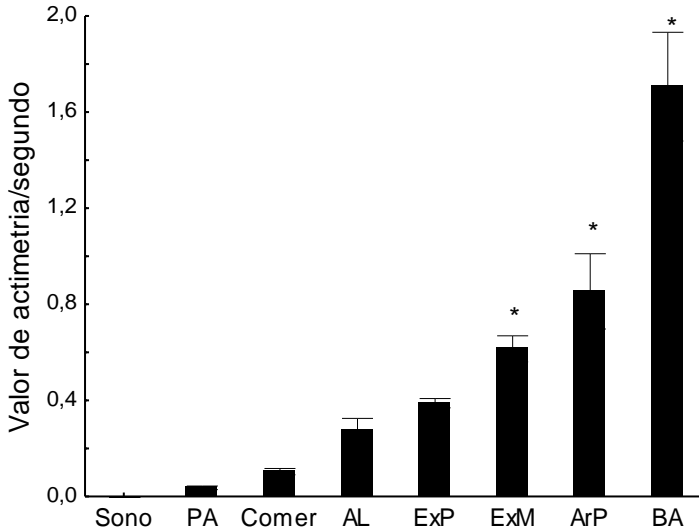
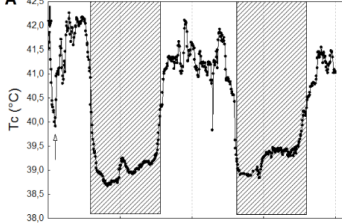


Figura 3: Valores de actimetria (média +/- EPM) por segundo, durante cada um dos comportamentos exibidos por um animal durante os registros. PA: parado alerta; AL: autolimpeza; ExP: exploração parado; ExM: exploração em movimento; ArP: arrear penas; BA: bater asas * $p < 0,05$ comparado ao dados observados durante o sono.

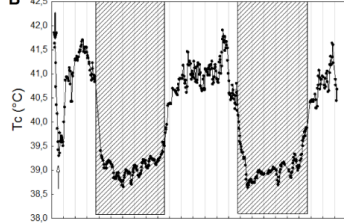
4.2.DESCRICÃO DOS REGISTROS CONTÍNUOS DE TC E ACT DURANTE 48 HORAS APÓS TRANSFERÊNCIA À GEXP

Na figura 4 observou-se as variações da Tc e Actimetria (Act) após transferência dos animais, e pelo menos 6 exposições prévias, à gaiola experimental (GExp), durante 48 horas de registro contínuo (n=6). Os animais P20 e P21 (Figura 3A e B) apresentam médias no primeiro dia de registro de 41,50 ($\pm 0,06$) e 40,86 ($\pm 0,08$)°C, respectivamente; e médias noturnas de 39,22 ($\pm 0,02$) e 39,07 ($\pm 0,01$)°C, respectivamente. Já, as médias de 6 animais (Figura 1E), correspondentes aos mesmos períodos, foram de 41,05 ($\pm 0,03$)°C (primeiro dia) e 39,49 ($\pm 0,01$)°C (primeira noite). Os valores de Tc do primeiro e do segundo dias (12h-16hs) foram de 40,93 ($\pm 0,26$)°C e 40,94 ($\pm 0,19$)°C e não se diferem entre si. No entanto, ambas se diferem das Tc noturnas (média entre 00hs-4hs: 1ª noite: 39.34 \pm 0.22°C; 2ª noite: 39.31 \pm 0.25°C; F(1, 10)=24,432, p=,00058).

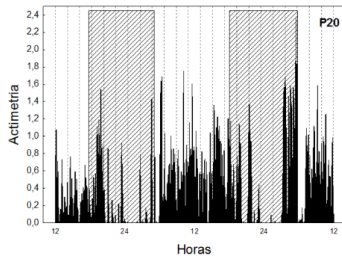
A P20: perfil individual em 48 h após transferência à GExp



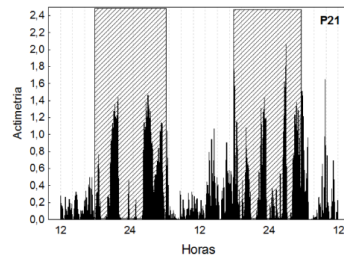
B P21: perfil individual em 48 h após transferência à GExp



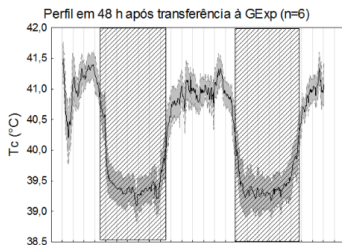
C



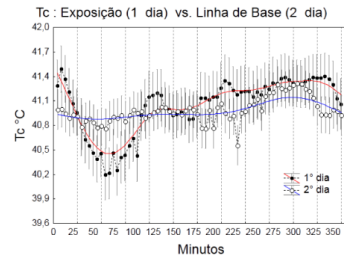
D



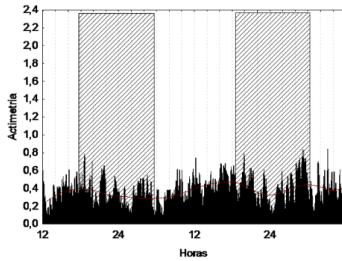
E



F



G



H

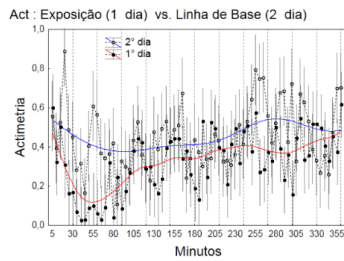


Figura 4. (A) e (B) Perfis individuais das variações na Tc após transferência à GExp durante 48h (P20 e P21, respectivamente). Setas pretas indica o momento da transferência, seta “vazia” indica o nadir da resposta hipotérmica; (C) e (D) Perfis individuais sobre as variações na Act após transferência à GExp durante 48h (P20 e P21, respectivamente). (E) Apresenta valores de Tc (média \pm EPM a cada 5 minutos) de 6 animais ao longo do registro de 48h e (F) comparando às 6 horas (12hs-18hs) iniciais de registro (1° dia) com as horas equivalentes do 2° dia (Linha de Base, LB). (G) Valores referentes à Act (média \pm EPM a cada 5 minutos) dos mesmos 6 animais ao longo de 48h e (H) comparando às 6 horas (12hs-18hs) iniciais de registro (1° dia) com as horas equivalentes do 2° dia (LB).). Linha vermelha indica o primeiro dia de registro (12hs-18hs) e linha azul corresponde à resposta do 2° dia (LB). Área sombreada corresponde ao período noturno do registro. n=6

Em relação aos valores de actimetria (Figura 4C, D, G e H), observou-se que não existem diferenças claras entre valores de actimetria dia/noite. As médias, de 6 animais, do primeiro dia são de $0,35\pm 0,01$ e de $0,35\pm 0,01$, na primeira noite, indicando que esses animais também estão ativos durante o período noturno, nessas condições experimentais.

Quando se observou a Tc do primeiro dia (Figura 4F), percebeu que ocorreu uma queda inicial longa e duradoura, algo que não parece acontecer no segundo dia de registro; o mesmo é observado quando se refere à Act (Figura 4H). Os dados de Tc e Act demonstraram correlação positiva (Spearman's rho= 0.34, $p < 0.05$) durante as 2 primeiras horas de registro após transferência à GExp. Entretanto, o mesmo não foi observado durante as horas equivalentes (12:00-14:00hs) do dia seguinte (“LB”). Em resumo, a transferência dos animais para a GExp

parece diminuir a temperatura corporal inicial em todos os animais, independente da influência da atividade motora geral e variações circadianas.

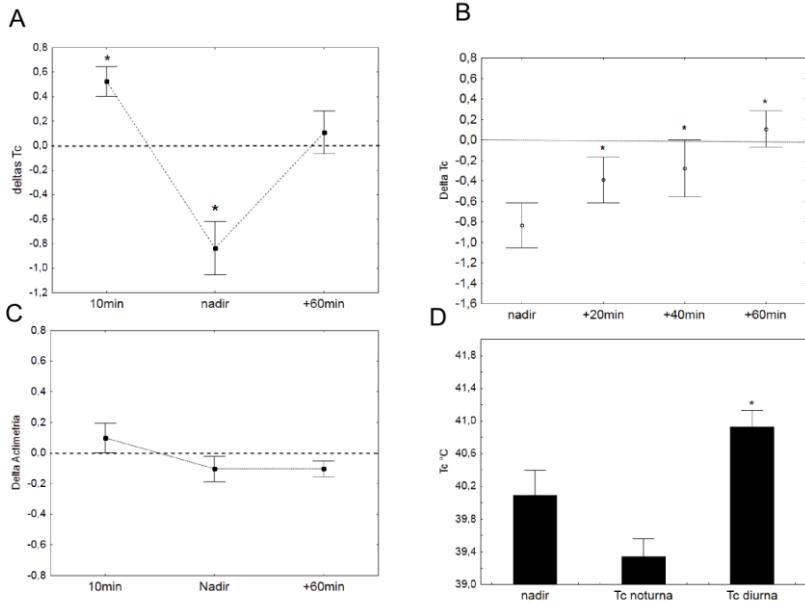


Figura 5. Valores de Tc e Act em deltas (A,B e C) e bruto (D) após transferência à GExp, em um registro contínuo de 48h (n=6, Experimento 1). (*) $p < 0.05$ quando comparado ao ponto +60min (1A) e ao nadir (1B e 1D).n=6

Os dados plotados na figura 5 foram em médias de 10 minutos e extraídos de forma individual, respeitando a variabilidade entre os animais. Valores de Tc diurna correspondem ao valor da “linha de base” (LB), ou seja, média

do período entre 12:00-14:00 do segundo dia do registro (visto que, nesse período as variáveis parecem estar mais estabilizadas). Os valores de Tc noturno foram as médias do período entre 00:00-2:00 h. Para valores de nadir, foram retirados os menores valores de Tc (ou Act, quando necessário) registrado(s) no primeiro dia do experimento. Os dados referentes ao ponto “+60min” correspondem a valores registrados após 60 minutos em que o animal atingiu o nadir.

A figura 5A apresenta os valores de Tc inicial, nadir e 60 minutos após o nadir, em deltas, subtraídos dos valores de LB. O valor médio da Tc nos primeiros 10 minutos foi de $41,44 \pm 0,29^{\circ}\text{C}$; o valor médio do nadir foi de $40,08 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$; e após 60 minutos do nadir, selecionado para cada animal, ocorreu valor médio da Tc em $41,03 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$, sendo esse o valor que mais se aproxima do valor de LB ($41,03 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$ “+60min” e $40,92 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$ “LB”; figura 5A e B). Foi observado um aumento, e uma posterior queda, significantes em relação aos valores de Tc registrados 60 minutos após o nadir (Friedman CS(N:6, gl:2)= 10,33, p=0,005). O tempo médio em que ocorreu o nadir foi de $90 \pm 19,32$ minutos, para os 6 (seis) animais, e o seu retorno, para níveis próximos da LB, parecem estar próximo dos 60 minutos após o nadir (Figura 3B); resultando em um tempo total de 2h30 do efeito térmico observado. Em resumo, as variações da Tc apresentam um aumento inicial curto, e uma posterior queda longa, chegando a oscilações de $1,36^{\circ}\text{C}$, em cerca de 2h30min.

A figura 5C apresenta os valores de Act equivalentes ao mesmo momento selecionado para os valores de Tc. As médias de Act são de $0,51 \pm 0,08$ (10 minutos iniciais); $0,31 \pm 0,08$ (momento do nadir); e $0,35 \pm 0,03$ (60 minutos após nadir). Não houve diferença estatística entre os diferentes momentos do registro (Friedman CS(N:6, gl:2)= 4,33, p= 0,11).

A figura 5D apresenta valores de Tc durante o nadir, da Tc noturna (00:00-2:00) e da Tc diurna (12:00-14:00; LB). Observou-se um aumento da Tc diurna, em relação ao nadir, de $0,89 \pm 0,21^\circ\text{C}$, e uma redução da Tc noturna de $0,69 \pm 0,12^\circ\text{C}$, apresentando uma diferença estatística somente entre a Tc do nadir e da Tc diurna (Anova 1 via $F(2, 15) = 10,02$, $p = 0,001$). Ou seja, os valores de Tc no nadir se assemelham aos valores de Tc noturna e não diurna.

Em resumo, após a transferência dos animais para a GExp, ocorreu um aumento, curto e rápido, e uma posterior queda, longa e duradoura, na Tc média de 6 animais. Esses valores oscilaram em $1,36^\circ\text{C}$, em cerca de 2h30min, mesmo sem modificações na Act. Após esse efeito, a Tc se aproximou de valores semelhantes a Tc noturna.

4.3. REGISTROS TELEMÉTRICOS APÓS DIFERENTES ESTÍMULOS POTENCIALMENTE ESTRESSORES, MINISTRADOS DURANTE E APÓS A OCORRÊNCIA DE OUTRO ESTÍMULO ESTRESSOR

A figura 6 apresenta os valores de Tc (A-H) e Act (G-H) frente a diversos estímulos estressores, cerca de 2 horas ou 26 horas após transferência à GExp. Os estímulos foram oferecidos no momento em que os animais ainda estavam sobre o efeito da transferência à GExp (cerca de 2 horas após) e no dia seguinte (26 horas após), quando os valores já haviam se estabelecido à níveis basais. Os registros plotados na figura 6 (G e H) apresentam médias, de 10 minutos, do pico ou nadir máximos, subtraídos de médias, também em 10 minutos, dos valores antecedentes ao estímulo (LB daquele experimento). Nos dados do controle, foram realizados experimentos em que os animais não receberam estímulos, somente foram transferidos para GExp e mantidos pelo mesmo tempo que nos outros experimentos citados. Os valores (Tc e Act) utilizados como referência ao “estímulo”, no experimento controle, foram as médias de 1 hora

do período equivalente aos efeitos dos estímulos oferecidos nos outros experimentos.

As figuras 6 (A,C,E e G) apresentam os valores de Tc e Act (G) antes, durante e após os estímulos de entrada na sala experimental, injeção fictícia e imobilidade tônica, após cerca de 2 horas da transferência à GExp. Na figura 5A, o valor médio de Tc durante o pico do efeito da entrada na sala experimental foi de $41,71 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$ e retornou a valores próximos à LB ($41,25 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$) após 60 minutos. Na figura 5C, teve um pico de $41,15 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$ e uma posterior queda para $40,51 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$, após injeção fictícia (sem conteúdo) na região intraperitoneal. A Tc retornou a valores próximos aos basais ($40,90 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$) cerca de 50 minutos após o estímulo. Na figura 5E observa-se que ocorreu aumento na Tc, chegando a níveis de $41,38 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$, após contenção para desencadear a imobilidade tônica (IT), quando comparado aos valores basais para esse experimento $40,39 \pm 0,36^{\circ}\text{C}$. A média de tempo, em que os animais se mantiveram na IT, foi de 37 ± 21 minutos, com mínima de 5 minutos e máxima de 95 minutos.

A figura 6G apresenta os valores (Tc e Act) em deltas comparados com o experimento controle, onde não receberam estímulo estressor. A análise estatística aponta diferenças estatísticas entre os tratamentos (Friedman CS (N:4, gl:4)= 11.80, $p=0.018$), na resposta térmica; (Friedman CS(N:4, gl:4) = 9.80, $p=0.043$) e actimétricas. No entanto, quando realizado o teste post hoc (Wilcoxon) para determinar onde existem as diferenças, observaram-se diferenças marginalmente significativas ($p=0.06$) entre o controle vs. nadir do experimento da injeção fictícia; controle vs. entrada na sala experimental; e controle vs. IT. Em resumo, os animais não responderam aos estímulos estressores quando sob influência da hipotermia causada pela transferência à GExp.

As figuras 6 (B, D, F e H) apresentam valores de Tc (A, D, F e H) e Act (H) antes, durante e após os estímulos estressores de entrada na sala experimental, injeção fictícia e manipulação, oferecidos 26 horas depois de transferir os animais para GExp. A figura 6B apresenta valores de Tc que variam de $41,33 \pm 0,29^\circ\text{C}$ para $42,01 \pm 0,35^\circ\text{C}$, após entrada do experimentador na sala experimental, gerando um efeito duradouro (>90 minutos). A figura 2D apresenta valores de Tc que variam entre $40,79 \pm 0,28^\circ\text{C}$ (LB), aumentam até $40,85 \pm 0,35^\circ\text{C}$ (pico) e caem (nadir) até $40,19 \pm 0,24^\circ\text{C}$, chegando a níveis basais após cerca de 90 minutos. A figura 6F volta a apresentar um aumento, variando entre $41,14 \pm 0,30^\circ\text{C}$ até $41,85 \pm 0,15^\circ\text{C}$, com efeito posterior a 90 minutos. Após plotagem dos dados em deltas (subtraídos da LB do respectivo experimento; figura 6H), observou-se diferenças estatísticas entre os tratamentos (Friedman CS(N:5, gl:4) = 16.80 p= 0.002). Teste post hoc indicou aumento, significativo, da Tc após entrada na sala experimental (p=0,04) e manipulação do animal (p=0,04), e queda na Tc após injeção fictícia (p=0,02), quando comparados ao controle. As respostas actimétricas (figura 5H) para esses experimentos não sofreram alterações estatísticas em nenhum tratamento (Friedman CS(N:5, gl:4) = 6,400, p = 0,17).

Em resumo, a Tc apresenta modificações somente após estímulos oferecidos 26 horas após a transferência do animal à GExp, quando o animal já retornou a Tc à valores próximos da LB. Indicando que o efeito hipotérmico prejudica a visualização de outros efeitos. No entanto, as respostas térmicas foram diferentes entre os tratamentos; o estímulo de injeção fictícia ofereceu uma queda na Tc, e os estímulos de manipulação e entrada ofereceram aumento. Como a Act não recebeu alteração em nenhum tratamento, não parece ser determinante nas variações da Tc oriundas de estresse.

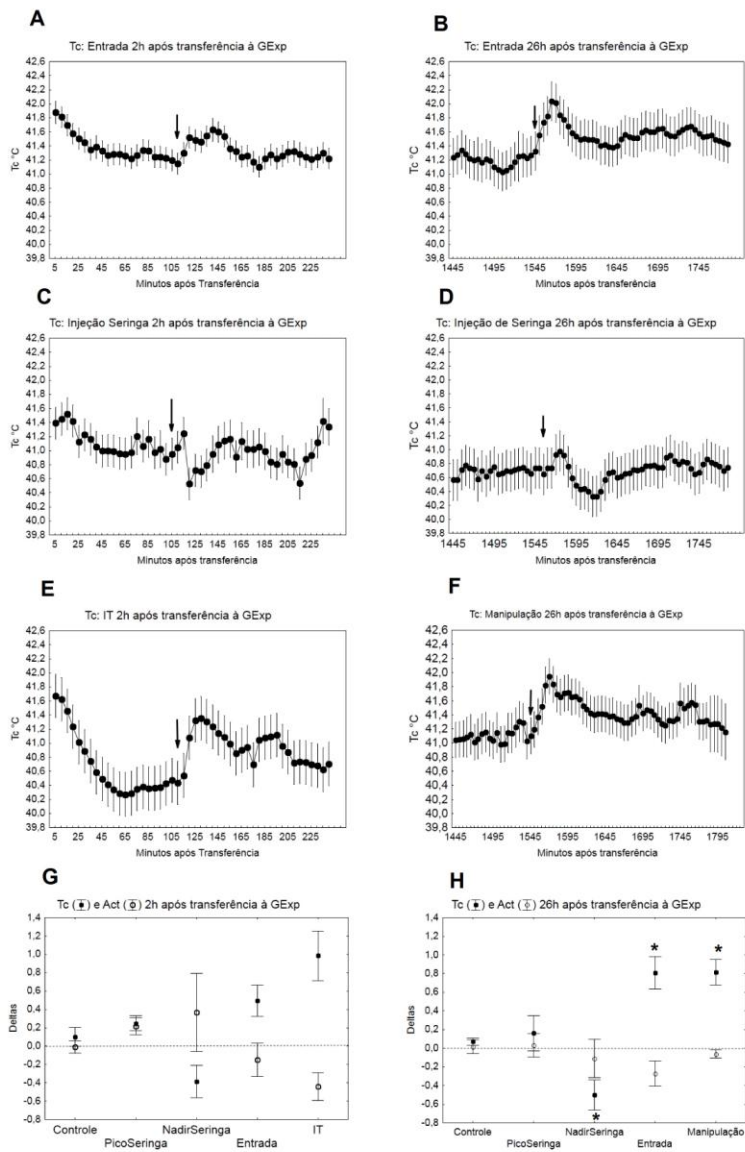


Figura 6. Respostas Telemétricas a diferentes estímulos estressores, 2 horas (n=4; A, C, D e G) ou 26 horas (n=5; B, D, F e H) após entrada na GExp. A seta indica o momento do estímulo (A-F). Os dados são expressos em médias (\pm EPM) a cada 5 minutos. (G e H) Variações da Tc e Act (deltas) sobre a Linha de Base. IT: imobilidade tônica. (*) $p < 0,05$ quando comparado aos dados do controle.

4.4. RESPOSTAS TÉRMICAS DA TRANSFERÊNCIA DA GRES PARA A GEXP: EFEITOS DO RE-TESTE

A figura 7 apresenta valores de Tc (A, C e E) ou Act (B, D e F) em médias de 10 minutos (\pm EPM), nos 10, 60 e 90 minutos após transferência dos animais nos seguintes experimentos: 1ª e 7ª exposição à GExp; na 7ª, 8ª e 9ª exposição com intervalo de 1 dia entre elas; ou intervalo de 8 dias. O tempo de 90 minutos foi escolhido por representar a média dos 6 animais para o nadir da tc, observada nos experimentos 1 e 2.

Nas figuras 7A, B, C, D, E e F não foram observadas diferenças estatísticas em relação aos diferentes tratamentos: 1ª vs. 7ª exposição $F(2, 33)=0,68$, $p=0,51$; 7ª, 8ª e 9ª exposição com intervalo de 1 dia: $F(4, 24)=0,57$, $p=0,68$; e intervalo de 8 dias: $F(4, 30)=6,1061$, $p=,65819$. No entanto, continuam com diferenças térmicas e actimétricas ao longo do tempo 60 e 90 minutos comparados aos 10 minutos iniciais: 1ª vs. 7ª exposição: Tc $F(2, 15)=8,76$, $p=0,003$ e Act $F(2, 15)=4,67$, $p=0,02$; intervalo de 1 dia: Tc $F(2, 12)=19,032$, $p=0,0001$ e Act $F(2, 12)=11,71$, $p=0,001$; e intervalo de 8 dias, na 7ª, 8ª e 9ª exposições: Tc $F(2, 15)=3,69$, $p=0,04$ e Act $F(2, 15)=3,69$, $p=0,04$.

Em resumo, em todos os experimentos, os valores de Tc e Act não sofreram alterações em relação ao re-teste, independentemente do intervalo entre as exposições. Em relação ao tempo, todas as variáveis tiveram menores valores nos

tempos de 60 e 90 minutos quando comparada com os 10 minutos iniciais.

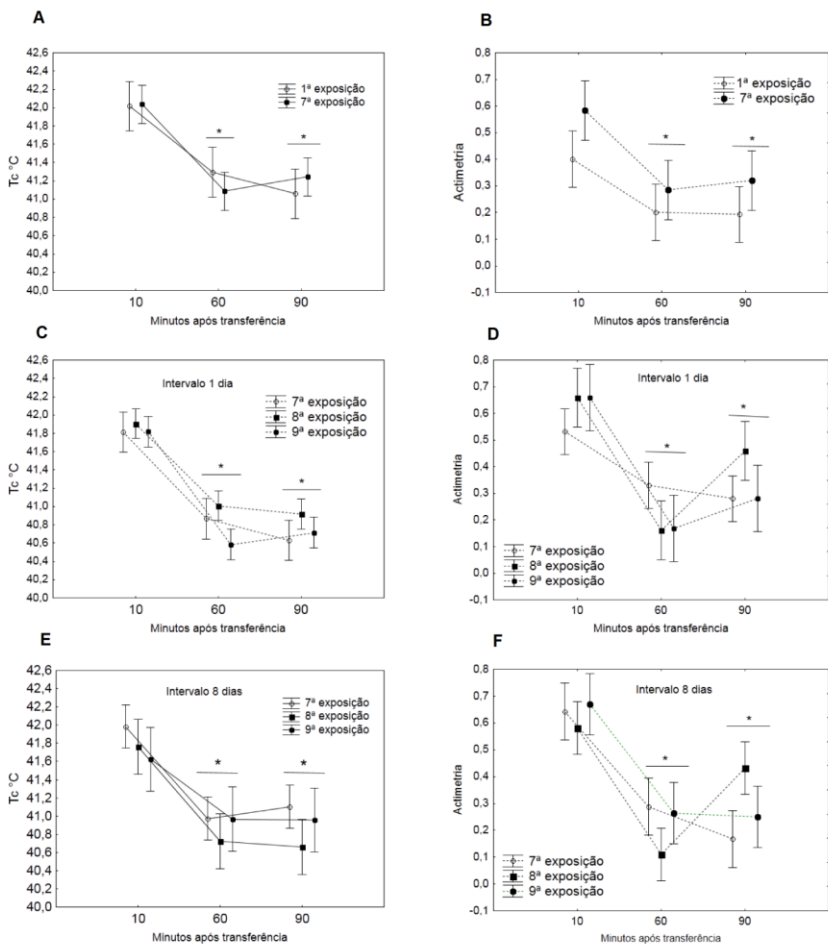


Figura 7. Efeitos do re-teste sobre a Tc e Act, em 10, 60 e 90 minutos após introdução dos animais na gaiola experimental (GExp), na 1ª e 7ª exposição (n=6; 6A e B); na 7ª, 8ª e 9ª exposição, com 1 dia de intervalo entre elas (n=5; 6C e D); ou com 8 dias de intervalo entre elas (n=6; 6E e F). Os dados foram expressos em médias de 10 minutos \pm EPM. (*) $p < 0,05$ comparado às médias de Tc ou Act nos primeiros 10 minutos.

A possível ocorrência de habituação sobre outras características do registro de Tc, nos mesmos experimentos acima citados, foi também examinada. A tabela 2 apresenta os valores do nadir ($^{\circ}\text{C}$) e o tempo para alcançar o nadir (em minutos) para cada experimento.

De acordo com a tabela 2, não foram observadas diferenças entre a 1ª e 7ª exposição da Tc no nadir ($40,95 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$ e $40,95 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$, respectivamente; Teste T Student; gl:5, $p=0,99$) e tempo até o nadir ($90,83 \pm 4,54$ minutos e $81,66 \pm 6,66$ minutos, respectivamente; Teste T Student para amostras dependentes; gl:5, $p=0,14$); para 7ª, 8ª e 9ª exposição com intervalo de 1 dia, para a Tc no nadir (Anova 1 via $F(2, 12)=0,20$, $p=0,81$) e tempo até o nadir ($F(2, 12)=1,24$, $p=0,32$); e com intervalo de 8 dias para a Tc no nadir (Anova 1 via $F(2, 15)=0,11$, $p=0,88$) e, também, para o tempo até o nadir ($F(2, 15)=1,53$, $p=0,24$). Ou seja, também não foi observada a ocorrência de habituação nessas variáveis estudadas (nadir e tempo para nadir) até a 9ª exposição à GExp.

Tabela 2: Efeito do re-teste sobre o nadir da Tc e o tempo até o nadir

Experimento	Nadir (C°)	Tempo Nadir (minutos)
Reteste 1 ^a Vs 7 ^a		
1 ^a	40,95 ± 0,31	90,83 ± 4,54
7 ^a	40,95 ± 0,23	81,66 ± 6,66
Reteste 1 dia intervalo		
7 ^a	40,87 ± 0,20	75,83 ± 5,06
8 ^a	40,78 ± 0,25	55,83 ± 8,88
9 ^a	40,68 ± 0,33	66,66 ± 9,54
Reteste 8 dias intervalo		
7 ^a	40,51 ± 0,27	72,00 ± 9,43
8 ^a	40,60 ± 0,11	89,00 ± 7,81
9 ^a	40,42 ± 0,17	73,00 ± 8,30

5.DISSCUSSÃO

Os valores médios de Tc diurnos ($40,93\pm 0,26^{\circ}\text{C}$) e noturnos ($39,34\pm 0,22^{\circ}\text{C}$) apresentados por animais adaptados por 26 h à gaiola experimental se assemelham aos valores encontrados na literatura (LAURILA et al., 2003; RASHOTTE et al., 1995; RASHOTTE et al., 1998; LAURILA e HOHTOLA, 2005) e, quando considerados individualmente, também apresentam variações consideradas em alguns estudos (RASHOTE et al., 1995), indicando compatibilidade dos nossos registros com os observados por outros laboratórios. Os dados apresentados sugerem que, após transferência dos animais para um ambiente diferente da GRes (com a consequente falta do contato visual, mas não auditório ou olfativo), existe uma resposta térmica bifásica (inicial aumento e posterior queda). Cerca de 150min depois voltam a valores basais consistentes com outros trabalhos que realizaram registros telemétricos semelhantes (PHILLIPS e BERGER, 1989; PHILLIPS et al., 1991; RASHOTTE et al., 1995; HOHTOLA et al., 1998; DAWSON e WHITTOW, 2000; LAURILA e HOHTOLA, 2005).

As mudanças na Tc observadas não parecem estar relacionadas a mudança na temperatura ambiente ou umidade, que eram praticamente as mesmas da GRes. A temperatura ambiente foi mantida dentro da zona termoneutra para pombo ($21-25^{\circ}\text{C}$; por exemplo, PHILLIPS et al., 1991; LAURILA, 2005), indicando que uma elevação ou redução na Tc pode ser ativamente induzida por alterações na condutividade térmica que regulam a perda de calor (por exemplo, alterando a capacidade de perda de calor pelo reposicionamento da pena, ou controle vasomotor do fluxo sanguíneo) e/ou por modificações na atividade muscular, ajustes posturais que afetam a perda de calor pela superfície ou pela respiração e, ainda, pelo aumento da contratilidade muscular. Não é possível identificar, a partir dos dados atuais, os mecanismos específicos usados nas mudanças

da Tc induzidas por estresse no pombo, mas as contribuições relativas desses mecanismos induzidas por diferentes estímulos estressores merecem maiores investigações. Em relação ao sexo dos animais, não parece ser uma variável determinante na resposta térmica induzida pelo estresse. Pois, quando os animais foram observados individualmente, tanto os machos e fêmeas, tiveram as mesmas características observadas com o grupo de 6 animais, nos experimentos citados. Além disso, a distribuição dos sexos entre os grupos foi homogênea.

A correlação positiva entre os valores de Tc e Actimetria (Act), nas 2 primeiras horas do teste, sugere que a Act pode contribuir para a redução da Tc induzida pela transferência. No entanto, as mudanças de Act não foram associadas com os efeitos hipotérmicos sobre a injeção fictícia, e hipertérmicos observados na imobilidade tônica e entrada o experimentador, indicando que pode ser facultativa para a resposta térmica. Além disso, é possível que os registros de Act possam subestimar a atividade motora geral dos pombos. Após transferência a um novo ambiente, pombos apresentam intensa atividade exploratória com a região cabeça/pescoço (olhar em: DE SOUZA et al., 2009), que ocorrem com ausência de movimentos do corpo visíveis; e esse comportamento não registrou mudanças nos registros telemétricos. Também é interessante notar que, a hipertermia induzida pela manipulação em patos não registrou alterações notáveis na atividade motora (CABANAC e GUILLEMETTE, 2001). Dessa forma, é evidente que a redução da atividade motora (ou Actimetria) pode contribuir no componente hipotérmico da transferência à GExp, mas apenas um controle mais preciso, como a eletromiografia, pode esclarecer a relevância dessa contribuição.

A resposta hipotérmica não pode ser associada com “novidade” atribuída à GExp, visto que, repetidas exposições na mesma gaiola geraram efeitos semelhantes quanto a hipotermia.

E, aparentemente, o componente hipotérmico desse efeito pode estar associado com a falta do contato visual entre os animais. O efeito hipertérmico inicial pode estar associado com o manuseio do animal, enquanto o isolamento visual pode estar relacionado com a hipotermia após transferência à GExp. Interessante notar que, a resposta hipotérmica também foi observada após aplicação de seringa ip., mesmo que rápida e superficial, sugerindo que a dor pode também causar esse tipo de mudança na Tc. Interessantemente, também foi observado queda na Tc intestinal em humanos após estresse social de falar em público (VINKERS et al., 2013), corroborando com a hipótese do estresse social sobre o efeito hipotérmico. Foi observado que a intensidade dos efeitos comportamentais e neuroquímico, sobre a derrota social crônica, depende da presença de outros membros da mesma espécie (RUIS et al., 1999; ISOVICH et al., 2001). Além disso, isolamento social, pela transferência de pintos para uma gaiola nova, evoca aflição nesses animais (FELTENSTEIN et al., 2002). Estes dados podem indicar uma associação entre estresse social e efeito hipotérmico.

A hipertermia inicial, em resposta à transferência à GExp, atingiu seu pico e depois diminuiu em torno de 30 minutos, representou um aumento em cerca de 0,5°C, quando comparado com a temperatura corporal do dia seguinte. A mesma hipertermia inicial também foi observada imediatamente após outros estímulos, como a manipulação e entrada do experimentador na sala experimental; e esses aumentos só foram significativos após 26 horas de permanência na GExp. O aumento marginalmente significativo observado após entrada do experimentador e imobilidade tônica, cerca de 2 horas após a transferência dos animais, indica que a situação hipotérmica considerada no momento do estímulo pode ter influenciado nesses efeitos. Já a resposta induzida pela aplicação de seringa forneceu uma discreta diminuição (magnitude e duração) na Tc. Essas diferenças indicam que alterações da Tc induzidas pelo

estresse parecem depender da Tc basal, bem como o tipo do estímulo estressor.

Este é o primeiro relato sobre a diminuição da Tc induzida pelo isolamento social em aves, e também não encontramos estudos sistemáticos específicos sobre resposta térmica em aves frente a uma nova gaiola. No entanto, a hipertermia observada aqui também foi observada em pombos após manuseio pelo experimentador, dentro da sua gaiola residência (NOMOTO, 1996; NOMOTO, 2003). Durante o período da tarde, a manipulação dentro da gaiola residência apresentou uma hipertermia (medida intra-abdominal) que foi mais intensa (de 41°C para 42,5°C) do que as apresentadas no presente trabalho. Em patos, após repetido manuseio (durante 32 minutos) ocorre aumento na Tc (cloacal) de $41,5 \pm 0,6^\circ \text{C}$ a $43,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$ (CABANAC e GUILLEMETTE, 2001). Indicando respostas mais intensas, de Tc, do que as observadas nos experimentos descritos aqui. Em galinhas, repetido manuseio (durante 18 minutos) evocou um aumento da Tc cloacal cerca de $0,5^\circ \text{C}$ (CABANAC e AIZAWA, 2000); em patos, a indução da contenção animal gerou um aumento de $0,5^\circ \text{C}$, que persistiu durante todo o momento da contenção (GRAY et al., 2008).

Embora a manipulação produza aumentos na Tc semelhantes em várias aves, injeções de salina, inibidor de ciclooxigenase ou LPS (ip.) induziram um aumento na Tc cerca de 1°C , em patos (GRAY et al., 2005; GRAY et al., 2008), contrapondo com a resposta hipotérmica observada nas injeções de seringa em pombos aqui citadas. Imobilidade tônica (IT) é considerada uma resposta de medo ao perigo inevitável (por exemplo: GALLUP e RAGER, 1996). Durante episódios de longa duração de IT, as galinhas têm mostrado uma diminuição na Tc e posterior aumento (EDDY e GALLUP, 1990). Embora esses dados contrastem com a resposta hipertérmica observada em pombos, deve-se considerar que a duração de IT nesses animais

foi curta para permitir tal observação. Também é de interesse que o contato social (e visual) com membros da mesma espécie parece influenciar o aumento da Tc em galinhas: esses animais quando estão isolados socialmente aumentam a Tc durante a resposta a IT, quando comparado com animais em contato social (EDDY e GALLUP, 1990). Estas evidências sugerem que, além de ser estímulo-específico, as respostas térmicas podem também ser espécie-específica para determinados estímulos homotípicos.

Foi observado, em pássaros (*Parus major*), diminuição na Tc cloacal após estresse de manipulação (captura do animal e, posterior, isolamento em saco de algodão) cerca de 0,8°C, após 5 minutos da captura (CARERE e VAN OERS, 2004). Apesar de parecer comparável aos observados nesse trabalho, deve-se ter o cuidado na interpretação dos mesmos, visto que, a diminuição da Tc pode ser devida a uma recuperação rápida a partir de uma hipertermia prévia (originária por qualquer outro estímulo) ou os primeiros momentos de uma hipotermia em desenvolvimento (não mensurou os dados posteriores a 5 minutos). Além disso, o trabalho em questão utilizou um método de medida de temperatura corporal preciso e detalhado, com uma janela de tempo mais ampla, possibilitando uma observação mais detalhada ao longo do tempo.

A queda na Tc (torpor) em aves também foi observada durante situações de jejum (por exemplo, PHILLIPS e BERGER, 1989; PHILLIPS et al., 1991; RASHOTTE et al., 1995) e período noturno (por exemplo, RASHOTTE et al, 1998) e este fenômeno é considerado um mecanismo potente de conservação de energia em aves. Foi observado que a introdução de um estímulo de um predador (relatado evocar uma reação comportamental forte em pombos) aumentou a Tc noturna (ou seja, diminuiu sua queda; LAURILA e HOHTOLA, 2005). Entretanto, a Tc diurna dos pombos e alterações na Tc

subseqüentes a entrada do predador não foram reportadas. Ou seja, é possível que uma resposta térmica, posterior ao estímulo, tenha sido camuflada, visto que, foram extraídos valores de T_c em médias de 4 horas do período diurno. Quando comparamos nossos dados com janelas de tempo idênticas aos analisados, também não revelaram diferenças significativas entre as médias do primeiro e 2º dia (24 horas após o estímulo da entrada na GExp) de registro. Esses dados reforçam a idéia de que as respostas térmicas desses animais, frente a estímulos estressantes, podem depender do tipo estressor e situações prévias em que os animais estão mantidos (como o jejum, por exemplo), podendo modular mecanismos altamente adaptáveis ao controle de energia nessa espécie.

Surpreendentemente, o efeito hipotérmico da transferência à GExp em pombos não demonstrou habituação, depois de 9 repetições a esse mesmo procedimento. Ativação de sistemas fisiológicos e comportamentos de defesa, a estímulos estressantes, são considerados importantes para lidar com eventos ameaçadores. Além disso, a habituação à repetidas exposições ao mesmo estímulo estressor (homotípico) é adaptável e pode conservar energia (THOMPSON e SPENCER, 1966; NESSE et al., 2007; RANKIN et al., 2009). Habituação da resposta HPA a vários estressores é comumente observada em mamíferos após repetidas exposições a um ambiente novo, manuseio, contenção e imobilização (GRISSOM e BHATNAGAR, 2009); e ausência de habituação a repetidos estressores foi associada a doenças, por exemplo, transtorno pós-traumático de estresse, em humanos (DI GIACINTO et al., 2014). No entanto, a falta de habituação do eixo HPA, a repetidas exposições à gaiola nova (HENNESSY e LEVINE, 1977) ou a contenção (PITMAN et al., 1988) foi relatado em roedores; galinhas também não conseguiram habituar a resposta do eixo HPA após manipulação e imobilização (BEUVINGAND e AVONDER, 1978).

A incapacidade de se habituar a estímulos homotípicos repetidos pode estar relacionada com a intensidade da percepção do estímulo, de modo que, quanto maior, menor é a taxa de habituação (RANKIN et al., 2009;. THOMPSON e SPENCER, 1966). Nesse sentido, a persistência sobre a resposta hipotérmica aqui relatada, pode ser outra indicação que o isolamento visual/social entre os membros da mesma espécie pode gerar um forte estímulo estressor por esses animais. Também é importante considerar que a falta de habituação pode ser evocada pela diminuição da previsibilidade e controlabilidade do estímulo, percebido pelo animal (KOOLHAAS et al., 2011, GRISSOM e BHATNAGAR, 2009). Os procedimentos experimentais aqui utilizados foram razoavelmente previsíveis (mesmo horário, mesmo experimentador, mesma característica da gaiola). No entanto, o animal não conseguia prever se a entrada do experimentador era para oferecer algum estímulo estressor ou somente para alimentá-los, indicando uma falta de previsibilidade por parte dos animais. Visto que, o mesmo experimentador também realizava a manutenção semanal dos animais. Além disso, a incontrollabilidade (possivelmente pela separação dos membros da mesma espécie) pode ter sido outro fator importante para a falta de habituação.

Em uma variedade de mamíferos, a hipertermia induzida por estresse foi observada após uma série de estímulos psicológicos e físicos, incluindo: manuseio suave, aplicação sistêmica de seringa, imobilização, exposição ao ambiente novo e derrota social (para revisão, ver BOUWKNECHT et al., 2007). Embora a febre induzida por infecção tenha sido observada em todas as espécie de vertebrados, as mudanças de T_c induzidas pelo estresse foram relatadas apenas em amniotas (répteis, aves e mamíferos; por exemplo, CABANAC, 1999;. BOUWKNECHT et al., 2007), e são mediadas por mecanismos neurais distintos daqueles envolvidos na febre (OLIVIER et al., 2003;. VINKERS et al., 2009). Para nosso conhecimento, a única espécie em que

foi observado diminuição na Tc visceral, e esta foi associada ao estresse social, foi a *Homo sapiens* (VINKERS et al., 2013). Assim, os presentes dados indicam que as alterações na Tc induzidas pelo estresse podem ser um parâmetro fisiológico consistente e confiável de estresse, mas também podem mostrar atributos do tipo, direção e espécie específicos para cada estímulo estressor; juntamente para abordar uma adequada avaliação sobre o bem estar do animal.

O presente trabalho possibilitou o levantamento de várias outras perguntas a serem respondidas em futuros trabalhos. A partir dos dados observados aqui, podemos nos perguntar como essa hipotermia aconteceu? Ou seja, quais os mecanismos termorregulatórios envolvidos com essa resposta? Houve um aumento na dissipação ou diminuição da produção de calor? Além disso, porque essa hipotermia acontece? Quais as vias neurais envolvidas com a queda da temperatura corporal frente a essa situação? Essas são apenas algumas perguntas a serem levantadas a partir dos resultados apresentados. Deixo o restante a critério do leitor.

6.REFERÊNCIAS

ABRAMS, R.; HAMMEL H.T. Hypothalamic temperature in unanesthetized albino rats during feeding and sleeping. **American Journal of Physiology** 206, 641-6, 1964.

AKUTSU, H.; KIKUSUI, T.; TAKEUCHI, Y.; SANO, K.; HATANAKA, A.; MORI, Y. Alleviating effects of plant-derived fragrances on stress-induced hyperthermia in rats. **Physiology & Behavior**. 75(3), 355-60, 2002.

AMICO, J.A.; MANTELLA, R.C.; VOLLMER, R.R.; Li. X. Anxiety and estress responses in female oxytocin deficient mice. **Journal of Neuroendocrinology**. 16, 319-324, 2004.

BEUVINGAND, G., AVONDER G.M. Effect of Stressing Factors on Corticosterone Levels in the plasma of Laying Hens. **General and Comparative Endocrinology**. 35,153-159, 1978.

BICEGO, K.C.; BARROS, R.C.H.; BRANCO, L.G.S. Physiology of temperature regulation: Comparative aspects. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. 147, 616–639, 2007.

BLOCK, B.A. Thermogenesis in Muscle. **Annual Review of Physiology**. 56, 535-77, 1994.

BORBELY, A.A. Sleep in the rat during food deprivation and subsequent restitution of food. **Brain Research**. 124, 457–471, 1977.

BORSINI, F.; LECCI, A.; VOLTERRA, G.; MELI, A. A model to measure anticipatory anxiety in mice? **Psychopharmacology (Berl)**. 98(2), 207-11, 1989.

BOUWKNECHT, J.A.; VAN DER GUGTEN, J.; HIJZEN, T.H.; MAES, R.A.; HEN, R.; OLIVIER, B. Corticosterone responses in 5-HT1B receptor knockout mice to stress or 5-HT1A receptor activation are normal. **Psychopharmacology (Berl)**. 153(4), 484-90, 2001.

BOUWKNECHT, J.A.; OLIVIER, B.; PAYLOR, R.E. The stress-induced hyperthermia paradigm as a physiological animal model for anxiety: a review of pharmacological and genetic studies in the mouse. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. 31, 41–59, 2007.

CABANAC M. Emotion and phylogeny. **Japanese Journal of Physiology**. 49, 1–10, 1999.

CABANAC, M.; AIZAWA, S. Fever and tachycardia in a bird (*Gallus domesticus*) after simple handling. **Physiology & Behavior**. 69, 541–545, 2000.

CABANAC, A.J.; GUILLEMETTE, M. Temperature and heart rate as stress indicators of handled common eider. **Physiology & Behavior**. 74,475–479, 2001.

CAMPBELL, B. A.; LYNCH, G. S. Activity and thermoregulation during food deprivation in the rat. **Physiology & Behavior**. 2, 311-313, 1967.

CAMPBELL, B. A.; LYNCH, G. S. Influence of hunger and thirst on the relationship between spontaneous activity and body temperature. **Journal of Comparative Physiology Psychology**. 65, 492-498, 1968.

CARERE, C.; VAN OERS, K. Shy and bold great tits (*Parus major*): body temperature and breath rate in response to handling stress. **Physiology & Behavior**. 82, 905–912, 2004.

CASTRO, M.G.; ESTIVARIZ, F.E.; ITURRIZA, F.C. The regulation of the corticmelanotropic cell activity in Aves-II. Effect of various peptides on the release of ACTH from dispersed, perfused duck pituitary cells. **Comparative Biochemistry and Physiology A: Comparative Physiology**. 83, 71–75, 1986.

CLAPHAM, J.C. Central control of thermogenesis. **Neuropharmacology**. 63, 111-123, 2012.

CRISPIM JUNIOR, C.F.; PEDERIVA, C.N.; BOSE, R.C.; GARCIA, V.A.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINO-NETO, J. ETHOWATCHER: validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals. **Computers in Biology and medicine**. 42(2), 257-64, 2012.

DAWSON, W.R.; CAREY, C. Seasonal acclimatization to temperature in cardueline finches: I. Insulative and metabolic adjustments. **Journal Comparative Physiology**. 112, 317–333, 1976.

DAWSON, W.R.; O'CONNOR, T.P. Energetic features of avian thermoregulatory responses. In “**Avian Energetics and Nutritional Ecology**” (C. Carey, ed.), 85–124, 1996.

DAWSON, W. R.; WHITTOW, G. C. **Regulation of body temperature**, p. 343–390. In P. D. Sturkie [ED.], *Avian physiology*. Academic Press, New York, 2000.

De SOUZA, A.C.; AVERBECK, E.; PASCHOALINI, M.A.; FARIA, M.S.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINO-NETO, J. The peeping response of pigeons (*Columba livia*) to isolation from conspecifics and exposure to a novel environment. **Behavioral Processes**. 81(1), 26-33, 2009.

Di GIACINTO, A.; BRUNETTI, M.; SEPEDE, G.; FERRETTI, A.; MERLA, A. Thermal signature of fear conditioning in mild post traumatic stress disorder. **Neuroscience**. 266, 216–223, 2014.

EDDY, T.J.; GALLUP Jr., G.G. Thermal correlates of tonic immobility and social isolation in chickens. **Physiology & Behavior**. 47(4), 641-646, 1990.

EDGAR, J.L., NICOL C.J., PUGH C.A, PAUL E.S. Surface temperature changes in response to handling in domestic chickens. **Physiology & Behavior**. 119(2), 195-200, 2013.

EIKELBOOM, R. Learned anticipatory rise in body temperature due to handling. **Physiology & Behavior**. 37(4), 649-53, 1986.

EMBER, A.A.; GÖBEL, G.Y.; PETERVARI, E.; SZÉKELY, M. Fasting hypometabolism and post alimentary hypermetabolism: neural signals from the gastrointestinal tract. **Journal of Physiology – London**. 526, 172–173, 2000.

FELTENSTEIN, M.W.; FORDA, N.G.; FREEMAN, K.B.; SUFKA, K.J. Dissociation of stress behaviors in the chick social-separation-stress procedure. **Physiology & Behavior**. 75, 675–679, 2002.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; MALHEIROS, E.B.; SECATO, E.R.; GUERREIRO, J.R. Effect of indomethacin on hyperthermia induced by heat stress in broiler chickens. **International Journal of Biometeorology**. 42(2), 73-76, 1998.

GALLUP Jr., G.G.; RAGER, D.R. Tonic immobility as a model of extreme states of behavioral inhibition. In: Kavaliers M,

editor. **Motor activity and movement disorders**. Totowa, NJ: Humana Press. 57–80, 1996.

GERAN, L.C.; RASHOTTE, M.E. Participation of gastrointestinal load volume in setting the pigeons nocturnal body temperature. **Naturwissenschaften**. 84, 350–353, 1997.

GILOH, M.; SHINDER, D.; YAHAV, S. Skin surface temperature of broiler chickens is correlated to body core temperature and is indicative of their thermoregulatory status. **Poultry Science**. 91(1), 175-88, 2012.

GÖBEL, G.; EMBER, A.; PÉTERVÁRI, E.; KIS, A.; SZÉKELY, M. Postalimentary hyperthermia: a role for gastrointestinal but not for caloric signals. **Journal of Thermal Biology**. 26, 519–523, 2001.

GRAY, D.A.; MALONEY, S.K.; KAMERMAN, P.R. Lipopolysaccharide-induced fever in Pekin ducks is mediated by prostaglandins and nitric oxide and modulated by adrenocortical hormones. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**. 289,1258–1264, 2005.

GRAY, D.A.; MALONEY, S.K.; KAMERMAN, P.R. Restraint increases afebrile body temperature but attenuates fever in Pekin ducks (*Anas platyrhynchos*). **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**. 294,1666–1671, 2008.

GRISSOM, N.; BHATNAGAR, S. Habituation to repeated stress: Get used to it. **Neurobiology of Learning and Memory**. 92, 215–224, 2009.

GROENINK, L.; COMPAAN, J.; VAN DER GUGTEN, J.; ZETHOF, T.; VAN DER HEYDEN, J.; OLIVIER, B. Stress induced hyperthermia in mice.

Pharmacological and endocrinological aspects. **Annals of the New York Academy of Sciences**. 771 (29), 252-256, 1995.

HAGAN, A.A.; HEATH, J.E. Effects of preoptic lesions on thermoregulation in ducks. **Journal of Thermal Biology**. 5, 141–150, 1980.

HENDERSON, D.; et al. Ingestive Behavior and Body Temperature of Pigeons During Long-Term Cold Exposure . **Physiology & Behavior**. 52, 455-469, 1992.

HENNESSY, J. W.; LEVIN, R.; LEVINE, S. Influence of experiential factors and gonadal hormones on pituitary–adrenal response of the mouse to novelty and electric shock. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**. 91(4), 770–777, 1977.

HIMMS-HAGEN, J. Role of brown adipose tissue thermogenesis in control of thermoregulatory feeding in rats: a new hypothesis that links thermostatic and glucostatic hypotheses for control of food intake. **Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine**. 208, 159–169, 1995.

HIRAMOTO, T.; OKA, T.; YOSHIHARA, K.; KUBO, C. Pyrogenic Cytokines Did Not Mediate a Stress Interview-Induced Hyperthermic Response in a Patient With Psychogenic Fever: A Case Report. **Psychosomatic Medicine**. 71, 932–936, 2009.

HOHTOLA, E.; HENDERSON, R.P.; RASHOTTE, M.E. Shivering thermogenesis in the pigeon: the effects of activity, diurnal factors, and feeding state. **American Journal of**

Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology. 275, 1553-1562, 1998.

ISOVICH, E.; ENGELMANN, M.; LANDGRAF, R.; FUCHS, E. Social isolation after a single defeat reduces striatal dopamine transporter binding in rats. **European Journal of Neuroscience.** 13, 1254–1256, 2001.

IUPS Thermal Commission. **Gloss of term for Thermal Physiology.** Third edition. Japan J. Physiol. 51, 245-280, 2001.

KOHLHAUSE, S.; KERSTIN HOFFMANN, K.; CHRISTINA SCHLUMBOHM, C.; FUCHS, E.; FLÜGGE, G. Nocturnal hyperthermia induced by social stress in male tree shrews: Relation to low testosterone and effects of age. **Physiology & Behavior.** 104, 786–795, 2011.

KOMAROVA, T.G. Cholinergic Mechanisms of the Medial Preoptic Areas of the Hypothalamus in the Control of Thermoregulation and the States of Sleep and Waking in Pigeons. **Neuroscience and Behavioral Physiology.** 39(6), 553-558, 2009.

KOOLHAAS, J.M., et al. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews.** 35, 1291–1301, 2011.

KUENZEL, W.J.; KANG, S.W.; JURKEVICH, A. Neuroendocrine regulation of stress in birds with an emphasis on vasotocin receptors (VTRs). **General Comparative of Endocrinology.** 190(1), 18-23, 2013.

LAURILA, M.; HOHTOLA, E.; SAARELA, S.; RASHOTTE, M.E. Adaptive timing of digestion and digestion-related thermogenesis in the pigeon. **Physiology & Behavior** 78, 441–448, 2003.

LAURILA, M. **Thermoregulatory consequences of starvation and digestion in birds.** 48 f. (Dissertação de Mestrado). Faculty of Science, Department of Biology, University of Oulu. Oulun Yliopisto, Oulu, 2005.

LAURILA, M.; HOHTOLA, E. The effect of ambient temperature and simulated predation risk on fasting-induced nocturnal hypothermia of pigeons in outdoor conditions. **Journal of Thermal Biology.** 30(5), 392–399, 2005.

LKHAGVASUREN, B., et al. Social defeat stress induces hyperthermia through activation of thermoregulatory sympathetic premotor neurons in the medullary raphe region. **European Journal of Neuroscience.** 34, 1442–1452, 2011

LONG, N.C.; VANDER, A.J.; KLUGER, M.J. Stress-induced rise of body temperature in rats is the same in warm and cool environments. **Physiology & Behavior.** 47(4), 773-775, 1990.

MARDER, J.; GAVRIELI-LEVIN, I. The heat-acclimated pigeon: An ideal physiological model for a desert bird. **Journal of Applied Physiology.** 62, 952–958, 1987.

MARDER, J.; PELTONEN, L.; RABER, P.; ARIELI, Y. CNS thermosensitivity and control of latent heat dissipation in the pigeon. **Journal thermal of Biology.** 14(4), 243-247, 1989.

MARJONIEMI, K. The effect of short-term fasting on shivering thermogenesis in Japanese quail chicks (*Coturnix coturnix japonica*): indications for a significant role of diet-induced/growth related thermogenesis. **Journal of Thermal Biology.** 25, 459-465, 2000.

MARSH, R.L.; DAWSON, W.R. Avian adjustments to cold. 6, In **“Advances in Comparative and Environmental Physiology”** 8–14. (L. C. H. Wang, ed.), 4, 205–253, 1989.

MEDDLE, S.L.; OWEN-ASHLEY, N.T.; RICHARDSON, M.I.; WINGFIELD, J.C. Modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of an Arctic breeding polygynandrous songbird, the Smith's longspur, *Calcarius pictus*. **Proceedings Biological Science- London**. 270(1526),1849-1856, 2003.

MELLEU, F.F. **A influência do ambiente sobre a neurogênese pós-natal e comportamento defensivo em pombos (*Columba livia*)**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

MILLS, S.H.; HEATH, J.E. Anterior hypothalamic-preoptic lesions impair normal thermoregulation in house sparrows. **Comparative Biochemistry and Physiology A-Comparative Physiology**. 43(1), 125-9, 1972.

MOE, R.O.; BAKKEN, M. Effects of handling and physical restraint on rectal temperature, cortisol, glucose and leucocyte counts in the silver fox (*Vulpes vulpes*). **Acta Veterinaria Scandinavica**. 38(1), 29-39, 1997.

MOE, R.O.; STUBSJOEN, S.M.; BOHLIN J.; FLO A.; BAKKEN, M. Peripheral temperature drop in response to anticipation and consumption of a signaled palatable reward in laying hens (*Gallus domesticus*). **Physiology & Behavior**. 106, 527–533, 2012.

MORRISON, S.F.; NAKAMURA, K. Central neural pathways for thermoregulation. **Frontiers in Bioscience**. 16(1),74-104, 2011.

MORRISON, S.F.; NAKAMURA, K., MADDEN, C.J. Central control of thermogenesis in mammals. **Experimental Physiology**. 93(7), 773-97, 2008.

NAKAMURA, K. Central circuitries for body temperature regulation and fever. **American Journal of Physiology Regulation Integrative and Comparative Physiology**. 301, 1207-1228, 2011.

NAKAMORI, T.; MORIMOTO, A.; MURAKAMI, N. Effect of a central CRF antagonist on cardiovascular and thermoregulatory responses induced by stress or IL-1 beta. **American Journal of Physiology**. 265, 834–839, 1993.

NECKER, R.; GNUSCHKE, H. Effects of hypothalamic lesions on temperature regulation in pigeons. **Brain Research Bulletin**. 22(5), 787-791, 1989.

NESSE, R.M.; BHATNAGAR, S.; YOUNG, E. The evolutionary origins and functions of the stress response. In G. Fink (Ed.), **The encyclopedia of stress** (2nd ed.). New York: Academic Press. 2007.

NOMOTO, S. Diurnal variations in fever induced by intravenous LPS injection in pigeons. **European Journal of Physiology**. 431, 987-989, 1996.

NOMOTO S. Role of prostaglandin E2 and indomethacin in the febrile response of pigeons. **Japanese Journal of Physiology**. 53(4), 253-258, 2003.

OKA, T.; OKA, K.; HORI, T. Mechanisms and Mediators of Psychological Stress-Induced Rise in Core Temperature. **Psychosomatic Medicine**. 63, 476–486, 2001.

OLIVIER, B.; et al. Stress-induced hyperthermia and anxiety: pharmacological validation. **European Journal of Pharmacology**. 463, 117–132, 2003.

PATTIJ, T.; GROENINK, L.; HIJZEN, T.H.; OOSTING, R.S.; MAES, R.A.; VAN DER GUGTEN, J.; OLIVIER, B. Autonomic changes associated with enhanced anxiety in 5-HT(1A) receptor knockout mice. **Neuropsychopharmacology**. 27(3), 380-90, 2002.

PELTONEN, L.; ARIELI, Y.; PYÖRNILÄ, A.; MARDER, J. Adaptive changes in the epidermal structure of the heat-acclimated rock pigeon (*Columba livia*): A comparative electronmicroscope study. **Journal of Morphology**. 235, 17–29, 1998.

PÉTERVÁRI, E.; BALASKÓ, M.; SZELÉNYI, Z.; HUMMEL, Z.; SZÉKELY, M. Fasting hypometabolism and thermoregulation in cold-adapted rats. **Journal of Thermal Biology**. 27, 359–364, 2002.

PHILLIPS, N. H.; BERGER, R. J. Metabolism and body temperature during circadian sleep in the fed and fasting pigeon. In: Reinertsen, R. E.; Bech, C., eds. **Physiology of cold adaption in birds**. New York:Plenum Press. 265-274, 1989.

PHILLIPS, D. L.; RASHOTTE, M. E.; HENDERSON, R. P. Energetic responses of pigeons during food deprivation and restricted feeding. **Physiology & Behavior**. 50, 195-203, 1991.

PITMAN, D.L.; OTTENWELLER, J.E.; NATELSON, B.H. Plasma corticosterone levels during repeated presentation of two intensities of restraint stress: Chronic stress and habituation. **Physiology & Behavior**. 43(1), 47–55, 1988.

PRINZINGER, R.; PREBMAR, A.; SCHLEUCHER, E. Body temperature in birds. **Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology**. 99(4), 499-506, 1991.

RANKIN, C.H.; et al. Habituation revisited: an updated and revised description of the behavioural characteristics of habituation. **Neurobiology of Learning and Memory**. 92, 135-138, 2009.

RASHOTTE, M.E.; BASCO, P.S.; HENDERSON, R.P. Daily cycles in body temperature, metabolic rate, and substrate utilization in pigeons: Influence of amount and timing of food consumption. **Physiology & Behavior**. 57, 731-746, 1995.

RASHOTTE M.E.; PHILLIPS D.L.; HENDERSON R.P. Nocturnal digestion, cloacal excretion, and digestion-related thermogenesis in pigeons (*Columba livia*). **Physiology & Behavior**. 61(1), 83-92, 1997.

RASHOTTE M.E.; PASTUKHOV I.F.; POLIAKOV E.L.; HENDERSON R.P. Vigilance states and body temperature during the circadian cycle in fed and fasted pigeons (*Columba livia*). **The American Journal of Physiology**. 275 (5Pt2), 1690-1702, 1998.

RASHOTTE M.E.; SAARELA S.; HENDERSON R.P.; HOHTOLA E. Shivering and digestion-related thermogenesis in pigeons during dark phase. **American Journal of Physiology**. 277, 1579-1587, 1999.

REFINETTI, R.; MENAKER, M. The circadian rhythm of body temperature. **Physiology & Behavior**. 51:613-637, 1992.

REINERTSEN R.E.; BECH C. Hypothermia in pigeons: relating body temperature regulation to the gastrointestinal system. **Naturwissenschaften**. 81, 133–136, 1994.

RORICK-KEHN, L.M.; HART, J.C.; MCKINZIE, D.L. Pharmacological characterization of stress-induced hyperthermia in DBA/2 mice using metabotropic and ionotropic glutamate receptor ligands. **Psychopharmacology -Berlin**. 183(2), 226-40, 2005.

RUIS, M.A.; TE BRAKE, J.H.; BUWALDA, B.; DE BOER, S.F.; MEERLO, P.; KORTE, S.M.; BLOKHUIS, H.J.; KOOLHAAS, J.M. Housing familiar male wildtype rats together reduces the long-term adverse behavioural and physiological effects of social defeat. **Psychoneuroendocrinology**. 24, 285–300, 1999.

SHIBATA, H.; NAGASAKA, T. Role of sympathetic nervous system in immobilization- and cold-induced brown adipose tissue thermogenesis in rats.

Japanese Journal of Physiology. 34, 103–111, 1984.

SOSZYNSKI, D.; KOZAK, W.; CONN, C.A.; RUDOLPH, K.; KLUGER, M.J. Beta-adrenoceptor antagonists suppress elevation in body temperature and increase in plasma IL-6 in rats exposed to open field. **Neuroendocrinology**. 63(5), 459-467, 1996.

SPOOREN, W.P.; SCHOEFFTER, P.; GASPARINI, F.; KUHN, R.; GENTSCH, C. Pharmacological and endocrinological characterisation of stress-induced hyperthermia in singly housed mice using classical and candidate anxiolytics (LY314582, MPEP and NKP608). **European Journal of Pharmacology**. 435, 161–170, 2002.

SPUDEIT, W.; SULZBACH, N.S.; BITTENCOURT, M.A.; DUARTE, A.M.; LIANG, H.; LINO-DE-OLIVEIRA,

C.; MARINO-NETO, J. The behavioral satiety sequence in pigeons (*Columba livia*). Description and development of a method for quantitative analysis. **Physiology & Behavior**. 122, 62–71, 2013.

STOTZ-POTTER, E.H.; MORIN, S.M.; DIMICCO, J.A. Effect of microinjection of muscimol into the dorsomedial or paraventricular hypothalamic nucleus on air stress-induced neuroendocrine and cardiovascular changes in rats. **Brain Reserch**. 742(1-2), 219-224, 1996.

SUNDGREN-ANDERSSON, A.K.; OSTLUND, P.; BARTFAI, T. Simultaneous measurement of brain and core temperature in the rat during fever, hyperthermia, hypothermia and sleep. **Neuroimmunomodulation**. 5(5), 241-247, 1998.

THOMPSON, R.F.; SPENCER, W.A. Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. **Psychological Review**. 173, 16–43, 1966.

VAN DER HEYDEN, J.A.M.; ZETHOF, T.J.J.; OLIVIER, B. Stress-induced Hyperthermia in Singly Housed Mice. **Physiology & Behavior**. 62(3), 463–470, 1997.

VEENING, J.G.; BOUWKNECHT, J.A.; JOOSTEN, H.J.; DEDEREN, P.J.; ZETHOF, T.J.; GROENINK, L.; VAN DER GUGTEN, J.; OLIVIER, B. Stress-induced hyperthermia in the mouse: c-fos expression, corticosterone and temperature changes. **Progress Neuropsychopharmacology Biology and Psychiatry**. 28(4), 699-707, 2004.

VINKERS, C.H.; et al. Stress-induced hyperthermia and infection-induced fever: two of a kind? **Physiology & Behavior**. 98, 37–43, 2009.

VINKERS, C.H.; PENNING, R.; HELLHAMMER, J.; VERSTER, J.C.; KLAESSENS, J.H.; OLIVIER, B.; KALKMAN, C.J. The effect of stress on core and peripheral body temperature in humans. **Stress**. 16(5), 520-30, 2013.

WEINERT, D.; WATERHOUSE, J. Diurnally Changing Effects of Locomotor Activity on Body Temperature in Laboratory Mice. **Physiology & Behavior**. 63, 5, 837–843, 1998.

WOJCZULANIS-JAKUBAS, K.; JAKUBAS, D.; CHASTEL, O. Behavioural and hormonal stress responses during chick rearing do not predict brood desertion by female in a small Arctic seabird. **Hormones and Behavior**. 64(3), 448-453, 2013.

ZAMMIT, G.K.; ACKERMAN, S.H.; SHINDLEDECKER, R.; FAUCI, M.; SMITH, G.P. Postprandial sleep and thermogenesis in normal men. **Physiology & Behavior**. 52(2), 251-9, 1992.

ZETHOF, T.J.; VAN DER HEYDEN, J.A.; TOLBOOM, J.T.; OLIVIER, B. Stress-induced hyperthermia as a putative anxiety model. **European Journal of Pharmacology**. 294(1), 125–135, 1995.

ZHANG, W.; SUNANAGA, J.; TAKAHASHI, Y.; MORI, T.; SAKURAI, T.; KANMURA, Y.; KUWAKI, T. Orexin neurons are indispensable for stress-induced thermogenesis in mice. **Journal of Physiology**. 588(21), 4117–4129, 2010.