

MANOEL LUCAS JAVOROUSKI

**COMPARAÇÃO DA RESPOSTA ADRENOCORTICAL DE FÊMEAS
DE FELÍDEOS SUBMETIDAS A ANESTESIA, LAPAROSCOPIA E
MANIPULAÇÃO GENITAL**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias, Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, Universidade Federal do
Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rosana Nogueira
de Moraes

CURITIBA

2003



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária **MANOEL LUCAS JAVOROUSKI** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Tese, intitulada **“Comparação da Resposta Adrenocortical de Fêmeas de Felídeos submetidas a Anestesia, Laparoscopia e Manipulação Genital”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) O Candidato se houve muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pelo Candidato, atribuiu o conceito **"A"** concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária.

Curitiba, 09 de junho de 2003.

Profa. Dra. ROSANA NOGUEIRA DE MORAIS
Presidente/Orientador

Profa. Dra. MARISA FERNANDES DE CASTILHO
Membro

Prof. Dr. ANTONIO FÉLPE PAULINO DE FIEIREDO WOUK
Membro

À minha esposa **Elizabete**, pelo apoio total e compreensão pela ausência nos momentos importantes de nossas vidas e aos meus pais **Ary** e **Ianoda**, por terem passado por muitas dificuldades, durante toda minha vida acadêmica, para que finalmente pudesse chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por dar-nos a chance de tentar reverter os danos causados aos animais e à natureza.

À minha orientadora **Prof. Dr. Rosana Nogueira de Moraes** pelos ensinamentos, paciência e apoio prestados ao seu primeiro mestrando.

A meus familiares **Elza, Tammi, Alysso** e **Sérgio Roberto** pelo apoio e ajuda dedicados durante o mestrado, tanto na forma de transporte quanto de impressão e edição de imagens.

A Médica Veterinária **Ana Silvia Passerino, M.Sc.**, Diretora do Departamento de Zoológico da Prefeitura Municipal de Curitiba pela liberação dos animais e utilização do espaço físico do Zoológico de Curitiba para a realização dos procedimentos, além do apoio pessoal e confiança depositada em nosso trabalho.

À amiga Bióloga **Maria Lúcia Faria Gomes**, Chefe da Divisão de Assistência Veterinária do Departamento de Zoológico, pela participação, confiança e apoio durante todo o trabalho.

Às colegas Médicas Veterinárias **Lucyenne Giselle Popp B. Queiroz** e **Oneida Lacerda Pasquale**, do Departamento de Zoológico, pelo auxílio durante os procedimentos de laparoscopia e por nunca se esquecerem dos frascos plásticos para as coletas diárias.

Ao Médico Veterinário, **Prof. Ricardo Guilherme D.O.C. Villani, M.Sc.**, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela inestimável colaboração nos procedimentos de contenção e acompanhamento anestésico durante as laparoscopias.

Ao amigo e colega Médico Veterinário **Prof. Rogério Ribas Lange, M.Sc.**, pelos conselhos e incentivos à realização do Mestrado e também pela produção do vasto material fotográfico durante os procedimentos laparoscópicos.

A **José Francisco de Jesus**, chefe dos tratadores do Zoológico de Curitiba, pela coordenação das equipes de funcionários durante os manejos de captura e recuperação pós-operatória dos animais.

A **Juarez Pires de Andrade, Wladimir S. da Silva** e demais funcionários da Cozinha do Zoológico de Curitiba, pela ajuda e responsabilidade no preparo dos alimentos e aplicação do corante para diferenciar as amostras.

Aos tratadores responsáveis pelos Setores Extra e Exposição de Felinos do Zoológico de Curitiba, **Medeiros, Adilson** e **Leandro** e aos tratadores substitutos **Perini, Vítor** e **Eduardo** pela paciência na colheita diária das amostras e durante os procedimentos de contenção, e também a **Paulo Santana da Silva** pelo auxílio nas aplicações de hormônios em horários especiais.

Aos estagiários do Laboratório de Reprodução Animal do Departamento de Fisiologia do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, **Katherinne Maria Spercoski, Anderson Bonamigo, Janaína Berberi Doro, Michelle Lopez Izar e Luciano Malanski** pelo auxílio nos procedimentos de laparoscopia, extração e dosagem dos hormônios séricos e fecais e pelo cuidado dispensado às gatas domésticas durante a permanência no biotério.

A **Misael de Lara**, Chefe da Divisão de Manutenção do Departamento de Zoológico da Prefeitura Municipal de Curitiba, pelo auxílio prestado na liberação de veículos e funcionários em horários especiais para as aplicações dos hormônios.

Aos Motoristas **Adão Schroeder, Antônio Jorge Dias e José Pardim** por ficarem a disposição durante as aplicações hormonais em horários especiais.

Aos funcionários do **Centro de Diagnóstico em Medicina Nuclear do Paraná - CEDIMEN**, na figura do Senhor **Gerson Sprada** e às Farmacêuticas Bioquímicas **Gislaine Custódio Piovesan e Perla Marcon** pelo auxílio quando da leitura dos radioimunoensaios.

Ao Biólogo **Vinícius Abilhoa**, do Departamento de Zoológico, pelo apoio e informações para realização das análises estatísticas.

Ao fotógrafo **Zig Koch** por gentilmente ceder fotos e slides pertencentes ao seu banco de imagens

À **NUVITAL NUTRIENTES S/A.** pela elaboração e doação do suplemento vitamínico e mineral utilizado neste trabalho.

Ao **CNPq** pelo financiamento concedido.

Ao **Departamento de Bioquímica** do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, especialmente ao funcionário Walter, pelo atendimento durante as leituras das cintilações.

A todos os **muitos amigos** não citados aqui, mas que, direta ou indiretamente, ajudaram na realização deste trabalho, seja com o esforço próprio seja com palavras de apoio e encorajamento.

Ao meu tio e padrinho **Onofre Grochoski**, que partiu durante a execução desta pesquisa, deixando uma lacuna em nossas vidas.

E principalmente aos **ANIMAIS** utilizados neste trabalho, para que o estresse sofrido não tenha sido em vão.

" — Os meninos de Dona Benta mataram a onça da Toca Fria — começou a capivara. — Ora, se mataram a onça, que era a rainha da floresta, o mesmo farão, com a maior facilidade, a qualquer outro bicho menos forte que a onça. Estamos pois com nossas vidas ameaçadas de grande perigo e temos de tomar providências. (...)

— Quem faz um cesto faz um cento — disse ela. — O fato de terem matado a onça vai encher de coragem esses meninos e fazê-los repetir suas entradas nesta floresta a fim de nos caçar a todos. O caso é bastante sério. (...).

Um jabuti adiantou-se e disse:

— O meio que vejo é nos mudarmos para outras terras.

— Que terras? — replicou a capivara. — Não há mais terras habitáveis nesse país. Os homens andam a destruir todas as matas, a queimá-las, a reduzi-las a pastagens para bois e vacas. No meu tempo de menina podíamos caminhar cem dias e cem noites sem ver o fim da floresta. Agora, quem caminha dois dias para qualquer lado que seja dá com o fim da mata. Os homens estragaram esse país. A idéia do jabuti não vale grande coisa. Impossível mudar-nos, porque não temos para onde ir. "

Caçadas de Pedrinho, Monteiro Lobato

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Felídeos Selvagens	6
2.1.1 Gato-do-mato-pequeno - <i>Leopardus tigrinus</i> (Schreber, 1775).....	7
2.1.2 Gato-maracajá - <i>Leopardus wiedii</i> (Schinz, 1821).....	9
2.1.3 Jaguaritica - <i>Leopardus pardalis</i> (Linnaeus, 1758).....	12
2.1.4 Puma - <i>Puma concolor</i> (Linnaeus, 1771).....	15
2.1.5 Onça-pintada - <i>Panthera onca</i> (Linnaeus, 1758).....	18
2.2 Estresse	25
2.3 Hormônios adrenocorticais e função reprodutiva	29
2.4 Cirurgias minimamente invasivas	32
2.5 Estresse da laparoscopia	35
2.6 Laparoscopias e reprodução	36
2.7 Dosagem de glicocorticóides como indicador de estresse	38
2.7.1 Cortisol Plasmático.....	39
2.7.2 Métodos não invasivos para dosagem de hormônios esteróides.....	40
3 - MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1 Animais e manejos	43
3.1.1 Felídeos selvagens.....	43
3.1.2 Gatas domésticas.....	47
3.2 Estimulação dos ovários e indução da ovulação	48
3.3 Laparoscopia e avaliação genital	49
3.3.1 Protocolo Anestésico - Felídeos Selvagens.....	49
3.3.2 Protocolo Anestésico - Gatas domésticas.....	50
3.4 Laparoscopia	50
3.5 Níveis séricos de cortisol	55

3.5.1 Amostras.....	55
3.5.2 Dosagem hormonal.....	55
3.6 Níveis de corticóides fecais.....	55
3.6.1 Amostras.....	55
3.6.2 Extração dos hormônios fecais.....	56
3.6.3 Dosagem hormonal.....	57
3.7 Análise estatística.....	57
3.7.1 Cortisol sérico.....	57
3.7.2 Corticosterona fecal.....	58
3.7.3 Parâmetros vitais.....	58
4 - RESULTADOS.....	59
4.1. Cortisol Sérico.....	59
4.2. Corticóides fecais.....	64
4.3. Parâmetros vitais durante a anestesia.....	70
4.4. Achados laparoscópicos e correlação entre as variáveis.....	73
5 - DISCUSSÃO.....	75
5.1 Cortisol sérico.....	75
5.2 Corticóides fecais.....	79
5.3 Sinais vitais.....	85
5.4 Achados laparoscópicos e correlações.....	85
6 - CONCLUSÕES.....	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	DADOS BIOLÓGICOS DAS CINCO ESPÉCIES DE FELINOS SUL-AMERICANOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO.....	22
Quadro 2	IDENTIFICAÇÃO DAS FÊMEAS DE FELINOS SELVAGENS SUBMETIDAS À LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL.....	43
Tabela 1	INTERVALO MÉDIO DE TEMPO (MINUTOS) ENTRE AS COLHEITAS DE SANGUE EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n= 7), SUBMETIDAS A LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002.....	59
Tabela 2	MÉDIAS (\pm EPM) DE CORTISOL SÉRICO GLOBAL E EM DIFERENTES MOMENTOS EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n = 7), SUBMETIDAS A LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 e 2002.....	60
Tabela 3	MÉDIAS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g DE FEZES) NAS FASES PRÉ E PÓS LAPAROSCOPIA E DE PICO MÁXIMO, EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n=7) SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 E 2002.....	65
Tabela 4	MÉDIAS INDIVIDUAIS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g DE FEZES) NA FASE PRÉ LAPAROSCOPIA, EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3) E ONÇA-PINTADA (n=2), CURITIBA – PR, 2001 E 2002....	65
Tabela 5	MÉDIAS (\pm EPM) DE PARÂMETROS VITAIS EM FÊMEAS DE FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n=7), SUBMETIDAS A LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 e 2002.....	70
Tabela 6	MÉDIA (\pm EPM) DOS ACHADOS OVARIANOS E ESTRADIOL (E2) E PROGESTERONA (P4) SÉRICOS EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=6), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=8), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n=8), SUBMETIDAS A ESTIMULAÇÃO OVARIANA COM GONADOTROFINAS EXÓGENAS, CURITIBA – PR, 2001 e 2002.....	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - ANÚNCIO DE TRATORES INCENTIVANDO A DESTRUIÇÃO DE GRANDES ÁREAS FLORESTAIS, SELEÇÕES DO READER'S DIGEST, Junho, 1947.....	1
Figura 2 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>), FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.....	8
Figura 3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE GATO-MARACAJÁ (<i>Leopardus wiedii</i>) FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.....	10
Figura 4 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE JAGUATIRICA (<i>Leopardus pardalis</i>) FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.....	13
Figura 5 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE PUMA (<i>Puma concolor</i>) FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.....	15
Figura 6 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ONÇA-PINTADA (<i>Panthera onca</i>) FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.....	19
Figura 7 - EXEMPLARES DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>) - Lti, GATO-MARACAJÁ (<i>Leopadus wiedii</i>) - Lwi E JAGUATIRICA (<i>Leopardus pardalis</i>) - Lpa. FOTOS ZIG KOCH.....	23
Figura 8 - EXEMPLARES DE PUMA (<i>Puma concolor</i>) - Pco E ONÇA-PINTADA (<i>Panthera onca</i>) - Pon. FOTOS ZIG KOCH.....	24
Figura 9 - VISTA GERAL DA BATERIA DE RECINTOS PARA PEQUENOS FELINOS, SETOR EXTRA, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.....	45
Figura 10 - VISTA DE RECINTO DE PEQUENOS FELINOS, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.....	45
Figura 11 - VISTA DE RECINTO PARA PUMAS, SETOR EXTRA, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.....	46
Figura 12 - VISTA GERAL DOS RECINTOS DE EXPOSIÇÃO DE GRANDES FELINOS, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.....	46
Figura 13 - INCISÃO DE PELE EM GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>) PARA APLICAÇÃO DA CÂNULA DO LAPAROSCÓPIO, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. NOTAR POSIÇÃO DE TREDENLEMBURG. FOTO ROGÉRIO RIBAS LANGE.....	52
Figura 14 - VIDEO-LAPAROSCOPIA EM JAGUATIRICA (<i>Leopardus pardalis</i>), COM MANIPULAÇÃO GENITAL, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. FOTO CESAR BRUSTOLIN, SMCS/PMC.....	52

Figura 15 - CAMPO CIRÚRGICO DURANTE LAPAROSCOPIA EM GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>). APLICAÇÃO DO SEGUNDO TROCARTE. VERIFICAR AGULHA DE VERESS E PRIMEIRA CÂNULA POR ONDE PASSA O LAPAROSCÓPIO. ZOOLOGICO DE CURITIBA, 2001. FOTO ROGÉRIO RIBAS LANGE.....	53
Figura 16 - MANUSEIO DE PINÇA E VIDEO-LAPAROSCÓPIO DURANTE MANIPULAÇÃO GENITAL EM FÊMEA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>). ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. FOTO ROGÉRIO RIBAS LANGE.....	53
Figura 17 - INTRODUÇÃO DE CATETER PARA APLICAÇÃO DE SÊMEN DURANTE VIDEO-LAPAROSCOPIA EM FÊMEA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>). ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. FOTO ROGÉRIO R. LANGE.....	54
Figura 18 - CORNO UTERINO FIXADO POR PINÇA E COM CATETER POSICIONADO <i>IN UTERO</i> DURANTE PROCEDIMENTO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM FÊMEA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>). ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.....	54

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=4) DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=8), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.....	61
Gráfico 2 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=4) DE GATO-MARACAJÁ (<i>Leopardus wiedii</i>) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=6), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.....	61
Gráfico 3 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=5) DE JAGUATIRICA (<i>Leopardus pardalis</i>) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=10), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.....	62
Gráfico 4 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=3) DE PUMA (<i>Puma concolor</i>) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=6), CURITIBA - PR, 2001 E 2002. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS (P<0,05).....	62
Gráfico 5 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=2) DE ONÇA-PINTADA (<i>Panthera onca</i>) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=4), CURITIBA - PR, 2001 E 2002. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS (P<0,05).....	63
Gráfico 6 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=7) DE GATO-DOMÉSTICO (<i>Felis catus</i>) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=7), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.....	63
Gráfico 7 - VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002. PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA (p<0,05).....	66
Gráfico 8 - VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE GATO-MARACAJÁ (<i>Leopardus wiedii</i>), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002 PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA (p<0,05).....	66
Gráfico 9 - VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE JAGUATIRICA (<i>Leopardus pardalis</i>), n=5, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002 PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA (p<0,05).....	67
Gráfico 10- VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE GATO DOMÉSTICO (<i>Felis catus</i>), n=7, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002 PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA (p<0,05).....	67

Gráfico 11-	VALORES MÉDIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM TRÊS FÊMEAS DE PUMA (<i>Puma concolor</i>), SUBMETIDAS A DOIS PROCEDIMENTOS DE ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002.....	68
Gráfico 12-	VALORES MÉDIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM DUAS FÊMEAS DE ONÇA-PINTADA (<i>Panthera onca</i>), SUBMETIDAS A DOIS PROCEDIMENTOS DE ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002.....	69
Gráfico 13-	VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO ₂ (%) EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (<i>Leopardus tigrinus</i>), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002.....	70
Gráfico 14-	VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO ₂ (%) EM FÊMEAS DE GATO-MARACAJÁ (<i>Leopardus wiedii</i>), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002.....	71
Gráfico 15-	VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO ₂ (%) EM FÊMEAS DE JAGUATIRICA (<i>Leopardus pardalis</i>), n=5, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002.....	71
Gráfico 16-	VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO ₂ (%) EM FÊMEAS DE PUMA (<i>Puma concolor</i>), n=3, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002.....	72
Gráfico 17-	VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO ₂ (%) EM FÊMEAS DE ONÇA-PINTADA (<i>Panthera onca</i>), n=2, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002.....	72
Gráfico 18-	VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO ₂ (%) EM FÊMEAS DE GATO-DOMÉSTICO (<i>Felis catus</i>), n=5, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR,	73

COMPARAÇÃO DA RESPOSTA ADRENOCORTICAL DE FÊMEAS DE FELINOS SUBMETIDAS A ANESTESIA, LAPAROSCOPIA E MANIPULAÇÃO GENITAL

No presente trabalho, a mensuração do cortisol sérico e seus metabólitos fecais, foi utilizada para avaliar o impacto da laparoscopia e manipulação genital sobre a atividade adrenocortical de fêmeas de felídeos, com o objetivo de obter dados básicos para as espécies e avaliar o efeito estressor destes protocolos de modo espécie/específico. Foram utilizadas fêmeas de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus* – Lti), gato-maracajá (*Leopardus wiedii* - Lwi), jaguatirica (*Leopardus pardalis* – Lpa), puma (*Puma concolor* – Pco) e onça-pintada (*Panthera onca* – Pon), pertencentes ao acervo do Departamento de Zoológico da Prefeitura Municipal de Curitiba, e fêmeas de gato-doméstico (*Felis catus* - Fca), mantidas no Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram contidos duas vezes, com intervalo de seis meses, em 2001 e 2002. Como protocolo hormonal para a inseminação artificial (estudo em paralelo), as fêmeas receberam aplicações de gonadotrofina coriônica equina e gonadotrofina coriônica humana. As laparoscopias foram realizadas entre 36 e 40 horas após o tratamento hormonal. A indução anestésica foi realizada com cloridrato de cetamina ou associação de tiletamina-zolazepam e a manutenção em anestesia volátil com Isoflurano. O monitoramento das funções vitais (frequências cardíaca e respiratória e SPO2 arterial) foi realizado através de pulso-oxímetro padrão. A laparoscopia e a inspeção da genitália interna foram realizadas utilizando-se critérios morfológicos previamente descritos para felinos. As fêmeas com pontos recentes de ovulação foram inseminadas *in útero* através de um cateter inserido no corno uterino. Para a determinação do cortisol sérico, amostras de sangue foram colhidas da veia jugular sendo uma logo após a indução anestésica e as outras a intervalos médios de 20 minutos até o final do procedimento. O soro foi mantido a -20°C até a análise. As concentrações de cortisol foram determinadas através de radioimunoensaios de fase sólida. Para as dosagens de corticosterona fecal foram colhidas amostras de fezes durante um período de 20 dias (07 dias antes do tratamento hormonal, 05 durante o tratamento e 07 dias após o procedimento cirúrgico). As amostras foram mantidas a -20°C até o processamento e análise. Os esteróides fecais foram extraídos por agitação das amostras em etanol 80% (v.v. em água destilada) e posterior centrifugação. Para a quantificação dos esteróides foram utilizados testes de radioimunoensaio de duplo anticorpo validados previamente. Os valores médios (\pm EPM) encontrados para cortisol sérico (em nMol/L), na primeira amostra foram 442,9 \pm 111,1 (Lti), 407,5 \pm 115,5 (Lwi), 136,3 \pm 15,7 (Lpa), 740,0 \pm 141,2 (Pco), 186,3 \pm 34,1 (Pon) e 228,4 \pm 61,5 (Fca). Todas as fêmeas apresentaram aumento nas amostras seguintes em relação à primeira, apesar de não serem significativamente diferentes ($p > 0,05$) em Lwi, Pon e Fca. Os valores para corticosterona fecal pré e pós-operatória (em ng/g) foram respectivamente 1860,6 \pm 225,7 e 5419,9 \pm 983,8 (Lti); 646,2 \pm 97,7 e 1943,1 \pm 262,9 (Lwi); 337,0 \pm 71,3 e 1128,1 \pm 187,1 (Lpa); 465,2 \pm 83,4 e 487,4 \pm 114,3 (Pco); 113,5 \pm 13,0 e 524,8 \pm 131,5 (Pon); e 31,5 \pm 1,4 e 50,1 \pm 114,3 (Fca). Com exceção das pumas, possivelmente devido a problemas nas amostras, todas as fêmeas apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de corticosterona fecal após a laparoscopia, com picos variando entre 263% e 767% entre 24 e 48 horas após a

laparoscopia e retornando aos índices basais em 2 a 7 dias. Os parâmetros vitais não apresentaram alterações significativas durante os procedimentos. Conclui-se que apesar dos aumentos nos corticóides séricos e fecais observados em todas as espécies, o procedimento mostrou-se seguro para ser usado como uma ferramenta para reprodução. Os resultados obtidos neste trabalho constituem o primeiro relato para a dosagem de hormônios adrenais, medindo-se ao mesmo tempo cortisol sérico e corticosterona fecal em cinco espécies de felídeos sul-americanos submetidos aos procedimentos de inseminação artificial. Espera-se que este trabalho represente uma importante contribuição na formação de dados básicos para essas espécies ameaçadas.

Palavras-chave: Felídeos sul-americanos, cortisol sérico, corticosterona fecal, laparoscopia, inseminação artificial, estresse.

COMPARATIVE ADRENOCORTICAL RESPONSE IN FELID FEMALES SUBMITTED TO ANESTHESIA, LAPAROSCOPY AND GENITAL MANIPULATION

In this study, the measurement of seric cortisol and its fecal metabolites levels, was used to evaluate the impact of laparoscopy and genital manipulation over adrenocortical activity in felid females, aiming to obtain species-specific basic data and an estimate of the stressor effect of these protocols. Female tigrinas - (*Leopardus tigrinus* – Lti), margays (*L. wiedii* – Lwi), ocelots (*L. pardalis* – Lpa), pumas (*Puma concolor* – Pco) and jaguars (*Panthera onca* – Pon) from the Curitiba Zoo (PMC - SMMA) and female domestic cats were submitted to the procedure twice within a six-month interval. As part of the hormonal protocol for artificial insemination (parallel study) the females received equine chorionic gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin. The laparoscopic evaluation being performed 36 to 40 hours after hCG treatment. Anesthesia was induced either with ketamine hydrochloride or tiletamine-zolazepam, and maintained with isoflurane throughout the procedure. Vital functions (heart rate, respiratory rate and arterial SPO₂) were monitored by standard pulse-oximetry. The laparoscopy and inspection of the reproductive tract was done using morphologic standardized criteria for feline. Females with recent ovulation points were inseminated *in utero*, thorough a transabdominal inserted uterine catheter. For serum cortisol measurements, a blood sample was taken directly from jugular vein just after the anesthetic induction and at each 20 minutes interval until the end of the procedure. Serum fraction was stored at -20°C until analysis and cortisol levels were determinate by radioimmunoassay. For fecal corticoids analysis, fecal samples were collected daily during 20 days (7 days before hormonal treatment, 5 days of hormonal treatment and 7 days after surgical procedure). Samples were stored at -20°C until procedure and analysis. Steroids were extracted by shaking ~0.5g of feces in ethanol 80% (v:v in distilled water) followed by centrifugation. A previously validated double antibody radioimmunoassay was used to quantify fecal corticoids. Mean (\pm SEM) serum cortisol values (nMol/L) in the first sample, for each species, were 442.9 \pm 111.1 (Lti), 407.5 \pm 115.5 (Lwi), 136.3 \pm 15.7 (Lpa), 740.0 \pm 141.2 (Pco), 186.3 \pm 34.1 (Pon) and 228.4 \pm 61.5 (Fca). For all species increasing cortisol values were found overtime, although differences were non significant ($p>0.05$) for Lwi, Pon and Fca. The respective fecal corticosterone baseline and post-laparoscopy values were (in ng/g) 1860.6 \pm 225.7 and 5419.9 \pm 983.8 (Lti); 646.2 \pm 97.7 and 1943.1 \pm 262.9 (Lwi); 337.0 \pm 71.3 and 1128.1 \pm 187.1 (Lpa); 465.2 \pm 83.4 and 487.4 \pm 114.3 (Pco); 113.5 \pm 13.0 and 524.8 \pm 131.5 (Pon); and 31.5 \pm 1.4 and 50.1 \pm 114.3 (Fca). Except for pumas, probably due to sampling problems, all females presented significant ($p<0.05$) increase in fecal corticoids after laparoscopy, with peak values ranging from 263% to 767 % of variation around 24-48 hours after procedure and returning to baseline in 2 to 7 days. No significant variation was observed on vital functions during procedures. In conclusion, although significant increases in both fecal and serum corticoids has been observed for all species, the procedure has been proved to be safe to be used as a tool for reproductive aims. Additionally, this is the first report including both fecal and serum corticoids, measured longitudinally, in five South-American felid

species submitted to artificial insemination. Hopefully it may represent an important contribution to generating database for these endangered species.

Key-words: South-American felids, serum cortisol, fecal corticoids, laparoscopy, artificial insemination, stress.



1 - INTRODUÇÃO

Desde seu descobrimento o Brasil tem sido alvo de ataques predatórios ao seu ambiente. Primeiramente com a exploração de seus recursos florestais, passando a seguir para as grandes monoculturas como a cana-de-açúcar, o café e mais recentemente a soja. Também a pecuária bovina teve grande participação na destruição de extensas áreas de mata. Essa destruição era incentivada pois as áreas florestais eram consideradas terras improdutíveis (Ver figura 1).

FIGURA 1 - ANÚNCIO DE TRATORES INCENTIVANDO A DESTRUIÇÃO DE GRANDES ÁREAS FLORESTAIS, SELEÇÕES DO READER'S DIGEST, Junho, 1947.

TORNANDO PRODUTIVAS AS TERRAS ABANDONADAS

POR todas as Américas há enormes terras, atualmente sem valor prático, que podem ser utilizadas para a lavoura—para estradas e aeroportos—ou para construções de fábricas ou lares. Os Tratores Diesel “Caterpillar” rompem caminho, permitindo sua utilização rápida e econômica.

Enorme força e poder de tração permitem a estas vigorosas máquinas afastar árvores crescidas, com seus “bulldozers”, ou alisar um pedaço da selva, mediante um cabo esticado entre dois tratores. Logo que estejam derrubadas as árvores, os Diesel “Caterpillar” vão empurrando os destroços e empilhando-os para serem queimados, afim de apressar o trabalho de preparo da terra para o arado.

CATERPILLAR TRACTOR CO., PEORIA, ILLINOIS, E. U. A.

Trator Diesel “Caterpillar” limpando um terreno de cactos e cambroeiros numa nova plantação pertencente à Grenada Co. na República Dominicana.



CATERPILLAR
MARCA REGISTRADA
DIESEL MOTORES • TRATORES • MOTONIVELADORAS
 EQUIPAMENTO PARA MOVER TERRA

Durante muitos anos a fauna foi oficialmente considerada como produto a ser explorado na forma de animais de companhia e para zoológicos ou pelo comércio de peles e subprodutos. Atos predatórios eram considerados como atos de bravura e aceitos naturalmente. Entre as espécies mais caçadas estavam os felinos, seja pela beleza da pele, seja pela agressividade e desafio na caçada. As crianças eram estimuladas ao uso de armas de caça, iniciando pelo estilingue até chegarem às espingardas. Em 1933 Monteiro Lobato descreveu em seu "Caçadas de Pedrinho" uma seqüência que nos dias de hoje seria considerada política e ecologicamente incorreta:

"A onça, desapontadíssima, ali permaneceu, sentada sobre as patas de trás, com os olhos fixos nos caçadores que a tinham logrado. Parece que sua intenção era ficar de guarda até que eles descessem.

— Espera que te curo - disse Pedrinho, lembrando-se que trazia no bolso um pouco de pólvora dos pistolões. Tomou um punhado e, ajeitando-se no galho que ficava bem a prumo sobre a onça, derramou-lhe a pólvora em cima dos olhos.

A idéia valeu. Completamente cega pela pólvora, a onça pôs-se a corcovear que nem doida, enquanto esfregava os olhos com as munhecas, como se quisesse arrancá-los.

— É hora! Avança, macacada! - gritou Pedrinho, escorregando pela árvore abaixo.

Todos o imitaram. Apanharam as armas e se arrojaram contra a fera com verdadeira fúria. Narizinho esfregou-lhe a faca no lombo, como se a onça fosse pão e ela quisesse tirar uma fatia. O Visconde conseguiu, depois de várias tentativas, enterrar-lhe no peito o seu sabre de arco de barril. Emília fez o mesmo com o espeto de assar frango. Pedrinho macetou-lhe o crânio com a coronha de sua espingarda. Até Rabicó perdeu o medo e, depois de carregar de novo o canhão, deu-lhe um bom tiro à queima roupa.

Assim atacada de todos os lados, a onça não teve remédio senão morrer. Estrebuchou e foi morrendo. Quando deu o último suspiro, Pedrinho, no maior entusiasmo de sua vida, entoou um canto de guerra:

— Ale guá, guá, guá...

E todos responderam em coro:

— Hurra! Hurra! Pica-pau Amarelo!..."

A partir de década de 1960 a caça foi oficialmente proibida no Brasil, porém apenas no papel, pois continua ocorrendo. Atualmente, a Lei de Crimes Ambientais (Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998) prevê, em seu Capítulo V, Artigo 29, penas que variam de seis meses a um ano de detenção, além de multa a quem matar, perseguir, caçar, apanhar, utilizar espécimes da fauna silvestre, nativos ou em rota migratória, sem a devida permissão, licença ou autorização da autoridade competente. Porém a mesma Lei nº 9.605, em seu Artigo 37, permite o abate de animais considerados "problema" para proteger lavouras, pomares e rebanhos da ação predatória ou destruidora, desde que legal e expressamente autorizado pela autoridade competente.

Em todo o mundo, inúmeras espécies entram em processo de extinção a cada dia. Alguns destes processos são naturais, decorrentes da própria evolução. Porém sabe-se que a atividade humana na Terra vem provocando alterações drásticas na natureza, de forma muito acelerada, impossibilitando a adaptação de espécies às modificações do meio. Por estarem no topo da cadeia alimentar, os felídeos são extremamente sensíveis às mínimas alterações provocadas pelo homem na natureza e encontram-se gravemente ameaçados tanto pela destruição do ambiente, como no caso dos pequenos gatos, quanto por representarem ameaça às criações de gado, como acontece com os pumas e as onças.

Nas últimas décadas, organizações não governamentais e outras entidades voltadas à preservação do ambiente têm procurado reverter esse quadro. A função dos zoológicos também mudou nesse período. Considerados até meados da segunda metade do século XX como simples depósitos de animais expostos ao público, passaram a ter a função de reprodução e perpetuação de espécies ameaçadas. Com a crescente destruição dos ecossistemas do país e conseqüentemente da vida selvagem, as populações em cativeiro tornaram-se uma importante estratégia para a conservação das espécies. De maneira geral, os parques e zoológicos vêm tendo uma crescente participação nos problemas ambientais, sendo muitas vezes considerados como alternativas viáveis a curto prazo para a manutenção de espécimes que chegam em número cada vez maior, oriundos de áreas endêmicas. Devido à ocupação de ambientes naturais pela população humana, estes animais são capturados, em áreas limítrofes de habitats relativamente conservados, obrigando à translocação ou à manutenção destes indivíduos em cativeiro. No Brasil, a população de felinos em cativeiro, segundo os censos da Sociedade de Zoológicos do Brasil e Plano de Manejo de Pequenos Felinos, cresce de modo acelerado, a despeito dos resultados reprodutivos serem ainda muito baixos (ADANIA, 1998).

Dessa forma, além das medidas visando a preservação do habitat, a definição de manejos adequados em cativeiro podem ser úteis para o sucesso da reprodução (natural ou assistida) e a manutenção da variabilidade genética das populações de vida livre ou cativeiro (BUMSTEAD, 2001). Muitas técnicas reprodutivas desenvolvidas para uso em animais domésticos, visando aumentar a produção, passaram a ser utilizadas como forma de preservar as espécies

selvagens ameaçadas de extinção. Uma dessas técnicas é a inseminação artificial via laparoscopia. O uso do gato doméstico como modelo experimental para o desenvolvimento de técnicas de reprodução, tais como a inseminação artificial e/ou a fertilização *in vitro* propiciou a adaptação dessas técnicas para a reprodução de felídeos selvagens. Em 1992, gatas domésticas tratadas com gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e gonadotrofina coriônica humana (hCG) procriaram após laparoscopia e inseminação artificial. Desde então, protocolos semelhantes usando reprodução assistida têm sido utilizados em várias espécies de felinos selvagens (POPE, 2000). A inseminação artificial por laparoscopia, com deposição intra-uterina do sêmen é a mais indicada em felinos pois pesquisas realizadas em gatas domésticas relatam que a inseminação transcervical apresenta uma taxa de sucesso muito baixa, possivelmente pela menor eficiência no transporte dos espermatozóides (ROTH *et al.*, 1997).

O baixo índice de nascimentos após reprodução natural em cativeiro, principalmente entre os pequenos felinos, pode ser causado pelas condições de manejo em cada zoológico. Os indivíduos mantidos em cativeiro sofrem estímulos estressores ocasionados por alterações em seus hábitos, tais como a proximidade forçada em relação a suas presas e/ou predadores, superpopulação, dietas inadequadas, falta de privacidade ou grande proximidade com os humanos, entre outros. Esses agentes estressores podem afetar a qualidade reprodutiva de muitas espécies, levando a necessidade de auxílio técnico. Porém, as próprias técnicas reprodutivas utilizadas geram estímulos estressores, já que procedimentos anestésicos e/ou laparoscópicos podem interferir na fertilização e no desenvolvimento do embrião. Outros procedimentos utilizados para a manutenção de animais selvagens em cativeiro podem representar situações adicionais de estresse, sendo que uma estimulação intensa ou prolongada pode gerar danos severos ao paciente (FOWLER, 1986).

Neste contexto, o bem-estar animal adquiriu grande importância nos últimos anos e a ausência de estresse crônico é um dos pré-requisitos para se atingir essa condição. Durante o estresse, várias respostas endócrinas são desencadeadas para melhorar ou manter o estado de equilíbrio do indivíduo. Os principais hormônios liberados para superar situações estressantes são os glicocorticóides e as catecolaminas sendo que sua mensuração no plasma ou nos produtos de excreção é utilizada como parâmetro da atividade adrenal. A

concentração dos glicocorticóides (principalmente o cortisol ou seus metabólitos) pode ser medida em vários fluídos corporais ou excreções tais como plasma sangüíneo, urina, fezes, saliva ou suor (MOSTL e PALME, 2002). O nível de estresse de cada animal, indicado pela atividade adrenocortical frente aos diversos estímulos estressores de cativeiro, incluindo a resposta às técnicas de reprodução assistida, continua, porém, não determinada.

No presente trabalho, técnicas de reprodução artificial e de dosagem de hormônios séricos e fecais, já padronizadas e validadas para o uso em felinos, foram utilizadas para estudar o impacto da laparoscopia e manipulação genital sobre a atividade adrenocortical de fêmeas de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), puma (*Puma concolor*), onça-pintada (*Panthera onca*) em comparação com dados de gato doméstico (*Felis catus*) com o objetivo geral de obter dados básicos para as espécies e avaliar o efeito estressor destes protocolos de modo espécie/específico.

Os objetivos específicos são:

1. Avaliar a segurança dos procedimentos de anestesia, laparoscopia e manipulação genital nas diferentes espécies.
2. Determinar o nível de estresse induzido pelo procedimento de anestesia, laparoscopia e manipulação genital em fêmeas de felídeos, com mensuração da resposta adrenal, através da dosagem de corticóides séricos e fecais.
3. Avaliar as alterações nos parâmetros vitais (frequência cardíaca, frequência respiratória e saturação de O₂ arterial) durante a anestesia e laparoscopia;
4. Verificar possíveis diferenças no perfil de resposta das diversas espécies frente às variáveis estudadas.
5. Determinar as correlações existentes entre os níveis de corticóides e parâmetros vitais nas diferentes espécies.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Felídeos Selvagens

Os humanos sempre tiveram uma grande associação com os membros da família dos gatos. Esses animais foram caçados por sua pele e propriedades medicinais, para exposição em zoológicos, associados com mágicas e feitiçarias, adorados como deuses, domesticados para controle de pragas e mantidos como animais de estimação. Muito pouco é conhecido sobre a maioria dos felídeos. As informações são dispersas e geralmente se dividem entre os carismáticos membros do gênero *Panthera* tal como o leão e o tigre. A fascinação com os grandes felinos e compartilhada com a negligência aos pequenos (MATTERN e McLENNAN, 2000).

Os felídeos selvagens estão agrupados na família *Felidae*, a qual compreende trinta e sete espécies. Das dez que ocorrem na América do Sul, oito espécies são encontradas no Brasil: gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato-mourisco (*Herpailurus yagouarondi*), gato-do-mato-grande (*Oncifelis geoffroyi*), gato-palheiro (*Oncifelis colocolo*), puma (*Puma concolor*) e onça-pintada (*Panthera onca*). Dentre as espécies de felinos existentes atualmente, apenas o gato doméstico (*Felis catus*) encontra-se em uma situação fora de risco. Todas as demais estão ameaçadas ou em vias de extinção, principalmente devido à destruição do ambiente e à caça, seja para o comércio de peles, uso como animal de estimação ou para evitar ataques a criações de animais domésticos (BUMSTEAD, 2001). Mundialmente, os grandes predadores felinos possuem três principais ameaças: diminuição da quantidade de presas, perseguição direta pelo homem e fragmentação do ambiente. A predominância de cada um desses fatores sobre os outros varia de acordo com a cultura local, economia e uso da terra. Em locais onde predominam fazendas de criação de gado, os predadores estão sujeitos a maiores perseguições pelo homem (MAZZOLLI *et al.* 2002). A partir de 1977 foi efetivada a Convenção Internacional para o Trânsito de Espécies Ameaçadas da Fauna e da Flora (CITES), acordo internacional implementado nos Estados Unidos da América e que estabelece normas para a importação e exportação de animais e plantas, vivos ou não, e ainda partes e/ou derivados de um animal ou planta (MORAIS, 1999). As espécies listadas

no Apêndice I do CITES, são raras ou ameaçadas de extinção e o transporte internacional depende da emissão de autorizações dos países envolvidos, tanto de saída quanto de entrada. Já as listadas no Apêndice II não são atualmente raras ou ameaçadas, porém podem se tornar, caso não sejam tomadas medidas preventivas.

O Zoológico de Curitiba (Prefeitura Municipal de Curitiba – PR) possui em seu acervo oito espécies de felídeos, sendo cinco espécies das Américas: gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), puma (*Puma concolor*) e onça-pintada (*Panthera onca*). A seguir é feita uma descrição das cinco espécies selvagens utilizadas no presente trabalho.

2.1.1 Gato-do-mato-pequeno - *Leopardus tigrinus* (Schreber, 1775)

O gato-do-mato-pequeno é uma das menores espécies de felinos encontradas nas Américas, sendo a menor do Brasil. Sua pelagem vai do marrom claro até ocre ou cinza, com manchas pretas ou marrons bem escuras. As partes inferiores são mais claras, com pontos negros isolados. Os membros possuem pontos no lado externo e a longa cauda possui pontos na base passando para anéis negros. São animais de constituição delicada, com a cabeça estreita e uma linha branca sobre os olhos. As orelhas grandes são redondas e negras em sua face externa, com uma distinta mancha branca central. A íris é dourada ou marrom clara. O pêlo é firme, próximo à pele e não apresenta pêlos virados para frente na região da nuca, como ocorre em jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) e gatos-maracajá (*Leopardus wiedii*). Podem ocorrer animais melânicos. Os indivíduos do norte/nordeste do Brasil tendem às tonalidades mais claras e a apresentar rosetas pequenas e incompletas, enquanto os do sul/sudeste tendem a tons mais escuros, com rosetas maiores (OLIVEIRA e CASSARO, 1999).

A distribuição geográfica parece ser descontínua ou fragmentada. Ocorre em praticamente toda a América Central e do Sul, indo do norte da Costa Rica ao norte da Argentina e em todo o Brasil, até o norte do Rio Grande do Sul. Sua presença no Chile e Equador não foi confirmada. Ver figura 2.

FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*),
 FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.



Uma espécie pouco conhecida, o gato-do-mato-pequeno aparentemente apresenta uma forte preferência por florestas de montanhas e são encontrados em níveis mais altos que jaguatiricas ou maracajás. Na Colômbia estão restritos a elevações acima de 1500 metros e já foram encontrados até em 4500 metros, próximos da linha das neves. Também já foram encontrados nas montanhas dos Andes, no Equador, em uma região onde o puma (*Puma concolor*) e o gato-palheiro (*Oncifelis colocolo*) também ocorrem. No Brasil, o gato-do-mato-pequeno é encontrado em florestas de montanhas subtropicais, florestas secundárias e cerrado, além de ambientes tão diferentes como o Pantanal e a Caatinga (OLIVEIRA, 1994). Muito pouco é conhecido de seu comportamento e ecologia na natureza.

O gato-do-mato-pequeno é bom escalador, muito ágil em árvores, mas eles não descem dos troncos, com a cabeça para baixo, como fazem os gatos-maracajás. Exemplares grandes de gato-do-mato-pequeno e pequenos de maracajá podem ter o mesmo tamanho e dividir o mesmo habitat, porém os gatos-do-mato-pequeno geralmente caçam presas menores. Isso permite compartilharem sua área de distribuição com jaguatiricas e maracajás com pequena

competição por alimentos. As limitadas informações a respeito de sua alimentação sugerem roedores, pequenos primatas tais como sagüis e micos, aves, insetos e répteis. São de hábitos noturnos e solitários, exceto na reprodução. O período de estro dura vários dias e os machos adultos podem ser muito agressivos com as fêmeas. (BUMSTEAD, 2001).

Essa espécie foi amplamente caçada para o comércio de peles em toda sua área de distribuição. Um relatório sul-americano sobre felinos comercializados entre 1976 e 1982 cita o gato-do-mato-pequeno como uma das quatro espécies mais fortemente exploradas. É difícil avaliar as ameaças a essa espécie quando tão pouco é conhecido sobre ela. Observações de gato-do-mato-pequeno em áreas devastadas e em plantações de eucaliptos em São Paulo sugerem tolerância à alteração de ambiente (BUMSTEAD, 2001).

O gato-do-mato-pequeno é protegido em parte da sua área de distribuição. Exceções são Equador, Guiana, Nicarágua e Peru, onde a caça é permitida. São considerados raros em muitas áreas. Estão classificados no apêndice I do CITES.

2.1.2 Gato-maracajá - *Leopardus wiedii* (Schinz, 1821)

Uma espécie caracteristicamente arbórea, possui tamanho entre o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) e a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) sendo muitas vezes confundida com essas espécies. Seu pêlo macio vai do marrom amarelado ao marrom claro, com pintas pretas, listras e manchas arranjadas em filas longitudinais. A pelagem é mais longa que dos outros felinos manchados. A barriga, peito, garganta e a face interna das pernas são brancos. No gato-maracajá, assim como na jaguatirica, os pêlos são virados para a frente na região da nuca e são conhecidos como pêlos reversos. Os maracajás possuem duas faixas escuras nas bochechas, em cada lado da face. Sua cauda, assim como a de outros mamíferos arbóreos, é muito longa, compreendendo até 70% do comprimento do corpo, marcada por anéis largos e a ponta negra. As orelhas são redondas e sua parte posterior escura possui uma mancha branca. Uma característica bastante marcante, e que o diferencia das outras espécies é o tamanho muito grande dos olhos,

desproporcionais ao tamanho da cabeça (GREEN, 1991). O tom dos olhos é castanho-escuro.

Por ser um animal que vive principalmente em árvores, os maracajás estão restritos a ambientes florestais e têm sido encontrados em florestas tropicais úmidas, decíduas ou perenes, matas de montanhas, áreas pantanosas e ocasionalmente em plantações de café ou cacau com árvores grandes. Distribuiu-se do norte da Argentina ao México, passando por toda a América do Sul (exceto Chile) e Central (figura 3). Estudos com radio-telemetria no Brasil encontraram áreas de ocupação de dezesseis quilômetros quadrados. Grande parte dessa área é compartilhada com a jaguatirica, que se alimenta de presas arborícolas maiores e mais pesadas.

FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE GATO-MARACAJÁ (*Leopardus wiedii*)
FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.



Os gatos-maracajá possuem uma característica única que os permite se moverem e caçarem mais efetivamente nas árvores. Seus pés largos e macios e seus dedos móveis permitem se agarrarem aos galhos das árvores por uma das patas posteriores enquanto os tornozelos flexíveis podem girar o pé em 180°. São

extremamente ágeis e mesmo durante uma queda podem agarrar um cipó com as patas traseiras e voltar a subir. Sua cauda excepcionalmente longa e pesada auxilia no balanço enquanto movimenta-se entre uma árvore e outra. Em algumas áreas, os gatos-maracajá caçam, dormem e têm seus filhotes nas árvores. Quando descem das árvores, caminham lentamente pelo tronco, com a cabeça para baixo, ao contrário dos outros felinos que saltam ou descem agarrados com a cabeça para cima. Animais cativos foram vistos saltando quase seis metros no ar e nove metros horizontalmente (BUMSTEAD, 2001).

São animais primariamente noturnos, como indicam seus olhos. Passam a maior parte do dia descansando em árvores de sete a dez metros de altura (OLIVEIRA, 1994) e suas presas consistem em pequenos roedores arborícolas, gambás, esquilos, preguiças, macacos, ouriços, aves, insetos e ocasionalmente frutas. Muito pouco é conhecido sobre seu sistema social na natureza.

Diferentemente de outros felinos selvagens, os gatos-maracajá apresentam apenas um par de glândulas mamárias. Os jovens são mais escuros que os adultos (BUMSTEAD, 2001).

A perspectiva em cativeiro é desanimadora, assim como com outros pequenos felinos. Além das pequenas quantidades desses animais em programas de reprodução, esses felinos tímidos não reproduzem bem em zoológicos e há quase 50% de mortalidade infantil. Muito pouco é conhecido a respeito do *status* e quantidade de gatos-maracajá em sua área de distribuição. Até as restrições de comércio no final da década de 1980, o maracajá era uma das quatro espécies mais caçadas pela pele. Caça ilegal para comércio local ou para o contrabando de peles continua a ser um problema em diversas áreas. Em 1991 foi verificado que o gato-maracajá possuía a pele mais comercializada no México a despeito do seu estado de proteção. É importante perceber que há um recente aumento na demanda por pele no mercado europeu, o que pode ocasionar aumento na pressão de captura desses animais. Porém, a maior ameaça atualmente aos maracajás, assim como a muitos outros animais, é a devastação florestal e destruição dos ambientes, o que reduz drasticamente sua população. Outra razão para os baixos números dessa espécie é devido a sua especialização. Sua densidade é alta em ambientes florestais. Quando esses ambientes são destruídos, os maracajás são incapazes de se ajustar ao novo ambiente, já que são altamente intolerantes à perturbação

humana. Além disso, os gatos-maracajá são relutantes em cruzar áreas abertas, o que acaba restringindo-os a pequenos pedaços de floresta, onde ocorre consangüinidade (BUMSTEAD, 2001).

A combinação de caça para exploração da pele, captura para utilização como animal de estimação e devastação florestal tem virtualmente dizimado as populações selvagens desse animal. Eles nunca foram comuns e são mais raros que a jaguatirica, tanto em cativeiro quanto em vida livre. Maracajás são legalmente protegidos na maior parte da sua distribuição, exceto no Equador, Guiana e El Salvador. Estão classificados no apêndice I do CITES (BUMSTEAD, 2001).

2.1.3 Jaguatirica - *Leopardus pardalis* (Linnaeus, 1758)

A jaguatirica é a maior espécie entre os pequenos felinos. Seu pêlo é curto e macio, formando duas voltas nos ombros. Os pêlos da região da nuca são voltados cranialmente, como ocorre em gato-maracajá (*Leopardus wiedii*). A cor de fundo varia desde o amarelo pálido ou ocre até cinza avermelhado ou tons de cinza. A pelagem é marcada com grandes rosetas e manchas negras as quais podem se unir ao longo do flanco do animal formando listras horizontais (GREEN, 1991; NOWELL e JACKSON, 1996). Apresentam duas listras negras em cada face, além de listras negras que saem do canto interno dos olhos indo em direção da nuca (GREEN, 1991). A cauda pode apresentar anéis ou barras escuras na superfície dorsal (NOWAK, 1999). Os pêlos da região ventral e interior dos membros são normalmente brancos (NOWAK, 1999; BUMSTEAD, 2001).

Jaguatiricas ocorrem hoje em áreas subtropicais, do México à América Central e na maior parte da América do Sul (ver figura 4), não ocorrendo no Chile (GREEN 1991; BUMSTEAD, 2001). Fósseis dessa espécie foram encontrados na Flórida (E.U.A.). Apesar de muitos autores acreditarem que a espécie ainda exista no Arizona, esses animais são provavelmente originários do México (BUMSTEAD, 2001). Na natureza, as jaguatiricas habitam uma ampla variedade de ambientes, tais como florestas tropicais úmidas, capoeiras secas, cerrados, mangues costeiros e florestas pantanosas. Na Bolívia é vista uma ampla distribuição com o animal ocorrendo dos vales tropicais nos Andes, a 3800 metros de altitude até

áreas baixas no leste. No Brasil ocorre em todas as regiões, exceto o sul do Rio Grande do Sul (OLIVEIRA e CASSARO, 1999). O componente crucial no habitat é a densidade de cobertura, com as jaguatiricas evitando áreas completamente descobertas. Esses animais são moderadamente tolerantes à presença humana e podem coexistir se não houver perseguição.

FIGURA 4 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE JAGUATIRICA (*Leopardus pardalis*)
FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.



As jaguatiricas são uma das poucas espécies de pequenos felinos que foram estudadas em diferentes ambientes. Primariamente noturnas, caçam ao amanhecer e ao anoitecer (GREEN, 1991). Durante o dia passam a maior parte do tempo dormindo em troncos, moitas ou sobre árvores. Elas são territoriais e solitárias, porém GREEN (1991) relata a possibilidade de viverem em pares, ocupando um território bem definido, mas caçando separadamente e mantendo contato por vocalização. Estudos com radio-telemetria em Belize encontraram fêmeas adultas defendendo um território de mais de 14,3 km², enquanto o território dos machos ocupava mais de 31,2 km² e se sobrepondo aos das fêmeas (BUMSTEAD, 2001). Foi verificado que esses animais atravessam uma ou mais

vezes seu território em busca de alimentos, às vezes cruzando completamente esse espaço a cada dois a quatro dias. Os machos geralmente percorrem o dobro da distância percorrida pelas fêmeas (NOWELL e JACKSON, 1996). Isso se deve aos requerimentos de energia e à necessidade de checar a condição sexual das fêmeas da sua área.

As jaguatiricas se alimentam de uma grande variedade de presas, tais como mamíferos de pequeno e médio porte, aves, alguns répteis, anfíbios e insetos. Uma grande porção de capim (20%) é consumida, um fato característico entre outros carnívoros do Novo Mundo (BUMSTEAD, 2001). São excelentes nadadores e escaladores, mas não tão ágeis quanto os gatos-maracajá (*Leopardus wiedii*).

Os filhotes ficam na toca por várias semanas e são dependentes da mãe por vários meses afastando-se desta por volta de dois anos de idade. Jaguatiricas de vida livre podem se reproduzir uma vez por ano nos países tropicais, enquanto que os animais do Texas apresentam uma diminuição no pico reprodutivo, o que pode ser o fator limitante a sua expansão populacional.

Essa espécie foi bastante explorada na natureza para o comércio como animal de estimação, sendo o método usual de captura a morte da mãe para obtenção dos filhotes. Esses animais ainda podem ser encontrados em mercados na América Central e do Sul para serem vendidos a turistas, apesar do transporte ser ilegal sem a devida autorização. Assim como a maioria dos predadores, as jaguatiricas são ocasionalmente abatidas por serem consideradas matadoras de animais de criação (BUMSTEAD, 2001).

Durante as décadas de 1970 e 1980 a população de jaguatiricas diminuiu drasticamente devido a caça pela pele. Atualmente a população também tem diminuído devido à destruição do ambiente e redução das presas. Apesar da espécie ser adaptável e ainda ocorrer na maior parte da sua área de distribuição, sua relativa baixa taxa de reprodução além da necessidade de vegetação densa e grande quantidade de pequenos mamíferos, torna a espécie vulnerável a distúrbios ambientais (NOWAK, 1999).

Apesar de protegida na maior parte da sua distribuição, a caça ainda é permitida no Equador, Guiana e El Salvador. Estão classificadas no apêndice I do CITES.

2.1.4 Puma - *Puma concolor* (Linnaeus, 1771)

O puma possui muitos nomes comuns variando conforme a distribuição geográfica: puma, cougar, leão-da-montanha, onça-parda, suçuarana (onça, mas não a legítima, do tupi), maçaroca (pelo crespo em tupi), lombo preto, ruiva, jaguapita (guarani), leãozinho-baio, leão-da-macega, leãozinho-da-cara-suja, onça-vermelha, leão-baio (LEITE, 2000), "mexican lion", "mountain devil", entre outros. Possui a maior distribuição de latitude entre todas as espécies de felinos selvagens, indo do nordeste da Colúmbia Britânica, no Canadá, ao extremo sul da Patagônia Argentina. Ver figura 5.

FIGURA 5 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE PUMA (*Puma concolor*)
FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.



Devido a sua imensa distribuição, há uma grande variação na cor da pelagem indo de areia a marrom avermelhado e passando por cinza e prateado. O pêlo é curto e grosso, sendo geralmente escuro nas costas e mais claro no peito, barriga e áreas internas das patas. De maneira geral a pelagem é uniforme na cor e

essencialmente sem marcas (BUMSTEAD, 2001). Há uma tendência para os animais avermelhados serem mais comuns em regiões mais quentes, enquanto os exemplares acinzentados serem mais comuns em regiões frias (GREEN, 1991). A cabeça é pequena com manchas de marrom escuro a preto no focinho e com a íris variando de verde dourado a castanho. As orelhas são pequenas e redondas, com coloração variando de cinza a preto no dorso. Os membros anteriores são menores que os posteriores e as pegadas são relativamente largas. Sua cauda é relativamente longa e fina, escurecendo gradualmente até a ponta. Os indivíduos encontrados nas Américas Central e do Sul são menores que os encontrados na América do Norte. Os jovens apresentam a pelagem manchada e a cauda com anéis, os quais desaparecem com o crescimento. Pumas melânicos foram relatados na América Central e do Sul, porém nunca foram registrados na América do Norte (GREEN, 1991). No norte do Brasil os pumas tendem a tonalidade mais marrom-avermelhada. As populações de áreas mais abertas tendem a tonalidades mais claras (OLIVEIRA e CASSARO, 1999).

O puma habita uma série de ambientes, tais como florestas decíduas, de coníferas ou tropicais, pântanos, capinzais ou áreas semidesérticas, do nível do mar a altitudes de 4.500 metros. Estudos com radio-telemetria no Chile demonstraram áreas de distribuição para o puma acima de cem quilômetros quadrados, com os animais cobrindo geralmente mais de dezesseis quilômetros em algumas horas. Incrivelmente adaptáveis e atléticos, os pumas têm grande habilidade em saltar e são bons escaladores. Nadam bem, mas preferem não entrar na água se não houver necessidade. A visão é o sentido mais acurado, a audição é bem desenvolvida enquanto o olfato não é tão aguçado (BUMSTEAD, 2001).

Os pumas têm atividade principalmente noturna e crepuscular, com picos de atividade ao escurecer e na alvorada. Caçam em uma grande área, cuidadosamente aproximando-se da presa e pulando em suas costas, ou agarrando-a após um breve e ágil golpe. A lista de presas pode incluir alces, cervos, renas, esquilos, marmotas, pacas, cutias, ratos e camundongos, lebres e coelhos, guaxinins, coiotes, gambás, catetos, guanacos e também morcegos e gafanhotos. Animais domésticos como ovelhas, cabras, bezerros e cavalos também podem ser atacados. Grandes presas abatidas são geralmente cobertas com vegetação ou lama e o puma fica na vizinhança, retornando freqüentemente para se alimentar.

Entretanto os pumas raramente se alimentam de carcaças de animais abatidos por outros predadores (BUMSTEAD, 2001).

As fêmeas de puma são poliéstricas sazonais e não há uma estação de reprodução claramente definida na maior parte da sua distribuição. A maioria dos nascimentos na América do Norte ocorre do final do inverno à primavera. O período receptivo pode ser maior que nove dias e a associação macho-fêmea ocorre apenas durante esse período. Os filhotes nascem em uma caverna, depressão nas rochas, tronco oco, sob uma árvore caída ou entre vegetação densa e são marcados com manchas marrons escuras, as quais desaparecem gradualmente com o crescimento. Os olhos azuis mudam para amarelo esverdeado ou marrom amarelado dos adultos aos 16 meses. Os pumas jovens permanecerão com as mães até passarem seu primeiro inverno ou muitas vezes até 18 a 24 meses. Os companheiros de ninhada podem caçar juntos por alguns meses após deixarem a mãe (BUMSTEAD, 2001).

Vários povos nativos das Américas veneraram o puma tal como a onça-pintada (*Panthera onca*). A cidade peruana de Cuzco foi construída com o formato de um puma. Os índios Cochiti do Novo México esculpiram estátuas de pedra em tamanho natural e criaram um santuário em sua homenagem. Tribos dos Grandes Lagos acreditavam que sua cauda provocava ondas e tempestades. Missionários cristãos no sul da Califórnia encontraram o puma como um forte obstáculo para o estabelecimento de missões, pois os nativos respeitavam tanto o animal que se recusavam a caçá-lo ou proteger os rebanhos de sua predação. Por ser um dos predadores do topo da cadeia alimentar, o puma foi perseguido sem misericórdia pelo homem. Combinação de armas, venenos, armadilhas e cães de caça foram usados na perseguição, freqüentemente sob tutela dos governos e programas de controle de predadores. Em 1988 quase duzentos pumas foram mortos em um programa do Departamento de Agricultura nos Estados Unidos da América. No sul do Brasil, a criação de gado é realizada geralmente em pequena escala, consorciando-se bovinos, ovinos, caprinos e suínos. Plantações para alimentação do gado fragmentaram consideravelmente as áreas florestais que serviam de refúgio para as presas dos pumas, principalmente veados (*Mazama spp*) e capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (MAZZOLLI *et al.* 2002). Com a diminuição das presas naturais os pumas passam a atacar o gado doméstico. No Parque Nacional de Torres Del Paine, no Chile, assim como em outros locais nas Américas,

os administradores procuram gerenciar o parque e sua fauna selvagem como um ecossistema completo, enquanto os fazendeiros, interessados na proteção de seus animais, vêem o parque como um refúgio de onde os pumas podem atacar os rebanhos e depois se esconder em segurança (FRANKLIN *et al.*, 1999). LEITE (2000) cita em seu trabalho que no Paraguai acreditam que o puma pode matar até 50 ovelhas numa noite, sem ingerir a carne. Entretanto, tais ataques podem ser facilmente confundidos com os realizados por bandos de cães domésticos que passam a viver em bandos em estado selvagem. O puma apresenta 30 subespécies descritas, sendo que três subespécies estão classificadas no anexo I do CITES, enquanto as demais subespécies estão classificadas no apêndice II.

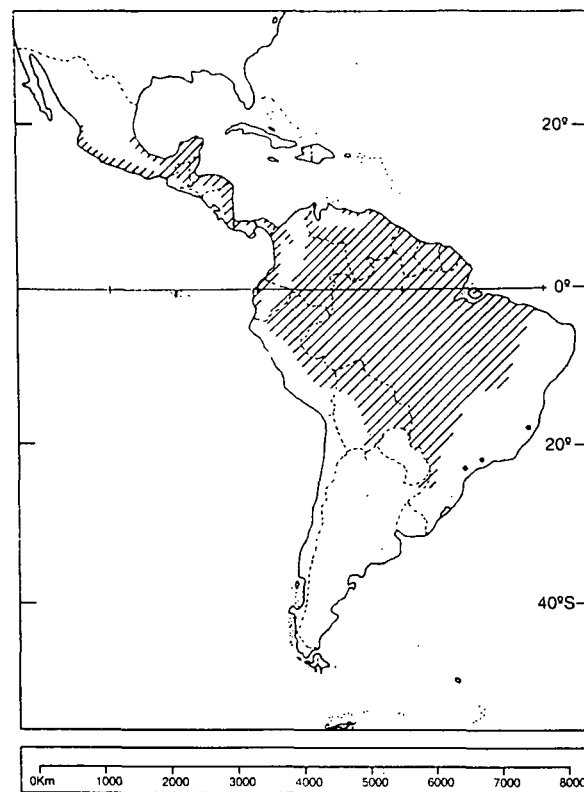
2.1.5 Onça-pintada - *Panthera onca* (Linnaeus, 1758)

A onça é o único representante do gênero de felinos rosnadores (*Panthera*) no Novo Mundo. É o maior representante da família Felidae nas Américas e é superada em tamanho apenas pelo leão (*Panthera leo*) e pelo tigre (*Panthera tigris*) (TEWES e SCHMIDLY, 1987). Também é conhecida como jaguar, jaguaretê, yaguaretê (*iauara* significa onça e *etê* verdadeira, em tupi), tigre, canguçu (cabeça grande, em tupi), preta, pintada, pinima (pintada em tupi), pixuma (preta em tupi) e pinima-malha-larga (LEITE, 2000). Distribuiu-se do México até a Argentina. Antigamente encontrado no extremo sul dos Estados Unidos, é considerado extinto nessa região. Duas visualizações no Novo México, em 1997, foram consideradas como de animais nômades da população do México (BUMSTEAD, 2001). Ver figura 6.

As onças-pintadas são relativamente maiores e mais pesadas que os leopardos, apesar da confusão que geralmente ocorre entre os visitantes de zoológicos. Possuem a cabeça maior e os membros mais curtos e mais grossos que o felino africano. O pêlo curto e denso varia de dourado pálido ou marrom amarelado indo até vermelho ferrugem. A pelagem é marcada com pintas negras na cabeça, pescoço e membros e manchas irregulares escuras sobre as áreas brancas. Os ombros, costas e flancos possuem manchas formando rosetas com as bordas rompidas e contendo um ou mais pontos em uma superfície mais escura que a do

fundo. Melanismo é comum e indivíduos albinos são ocasionalmente relatados. Onças de florestas são freqüentemente mais escuras e menores que as que vivem em áreas abertas (BUMSTEAD, 2001). Onças-pretas podem ocorrer em maior quantidade em áreas densas da Floresta Amazônica, mas não foram relatadas em áreas da América Central ou do Norte (TEWES e SCHMIDLY, 1987).

FIGURA 6 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*)
 FONTE: OLIVEIRA e CASSARO, 1999.



A cabeça é pesada, com o focinho largo e com a cor da íris variando de amarelo dourado a amarelo esverdeado claro. As orelhas são relativamente pequenas, curtas e redondas, com a área periférica negra e manchas centrais brancas. Os membros são curtos e fortes e possuem o coxim plantar largo. A cauda é relativamente curta e espessa, inteiramente manchada e com listras pretas (BUMSTEAD, 2001).

Onças são fortemente associadas com água e habitam florestas ribeirinhas, ao longo dos rios, lagos e cursos de água. São encontradas em terras baixas alagáveis, áreas de arbustos e capinzais como o Pantanal e os Llanos

Venezuelanos. Da mesma forma que foram relatados acima de 3.800 metros na Costa Rica, não passam dos 2.700 metros nos Andes (BUMSTEAD, 2001).

Apesar de serem excelentes nadadores e escaladores, a maioria das predações ocorre no solo. Mais de 85 espécies foram listadas em sua dieta. A caça geralmente é por tocaia ou aproximando-se sorrateiramente e as carcaças das presas podem ser arrastadas por alguma distância. Apesar das grandes presas como antas, catetos, queixadas e cervos serem preferidas, a onça-pintada come quase tudo que possa caçar tal como pacas, capivaras, preguiças, macacos, gambás, ouriços, quatis, lontras, tatus, pássaros, jacarés, iguanas, cobras, tartarugas e peixes. Em muitas áreas o gado doméstico é alojado no habitat primário das onças e passa a ser a presa mais freqüente, principalmente no Brasil e Venezuela (BUMSTEAD, 2001).

As onças são basicamente solitárias e territoriais, marcando principalmente com urina. A área de distribuição varia de 33 km² (machos) e 10 km² (fêmeas) na Península de Yucatan até 142 km² para ambos os sexos no Brasil (BUMSTEAD, 2001). São principalmente noturnas, mas estudos com rádio-telemetria demonstraram que são freqüentemente ativas durante o dia, com picos de atividade no crepúsculo e alvorecer.

A fêmea é poliestrica durante todo o ano, sem estação reprodutiva específica na maioria da sua distribuição, porém na área mais ao norte, a reprodução parece ocorrer em dezembro e janeiro, com os filhotes nascendo em abril e maio. Ao nascerem, os filhotes são cobertos com uma pelagem longa, lanosa de coloração clara e fortemente marcada com manchas pretas redondas no corpo e listras estreitas na face. O período receptivo da fêmea dura aproximadamente treze dias. Os jovens permanecem com a fêmea por um a dois anos e atingem o tamanho final e maturidade sexual aos dois ou três anos de idade para as fêmeas e três a quatro anos para os machos (BUMSTEAD, 2001).

Os jaguares são os maiores felinos no hemisfério ocidental e seu nome deriva de "Yaguara", um termo indígena que significa "a fera que mata sua presa com um salto". Muitas tribos das Américas Central e do Sul têm a imagem das onças ou jaguares como elemento dominante em suas culturas. Na história Maia, a onça simbolizava o sol noturno do submundo, que personificava o medo, o terror da noite e a morte. Os índios Tucano na Amazônia acreditavam que o sol criou a onça como

seu representante na Terra. Os Olmecs no México, assim como muitos outros povos, divinizaram esses felinos e construíram monumentos dedicados a seu culto (BUMSTEAD, 2001).

A floresta tropical amazônica é o ponto forte para esses animais, com densidades populacionais que podem ser tão altas quanto um animal para apenas quinze quilômetros quadrados. Entretanto, as populações de onça têm diminuído em muitas outras áreas e foram eliminadas de muitas partes ao norte e ao sul da sua distribuição natural (BUMSTEAD, 2001). O Parque Nacional do Iguaçu (Paraná) abriga a última população significativa de onças no sul do Brasil (CONFORTI e AZEVEDO, 2003).

Apesar da exploração econômica de sua pele ser um motivo de caça, a maior parte das onças é abatida por fazendeiros. Como a destruição de florestas é grande na América Central, a fragmentação do ambiente florestal isola as populações de onças obrigando-as a procurarem alimento em criações de gado, tornando-as mais vulneráveis à predação humana quando são freqüentemente abatidas, a despeito da legislação protetora. Os ataques ao gado, causados pela onça e também pelo puma, podem ser influenciados por: comportamento inerente ou aprendido, saúde ou *status* do indivíduo, divisão de espaço e recursos naturais entre as duas espécies, prática de manejo adotada nas criações e abundância e distribuição das presas naturais (POLISAR *et al.*, 2003). No Parque Nacional do Iguaçu, a proximidade com as fazendas de criação de gado contribuiu para os conflitos entre humanos e a fauna selvagem. As onças principalmente, mas também os pumas, foram responsabilizados pelos ataques aos bovinos. Entre 1995 e 1997, segundo informações colhidas por CONFORTI e AZEVEDO (2003) entre os moradores da região, cerca de 30 onças foram abatidas ilegalmente dentro da área do parque, a maioria em represália aos ataques à criação. Enquanto as onças são completamente protegidas (no papel) na maior parte de sua distribuição, Equador e Guiana não apresentam proteção legal. Abate de "animais problema" é permitido no Brasil, Costa Rica, Guatemala, México e Peru. Está classificada no apêndice I do CITES.

No quadro 1 estão resumidas algumas informações adicionais sobre a biologia da onça, bem como das espécies descritas anteriormente. Nas figuras 7 e 8 estão ilustradas as espécies de felídeos sul-americanos utilizadas neste trabalho.

QUADRO 1 - DADOS BIOLÓGICOS DAS CINCO ESPÉCIES DE FELINOS SUL-AMERICANOS UTILIZADAS NESTE TRABALHO

	<i>Leopardus tigrinus</i>	<i>Leopardus wiedii</i>	<i>Leopardus pardalis</i>	<i>Puma concolor</i>	<i>Panthera onca</i>
Peso (kg)	1,5 a 3,0	2,6 a 3,9	11,3 a 15,8	22,7 a 73,8	35 a 130,5
Cabeça e corpo (cm)	40 a 55	46 a 79	55 a 100	90 a 153,7	110,5 a 175,4
Cauda (cm)	25 a 40	33 a 51	30 a 45	46,9 a 81,5	40 a 68
Gestação (dias)	74 a 76	76 a 85	70 a 80	80 - 96	90 a 115
Nº filhotes	1 a 3	1	1 a 3	2 - 4	1 a 4
Peso ao nascer (g)	58 a 116	84 a 170		226 a 453	700 a 900
Desmame (Meses)	2 a 3	2		3	4 a 5
Longevidade (anos)	23	20	27	21	22

Fonte: BUMSTEAD, 2001

FIGURA 7 - EXEMPLARES DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*) - Lti, GATO-MARACAJÁ (*Leopardus wiedii*) - Lwi E JAGUATIRICA (*Leopardus pardalis*) - Lpa. FOTOS ZIG KOCH.

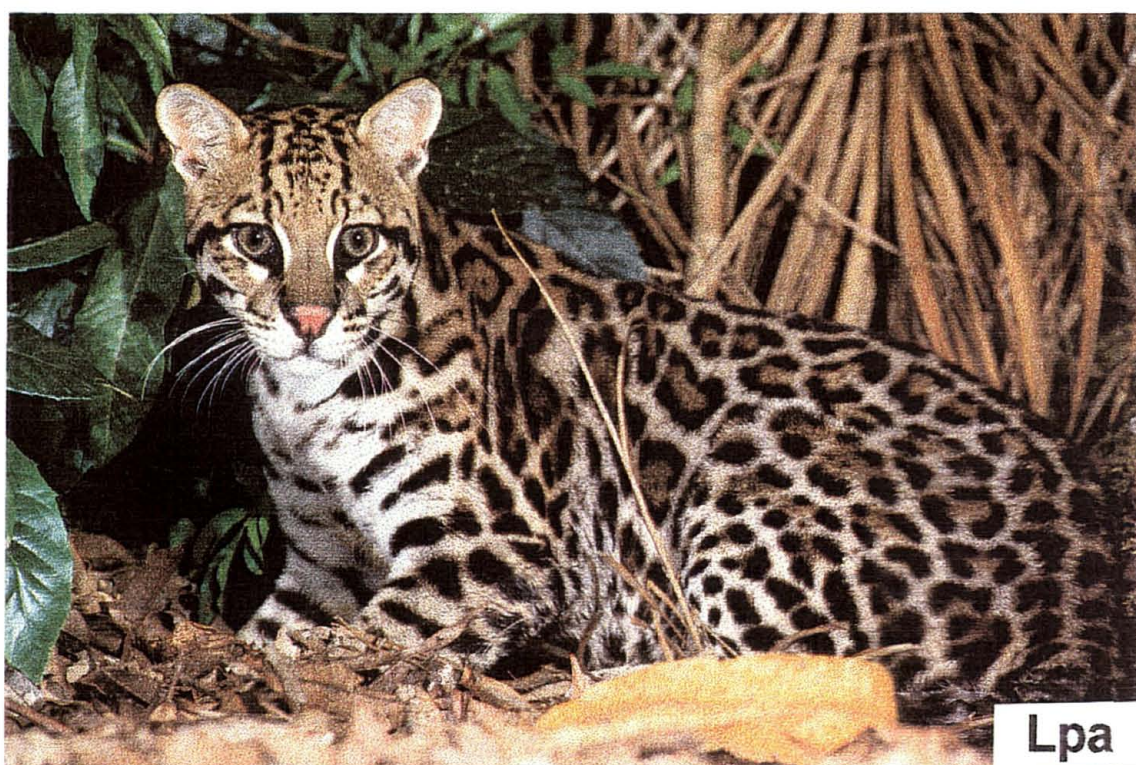
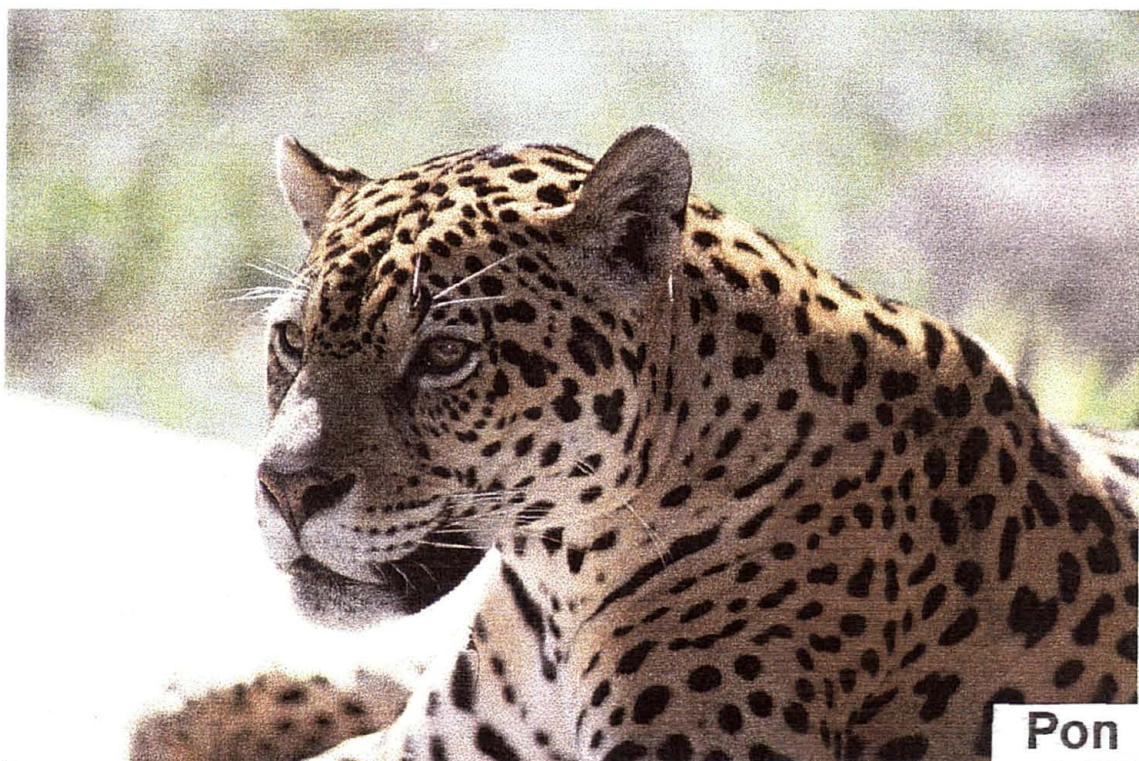


FIGURA 8 - EXEMPLARES DE PUMA (*Puma concolor*) - Pco E ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*) - Pon. FOTOS ZIG KOCH.



2.2 Estresse

Assim como os demais grupos animais, os felídeos mantidos em cativeiro sofrem estímulos estressores provocados por alterações em seus hábitos, muitas vezes em função do espaço disponível, tais como a presença próxima de suas presas e/ou predadores, excesso de população, falta de privacidade e principalmente a proximidade com os humanos. A preocupação com o bem-estar animal tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, porém a própria definição de bem-estar ou como medi-lo ainda continua em debate. Um bom indicador de bem-estar é a ausência de estresse crônico (MOSTL e PALME, 2002).

Não há uma definição padrão para estresse, sendo que o mesmo pode ser considerado como uma resposta do organismo, desencadeada a partir da interação do animal com o meio que o cerca. Pode ainda ser considerado como o conjunto de reações do organismo a agressões de ordem física, psíquica, infecciosa e/ou outras, capazes de perturbar a homeostase ou a manutenção do equilíbrio orgânico através de processos fisiológicos coordenados (FOWLER, 1986).

O termo estresse (do inglês *stress*) foi usado inicialmente na física para traduzir o grau de deformidade sofrido por um material quando submetido a um esforço ou tensão. Hans Selye (1907-1982) transpôs este termo para a medicina e biologia, significando esforço de adaptação do organismo para enfrentar situações que considere ameaçadoras a seu bem-estar e à sua vida (BALLONE, 2002). Concordando com a maioria dos autores, utilizamos a expressão "adaptação do organismo", porém alguns autores preferem utilizar o termo "acomodação" (FONTAINE, 1993), considerando que o termo "adaptação" seria melhor empregado para as alterações ocorridas durante a evolução da espécie.

O estresse é, na verdade, o principal componente dos processos de adaptação, podendo esta síndrome ser dividida em três estágios (MOBERG, 1985; KOJIMA, *et al.*, 1995; BERCZI, 1998). Segundo SZABO (1998), Hans Selye dividiu didaticamente o estresse em fases interdependentes e que se apresentam da seguinte forma após a exposição a um ou mais agentes estressores. Na primeira etapa dessa situação ocorre uma reação de alarme, onde todas as respostas corporais entram em estado de prontidão geral. Todo o organismo é mobilizado sem envolvimento específico ou exclusivo de algum órgão em particular. O impulso

gerado pela ação do agente estressor dirige-se à medula espinal e é transmitido ao tálamo e ao córtex, onde é processado e transmitido às áreas motoras que, através da medula espinal, repassam as informações aos nervos periféricos e aos músculos efetores (GUYTON, 1989; ORTH e KOVACS, 1998). Essas respostas são características para cada espécie. O animal pode esquivar-se, debater-se, tentar fugir, correr, esconder-se, adotar posturas defensivas, vocalizar ou agredir. Na tentativa de fugir podem ocorrer traumatismos tais como contusões, concussões, lacerações cutâneas, lesões nervosas, hematomas ou fraturas. (FOWLER, 1986).

Durante a reação de alarme, o Sistema Nervoso Autônomo (SNA) participa ativamente das alterações fisiológicas por meio de um complexo conjunto neurológico que controla, autonomamente, todo o organismo, através da ativação e inibição dos diversos sistemas, vísceras e glândulas (BALLONE, 2002). A reação de alarme subdivide-se em dois estados, a fase de choque e a fase de contra-choque. Durante a fase de choque predomina a atuação do Sistema Simpático, o qual proporciona descargas de adrenalina da medula da glândula adrenal e de noradrenalina das fibras pós-ganglionares. A liberação de catecolaminas como a adrenalina e noradrenalina induz uma série de sinais clínicos, sendo os mais comuns a vasodilatação da musculatura esquelética e cardíaca, vasoconstrição da pele e intestinos, hipertensão arterial, hiperglicemia, broncodilatação, aumento da taxa metabólica, midríase, piloereção e fasciculação muscular (GUYTON, 1989; ORTH e KOVACS, 1998). As alterações fisiológicas na fase de choque incluem ainda taquicardia, contração esplênica, taquipneia, liberação de glicose hepática, redistribuição do fluxo sanguíneo, aumento da capacidade de coagulação, aumento no número de linfócitos circulantes e inibição da digestão e da produção de saliva. A reação de alarme altera a resposta do organismo a uma série de drogas incluindo as usadas na contenção química (FOWLER, 1986). Durante a estimulação aguda (fase de choque da reação de alarme), o hipotálamo promove a liberação do hormônio liberador da corticotrofina (CRH) o qual estimula a hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), este ganhando a corrente sanguínea e estimulando as glândulas adrenais para a secreção de corticóides (CANTAROW e TRUMPER, 1975; CHROUSOS, 1998). Animais adrenalectomizados (ou hipofisectomizados) apresentam um considerável declínio na resistência ao estresse ou estímulos

estressores. A exposição ao frio, por exemplo, facilmente tolerada em animais normais, é fatal em animais sem glândulas adrenais. Da mesma forma, injeções subcutâneas de pequenas quantidades de histamina ou formaldeído matam os animais adrenalectomizados, enquanto são toleradas pelos animais normais que respondem a esses estímulos com um aumento no tamanho da adrenal. Nos animais hipofisectomizados, o córtex adrenal não responde aos estímulos, os quais podem ser fatais. Um pronto aumento nos níveis dos glicocorticóides no sangue pode ser demonstrado após a aplicação de um estímulo estressor. A resistência a muitos tipos de estresse parece ser dependente dos hormônios adrenocorticais, especialmente os glicocorticóides (CANTAROW e TRUMPER, 1975).

Toda a seqüência de acontecimentos descrita anteriormente tem origem no cérebro e o hipotálamo acaba disparando a sucessão de eventos. Ao mesmo tempo em que hormônios estimuladores hipotalâmicos induzem na adeno-hipófise a secreção do ACTH, outros neuro-hormônios, como as endorfinas (que modificam o limiar para dor), somatotropina ou hormônio do crescimento (que acelera o metabolismo) e prolactina, também vão ser liberados (BALLONE, 2002). A liberação do ACTH pela hipófise em resposta às várias formas de estresse é dependente dos centros hipotalâmicos localizados na região paramediana do hipotálamo. Destruição experimental desses núcleos evita a liberação de ACTH pela hipófise após um agente estressor (CANTAROW e TRUMPER, 1975). Desaparecendo os agentes estressores, todas essas alterações tendem a ser interrompidas e regredirem. Se por alguma razão o organismo continuar submetido à estimulação estressante, é obrigado a manter seu esforço de adaptação e uma nova fase acontecerá.

Se o estímulo estressor continua por um período mais longo, sobrevem a segunda fase, chamada de fase de resistência, a qual acontece quando a tensão sobre o organismo se acumula. Neste estágio o organismo começa a ajustar-se aos estímulos causadores do estresse e entra num estado de resistência ou adaptação, para suportar o estresse por um período de tempo mais longo. Neste estado, a reação pode ser canalizada para um órgão específico ou para um determinado sistema, seja o sistema cardíaco, a pele, o sistema muscular ou o aparelho digestório. A fase de resistência se caracteriza, basicamente, pela hiperatividade da glândula adrenal sob influência do hipotálamo e hipófise. Nesta fase mais crônica,

há um aumento no volume da adrenal, concomitante a uma atrofia do baço e das estruturas linfáticas e um continuado aumento das células brancas. Se os estímulos estressores continuam, tornando-se crônicos e repetitivos, a resposta começa a diminuir de intensidade e pode haver uma antecipação das respostas. As respostas metabólicas adversas provêm da estimulação contínua do córtex adrenal e conseqüente produção de cortisol. Em resposta a esses estímulos podem ocorrer modificações físicas ou psicológicas. Os sinais clínicos podem incluir fraqueza muscular, tremores, alopecia bilateral simétrica, atrofia de músculos temporais, dilatação de abdômen, perda de peso, aumento da susceptibilidade a infecções, queda de resposta imunitária e conseqüente falha vacinal, hipertensão arterial, má cicatrização e poliúria ou polidipsia (FOWLER, 1986). O estresse crônico afeta o número de leucócitos circulantes. A atividade de linfócitos e eosinófilos é diminuída enquanto o número de neutrófilos aumenta. Os dados de patologia clínica são alterados, dificultando o uso de exames laboratoriais (hemograma e bioquímico). As alterações comportamentais incluem tendências anti-sociais, aumento da agressividade, recusa na alimentação, enquanto outros indivíduos podem apresentar polifagia, adipsia ou polidipsia. Pode ser observado aumento ou diminuição da sexualidade. Masturbação ou copulação excessiva são exemplos de hipersexualidade, sendo um dos quadros mais freqüentemente encontrados, principalmente em primatas (FOWLER, 1986).

O estado de resistência é a soma das reações gerais não específicas que se desenvolvem como resultado da exposição prolongada aos agentes estressores, frente aos quais desenvolveu-se adaptação. Entretanto, na condição crônica, a energia dirigida para a acomodação do indivíduo ao estímulo estressor é limitada e, se o estresse ainda continuar, o organismo todo pode entrar no terceiro estágio, conhecido como estado de exaustão, onde haverá queda acentuada da capacidade adaptativa (LAUC *et al.*, 1998). Essa fase é grave, levando alguns organismos à morte. Começam a falhar os mecanismos de ajuste e ocorre redução das reservas de energia. A maioria dos sinais somáticos e psicossomáticos fica mais exuberante nessa fase. As modificações biológicas que aparecem nessa fase se assemelham àquelas da reação de alarme, mais precisamente às da fase de choque. Mas nesta fase o organismo já não é capaz de se ajustar e sobrevem a falência adaptativa (BALLONE, 2002).

2.3 Hormônios adrenocorticais e função reprodutiva.

A descoberta dos mecanismos metabólicos, imunológicos e neuroendócrinos tornou possível descrever a reação de estresse em termos fisiológicos. Como já citado anteriormente, um conjunto de hormônios (ACTH, glicocorticóides, catecolaminas, prolactina, etc.) está envolvido com a resposta ao estresse. As glândulas adrenais têm um papel-chave nas reações hormonais ao estresse por estarem envolvidas tanto no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal quanto no sistema simpático-adrenomedular. Situações adversas disparam as respostas das adrenais resultando em um aumento da secreção de glicocorticóides e catecolaminas. Esses aumentos são a linha de frente dos mecanismos endócrinos de defesa do organismo contra condições estressantes (MOSTL e PALME, 2002). A concentração dos corticóides é regulada de três maneiras diferentes: o ritmo circadiano, a retroalimentação negativa e o estresse.

As concentrações plasmáticas de cortisol não são constantes durante o dia. Nos animais de hábitos diurnos são altas logo antes de acordar, diminuindo gradualmente durante o período de atividade até chegar nos valores mais baixos próximo ao momento de dormir, voltando a aumentar apenas quatro horas antes de acordar. O ritmo circadiano é mantido pela secreção de ACTH pela hipófise e é controlado por um intrínseco mecanismo de "relógio biológico" e mediado pela variação no CRH, secretado pelo hipotálamo (CHROUSOS, 1998).

Além do ritmo circadiano, a retroalimentação negativa é outro mecanismo de controle que opera sob condições basais, pelo qual CRH, ACTH e a secreção de cortisol são reduzidos ou inibidos quando os níveis de corticosteróides plasmáticos estão muito altos e, ao contrário, aumentados quando os níveis destes estão inadequadamente baixos (CANTAROW e TRUMPER, 1975).

A resposta do córtex adrenal aos agentes estressores (produção e liberação de hormônios adrenocorticais aumentada e eventual hiperplasia) é mediada pelo ACTH. O estímulo estressor provoca as mesmas mudanças no colesterol adrenal e há um grande aumento na taxa de cortisol e corticosterona. Esse aumento na secreção de corticosteróides ocorre independente do horário ou do mecanismo de retroalimentação. Portanto, o mecanismo de estresse é muito

mais poderoso que os outros mecanismos de controle e os níveis de corticóides plasmáticos podem ser encontrados mais elevados do que em condições basais (GUYTON, 1989; ORTH e KOVACS, 1998).

Se doses suprafisiológicas de glicocorticóides são administradas a um animal por muito tempo, a secreção de CRH e ACTH é diminuída ou suprimida pelo mecanismo de retroalimentação negativa. Além disso, não ocorrem as respostas normais de secreção pelo hipotálamo e hipófise em resposta ao estresse e também não há aumento na produção de glicocorticóides, pois o córtex adrenal poderá estar atrofiado devido à falta de secreção basal de ACTH. O hormônio do crescimento (GH), que é secretado em resposta a estímulos estressantes, também está suprimido pelo tratamento de longa duração com glicocorticóides. Entretanto a liberação de adrenalina pela medula da adrenal está normal nessas condições (CANTAROW e TRUMPER, 1975, GUYTON, 1989; ORTH e KOVACS, 1998).

Como um mecanismo fisiológico, o estresse por si só não é negativo. Por exemplo, os glicocorticóides são liberados em situações que não são necessariamente "estressantes" como a corte, o acasalamento ou a caça. Além disso, os mesmos hormônios que aumentam durante as situações de estresse fazem parte de uma seqüência que causa o parto em algumas espécies. Durante estimulação aguda ou de curta duração, os glicocorticóides promovem ajustes para mobilização de energia (MOSTL e PALME, 2002). O cortisol é um potente inibidor da reação induzida por agentes bacterianos, físicos ou químicos. Esses efeitos antiinflamatórios incluem inibição da marginação vascular dos leucócitos, inibição da migração dos leucócitos dos capilares e inibição da formação de fibrina e acúmulo de fluído edematoso. Há também diminuição da permeabilidade capilar na área inflamada. Apesar desses efeitos serem em alguns casos prejudiciais, como nas infecções bacterianas, eles podem ser desejáveis em outros tipos de inflamação (GUYTON, 1989).

Na condição de estresse, a função gonadal também pode ser alterada, sendo que uma das mais importantes alterações ovarianas induzidas pelo estresse é a infertilidade ocasionada pela falta de ovulação (CHROUSOS, 1998; BALLONE, 2002). A função ovariana é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-ovariano, a partir da secreção das gonadotrofinas hipofisárias: o hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH), os quais, por sua vez, estão sob controle da

secreção pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), um potente neuro-hormônio elaborado no hipotálamo. Uma série de fatores hormonais e neuroendócrinos modulam positiva ou negativamente a secreção pulsátil do GnRH, em especial o retro-controle exercido pelos esteróides gonadais e pelas gonadotrofinas. Os glicocorticóides podem inibir a secreção de GnRH e de gonadotrofinas, resultando numa menor produção de estradiol e reduzindo a chance da concentração de LH atingir o valor de pico necessário para a indução da ovulação (CALOGERO *et al.*, 1998).

Muitos autores citam o efeito direto ou indireto dos hormônios adrenocorticais sobre a função gonadal (BAMBINO & HSUEH, 1981; McGRAY, 1984; SAPOLSKY, 1985; CHROUSOS, 1998; CALOGERO *et al.*, 1998). Em mulheres pode ocorrer a anovulação psicogênica, desencadeada por estresse psicológico e na ausência de doença orgânica. Ocorre, provavelmente, por aumento da atividade dos neurônios dopaminérgicos e dos opiáceos endógenos que levam a uma redução na frequência e na amplitude dos pulsos do GnRH. Por falta de GnRH deixam de ser secretados os hormônios hipofisários e ovarianos em quantidade suficiente para promover a ovulação (BALLONE, 2002). Em pequenos felídeos, os baixos níveis reprodutivos estão relacionados a fatores estressantes de cativeiro (MELLEN, 1991). Na exposição prolongada aos glicocorticóides, os efeitos do estradiol em seus tecidos-alvo são reduzidos, provavelmente em consequência de uma menor concentração de receptores para estradiol (RABIN *et al.*, 1990).

Informações não divulgadas cientificamente, obtidas junto a profissionais de zoológicos no Brasil, sugerem que, ao contrário dos pequenos felinos, que diminuem o índice reprodutivo natural quando submetidos a condições estressantes, os grandes felídeos, como leão, onça ou puma, apresentam sinais de hipersexualidade, com nascimentos em quantidades preocupantes para muitos zoológicos, como sugerido por FOWLER (1986).

2.4 Cirurgias minimamente invasivas

Técnicas e procedimentos utilizados em animais selvagens podem representar situações adicionais de estresse nos indivíduos mantidos em cativeiro (FOWLER, 1986). Dessa forma, procedimentos de diagnóstico ou tratamento realizados com técnicas cirúrgicas de mínima invasão (CMI) tal como a laparoscopia, em comparação com as técnicas cirúrgicas abertas, podem ser úteis quanto à redução do trauma cirúrgico e período pós-operatório, além de menor grau ou melhor resolução do estresse operatório. Animais submetidos a laparoscopias têm menor incidência de infecções pós-operatórias em comparação com cirurgias abertas. Diferentes fatores poderiam estar implicados nesses melhores resultados da laparoscopia, incluindo o uso do CO₂ atmosférico, menor dissecação das estruturas abdominais, menor troca de temperatura e uma melhor preservação da resposta imune peritoneal e sistêmica.

Diversas citações demonstram a grande aceitação do uso de técnicas e equipamentos endoscópicos rígidos para CMI em humanos e animais domésticos (COOK e STOLOFF, 1999). Pacientes humanos submetidos a diferentes processos cirúrgicos urológicos, mediante laparoscopia em comparação com cirurgia aberta, apresentaram os níveis séricos de interleucina (IL)-6 e IL-10 maiores nas cirurgias abertas demonstrando que a laparoscopia é marcadamente menos estressante (MIYAKE *et al.*, 2002). Pacientes humanos apresentando cálculo biliar foram submetidos a colecistectomia via laparoscopia e técnica convencional. As concentrações de cortisol sanguíneo aumentam consideravelmente tanto na cirurgia aberta quanto na laparoscopia, porém a taxa de cortisol é significativamente maior nos procedimentos convencionais do que na laparoscopia (ENGIN *et al.*, 1998). A laparoscopia diagnóstica pode ser indicada para o controle do pós-operatório nos casos de embolismo mesentérico e peritonite difusa afim de evitar o estresse de uma segunda operação para acompanhamento nos pacientes comprometidos ou para assegurar a indicação de uma nova laparotomia (WACLAWICZEK *et al.*, 1997). A ressecção hepática por laparoscopia resulta em uma menor resposta de estresse quando comparado com cirurgia aberta (BURPEE *et al.*, 2002). Em animais e humanos, a laparoscopia resulta em níveis séricos diminuídos de CRP (C-reactive protein) durante e após o procedimento. Procedimentos para nefrectomia por

laparoscopia apresentaram os menores aumentos de interleucina-6, quando comparados a nefrectomia unilateral aberta (FORNARA *et al.*, 2000). Em cães domésticos, as concentrações de cortisol sérico diminuem rapidamente após laparoscopias quando comparadas a cirurgias abertas, indicando um menor grau ou uma resolução mais rápida do estresse cirúrgico (MARCOVICH *et al.* 2001). Cirurgias como a gastropexia podem ser fácil e rapidamente realizadas, resultando em uma forte adesão fibrosa entre o estômago e a parede abdominal, causando mínimo estresse aos animais (RAWLINGS *et al.*, 2001).

Em animais selvagens, a laparoscopia tem sido utilizada em diversas situações clínicas tais como biópsia renal ou hepática, assim como de massas na cavidade abdominal (COOK e STOLOFF, 1999). Em babuínos (*Papio spp*), foram utilizados procedimentos laparoscópicos para obter-se grandes quantidades de amostras seriadas de fígado e baço a fim de se medir a resposta inflamatória durante vários estágios de esquistossomose, permitindo a colheita com mínimo estresse aos animais. A laparoscopia pode ser utilizada para biópsias a fim de caracterizar a resposta da doença, confirmar a histologia do órgão normal antes da utilização de estudos com drogas tóxicas, determinar as concentrações da droga nos órgãos alvo em estudos farmacocinéticos e medir os resíduos das drogas. Esse refinamento pode produzir redução da quantidade de animais necessários para um experimento, por diminuir os efeitos da cirurgia, otimiza o bem-estar animal, permitindo repetidas medições em um mesmo indivíduo que serve como próprio controle (D'HOOGHE *et al.*, 1996). Técnicas de CMI foram utilizadas para realização de biópsias renais em tigres (*Panthera tigris*), guepardos (*Acinonyx jubatus*) e pandas-gigantes (*Ailuropoda melanoleuca*) e para biópsias hepáticas em guepardos (COOK e STOLOFF, 1999).

A imunossupressão é uma consequência do estresse cirúrgico e trauma, e as mudanças pós-operatórias no sistema imune são proporcionais ao grau do trauma cirúrgico. A imunossupressão pode estar relacionada com aparecimento de infecções ou formação de metástases tumorais pós-operatórias. A laparoscopia reduz a magnitude do trauma cirúrgico preservando as defesas imunológicas pós-operatórias. A resposta imune sistêmica é significativamente menor após colecistectomia por laparoscopia do que por cirurgia aberta. Vários estudos em animais com complicações sépticas pós-operatórias e crescimento tumoral

demonstram que a preservação da resposta imune sistêmica após laparoscopia pode ter enormes vantagens clínicas (SIETSES *et al.*, 1999). Em um experimento (BALAGUE *et al.*, 1999), ratos foram submetidos a laparoscopia com CO₂, levantamento de parede abdominal e cirurgia aberta, com posterior contaminação superficial com *E.coli*. Os animais provenientes do grupo das laparoscopias apresentaram menor crescimento bacteriano quando comparados à cirurgia aberta, porém sem diferenças entre os tipos de laparoscopia. A resposta peritoneal a infecções é melhor preservada nos pacientes submetidos a laparoscopia do que nos procedimentos abertos.

O intestino é o principal órgão na reação ao estresse pós-operatório. Em um ensaio experimental (TUNG e SMITH, 1999), quatro grupos de ratos foram submetidos a laparoscopias com CO₂, ar ambiente, aplicação apenas do catéter e controle. O pneumoperitônio foi mantido por 60 minutos. Após quatro horas os ratos foram mortos e foram colhidas amostras de sangue e mucosa do jejuno para análise de interleucina-6. A IL-6 da mucosa intestinal dos animais submetidos ao ar ambiente foi significativamente maior que os outros grupos. A exposição da cavidade peritoneal ao ar atmosférico, independente da forma do trauma abdominal causa uma exagerada resposta de IL-6 sérica e na mucosa intestinal, quatro horas após a intervenção. O efeito benéfico da laparoscopia com CO₂ pode ser devido a exclusão do ar atmosférico geral da cavidade peritoneal. Em modelos animais, o crescimento de tumores após laparoscopias é menor que após laparotomias e dependem do agente usado na insuflação. Colicistectomia laparoscópica parece estar associada com a atenuação da resposta imune à cirurgia (HARTLEY *et al.* 2001).

2.5 Estresse da laparoscopia

Apesar de muitos trabalhos relatarem menores respostas ao estresse causado por laparoscopia, quando comparado com técnicas tradicionais, alguns autores apresentam resultados semelhantes entre as duas técnicas sugerindo que dependendo das condições do paciente, a laparoscopia induz uma resposta estressora significativa. Os resultados em um estudo realizado com ratos, comparando laparoscopia com procedimentos convencionais no tratamento curativo e/ou paliativo de tumores de fígado e cólon, sugerem que o tipo de operação

intra-abdominal (cólon ou fígado) pode influenciar mais o grau de trauma do que a técnica propriamente dita (KUNTZ *et al.*, 2002). Comparações realizadas em suínos domésticos avaliando-se pressão venosa central, pressão arterial média, pressão dos capilares pulmonares e rendimento cardíaco, indicaram não haver diferenças significativas entre colecistectomia por laparoscopia e por cirurgia aberta, em termos de indução de estresse (MENDOZA-SAGAON *et al.* 2000).

NINOMIYA *et al.* (1998) compararam alterações de rendimento cardíaco e volume do pulso em pacientes humanos submetidos a laparoscopias com pneumoperitônio provocado pela insuflação de ar no abdômen ou levantamento da parede abdominal. Em contraste com o pneumoperitônio, o levantamento da parede abdominal não afetou a função cardíaca nem a hemodinâmica renal. Dessa forma, o levantamento da parede abdominal pode ser útil em pacientes com desordens cardíacas ou renais.

Outro estudo investigou três fatores descritos como sendo estressores fisiológicos na cirurgia por laparoscopia: hipercarbia, pressão intra-abdominal elevada e a inclinação de Trendelenburg. Suínos domésticos foram separados em grupos submetidos a cirurgia aberta, pneumoperitônio com CO₂, pneumoperitônio com Hélio e levantamento da parede abdominal. Nos animais saudáveis não houve diferença significativa entre os grupos. Porém a técnica de levantamento da parede abdominal causou os menores efeitos metabólicos e hemodinâmicos devendo ser levada em consideração quando forem realizadas laparoscopias em pacientes com comprometimento cardiopulmonar, instabilidade hemodinâmica ou insuficiência renal preexistente (HORVATH *et al.*, 1998). Nas laparoscopias realizadas em cães, o estresse pode ser em conseqüência do pneumoperitônio causado pela insuflação de ar (MARCOVICH *et al.* 2001).

2.6 Laparoscopias e reprodução

Em zoológicos, técnicas cirúrgicas com mínima invasão têm sido bastante utilizadas em procedimentos de reprodução assistida (HOWARD, 1999). SUMAR e BRAVO (1991) utilizaram a laparoscopia para observar *in situ* os ovários de lhamas (*Lama glama*) e alpacas (*Lama pacos*). O uso dessa técnica resultou em um mínimo

estresse cirúrgico e permitiu repetidas observações de variados estágios reprodutivos em um mesmo animal. Pôde ser observada a atividade folicular ovariana antes e depois da procriação, tempo de ovulação, formação e regressão de corpos lúteos, morte precoce do embrião, falha na ovulação e os eventos precoces da gestação. Em 1291 laparoscopias realizadas, não foi registrado nenhum distúrbio pós-operatório.

Usando laparoscopia diagnóstica, fêmeas de babuíno (*Papio anubis* e *Papio cynocephalus*) foram examinadas para endometriose clínica, incluindo animais vindos da natureza há menos de um ano, vivendo em cativeiro entre um e dois anos e animais capturados há mais de dois anos. Os resultados indicaram que a prevalência de endometriose aumenta com o tempo em cativeiro, podendo ser explicada pela maior quantidade de ciclos menstruais não interrompidos pela gestação em fêmeas em cativeiro, quando comparadas com fêmeas de vida livre. Podem também estar relacionados com fatores de idade ou estresse associado ao cativeiro (D'HOOGE *et al.*, 1996).

Em 1992, gatos domésticos tratados com eCG e hCG apresentaram nascimentos após laparoscopia e inseminação artificial. Desde então, protocolos semelhantes usando reprodução assistida têm sido utilizados em vários felinos selvagens com o objetivo de melhorar a conservação e o manejo de espécies ameaçadas. A partir das técnicas reprodutivas utilizadas experimentalmente no gato doméstico, tais como a eletroejaculação, a inseminação artificial e/ou a fertilização *in vitro*, já foram relatados sucessos para o puma (BARONE *et al.*, 1994), o guepardo (HOWARD *et al.*, 1992), o tigre (DONOGHUE *et al.*, 1993), o leopardo-das-neves - *Uncia uncia* (HOWARD *et al.*, 1993), a jaguatirica (SWANSON *et al.*, 1996; MORAES *et al.*, 1997) e o gato-do-mato-pequeno (MORAES *et al.*, 1997). Uma das adaptações realizadas a partir da gata doméstica é a deposição intra-uterina do sêmen, via laparoscopia, uma vez que ficou demonstrada a ineficiência da inseminação transcervical, possivelmente pela deficiência no transporte dos espermatozóides e também porque a anestesia utilizada nas fêmeas selvagens pode impedir a ovulação (ROTH *et al.*, 1997).

Entretanto, apesar do sucesso alcançado com a inseminação artificial, o número de nascimentos é menor que os conseguidos por cruzamentos naturais. Com exceção do guepardo e do gato doméstico, as taxas são em geral menores que

10%. Após 22 tentativas de inseminação artificial em pantera-nebulosa (*Neofelis nebulosa*), apenas uma única gestação foi obtida (HOWARD *et al.*, 1993). Em 1996, SWANSON e colaboradores conseguiram apenas uma gestação em dez jaguatiricas inseminadas artificialmente. Conforme estudos iniciais no Brasil, num total de nove inseminações artificiais realizadas em jaguatiricas e gato-do-mato-pequeno, apenas duas gestações foram a termo (MORAES *et al.*, 1997).

Muitos fatores podem explicar o baixo sucesso reprodutivo entre os felídeos submetidos a reprodução artificial. Além de doses inadequadas de hormônios (eCG, hCG) para induzir a ovulação, os próprios procedimentos anestésicos e/ou laparoscópicos podem interferir no sucesso da fertilização e do desenvolvimento do embrião. No exame laparoscópico da genitália antes do início do procedimento de inseminação artificial, para confirmar a presença de corpos lúteos recentes utiliza-se a agulha de Verres para elevar e gentilmente remover a fímbria da superfície dos ovários. Manipular o trato reprodutivo nesse período sensível (periovulatório) pode interromper a captura dos oócitos pela fímbria (ROTH *et al.*, 1997). Estudos sugerem que algum fator, como talvez o tempo da inseminação ou outro componente desconhecido da técnica de inseminação artificial, seja o responsável pelo baixo sucesso e pequeno número de filhotes encontrado após o uso dessa técnica em felídeos. Em ferrets (*Mustela sp*) e cervos (*Cervus sp*), técnicas similares são bem sucedidas apresentando em média 70% de gestação (HOWARD *et al.*, 1997; ROTH *et al.*, 1997).

Um outro fator que pode estar envolvido no baixo sucesso da inseminação artificial por laparoscopia em felinos é o estresse do próprio procedimento. Fêmeas de tigre e de pantera-nebulosa submetidas a terapia com gonadotrofinas e inseminação artificial por meio de laparoscopia tiveram taxas de excreção de corticóides fecais significativamente maiores do que os níveis basais durante dois dias após a inseminação (STILLWELL *et al.*, 1996). Entretanto, não existem dados disponíveis para comparar a intensidade da resposta adrenal de felinos em situações de reprodução natural, já que todas as etapas, desde a aproximação do macho até o término do acasalamento, são potencialmente estressantes para esse grupo composto principalmente por espécies de hábitos solitários. WIELEBNOWSKI *et al.* (2002) avaliando hormônios fecais em 72 exemplares de pantera-nebulosa, durante um período de seis semanas,

encontraram diferenças significativas entre os sexos, com os machos exibindo menores valores de corticóides, possivelmente devido a uma adaptação evolutiva das fêmeas para proteção própria ou de suas crias, sujeitas a ataques de predadores ou do próprio macho. Além disso, por serem animais de hábitos solitários, muitas vezes podem ocorrer graves traumatismos ou morte quando da aproximação em cativeiro, o que pode ser evitado com o uso de inseminação artificial.

2.7 Dosagem de glicocorticóides como indicador de estresse

Como exposto anteriormente, várias respostas endócrinas estão envolvidas para melhorar o estado do indivíduo perante um agente estressor. Os principais hormônios liberados para superar situações estressantes são os glicocorticóides e as catecolaminas. A quantificação desses hormônios pode ser utilizada como parâmetro da atividade adrenal ou sua perturbação. A concentração dos glicocorticóides (ou seus metabólitos) pode ser medida em vários fluidos corporais ou excreções (MOSTL e PALME, 2002). A administração de ACTH é prontamente seguida de aumento na atividade secretora do córtex adrenal e aumento na excreção de hormônios adrenais. Simultaneamente há um decréscimo no colesterol (CANTAROW e TRUMPER, 1975). Ambas as provas podem ser utilizadas na abordagem clínica como provas funcionais dos sistemas de controle da função adrenal.

2.7.1 Cortisol Plasmático

A concentração de cortisol no sangue é amplamente utilizada como um indicador de estresse (MOSTL e PALME, 2002). O aumento dos níveis de cortisol plasmático é utilizado como um indicativo de estresse em estudos comparando procedimentos cirúrgicos em humanos e animais domésticos (SMITH *et al.*, 1999). A concentração de cortisol aumenta em gatos domésticos submetidos a raspados de pele (WILLEMSE *et al.*, 1993) e eletroejaculação (CARTER *et al.*, 1984). O aumento dessa resposta neuroendócrina ao estresse tem sido associado com o aumento da

morbidade pós-operatória em humanos e com a diminuição do consumo de água e alimento, e conseqüente perda de peso em ratos (SMITH *et al.*, 1999). Níveis aumentados de cortisol sérico foram encontrados em dezoito diferentes espécies de mamíferos africanos submetidos a contenção física, química ou ambas, sendo que os animais contidos fisicamente apresentaram níveis mais elevados que aqueles submetidos a contenção química (MORTON *et al.*, 1995). Nesse trabalho, os animais que vieram a óbito apresentaram os níveis plasmáticos de cortisol muito mais elevados que os demais indivíduos.

No caso da família Felidae, NOGUEIRA e SILVA (1997) realizaram dosagens de cortisol sérico em onças-pintadas, pumas, gatos-do-mato-pequeno e jaguatiricas. Medidas de cortisol plasmático foram realizadas em pumas (WILDT *et al.*, 1988; HARLOW *et al.*, 1992), guepardos (WILDT *et al.*, 1984), leopardos - *Panthera pardus japonensis* (BROWN *et al.*, 1988), tigres (BROWN *et al.*, 1988), leões - *Panthera leo* (BROWN *et al.*, 1993), panteras-nebulosas (WILDT *et al.*, 1986) e felinos do gênero *Leopardus* (SWANSON *et al.*, 2003), entre outros. Gatos domésticos foram utilizados em experimentos com mensuração do cortisol sérico por BALDWIN *et al.* (1996), CRAGER *et al.* (1994), PETERSON *et al.* (1994), WILLEMSE *et al.* (1993) e MOON (1997).

2.7.2 Métodos não invasivos para dosagem de hormônios esteróides

Apesar de muito utilizada, a dosagem de cortisol sérico pode apresentar resultados que merecem precaução na sua avaliação, pois, além das variações durante o dia devido ao ritmo circadiano, a colheita de sangue requer confinamento ou manejo dos animais, sendo por si só estressante e podendo confundir os resultados (MOSTL e PALME, 2002). Além disso, a colheita de sangue pode ser, em algumas situações, impossível de ser realizada em algumas espécies selvagens ou de zoológicos devido ao risco ao animal ou à equipe de trabalho. Dessa forma, o uso de métodos não invasivos para medir corticóides (ou seus metabólitos) tornou-se imprescindível na avaliação do estresse entre animais selvagens (PALME *et al.*, 1999). Muitos autores têm investigado métodos não invasivos para dosagens de hormônios esteróides na urina, saliva ou leite. Porém colheita de saliva

ou urina muitas vezes também implicam em confinamento do animal, podendo gerar resultados alterados, enquanto o leite só pode ser usado em fêmeas que estejam em lactação (MOSTL e PALME, 2002). Em animais domésticos a dosagem de glicocorticóides ou seus metabólitos em fezes, urina ou saliva foi realizada em suínos (MOSTL *et al.*, 1999; POL *et al.*, 2002), eqüinos (MOSTL *et al.*, 1999; MERL *et al.*, 2000), bovinos e ovinos (PALME *et al.*, 1999) e cães (BEERDA *et al.*, 1996; BERGERON *et al.*, 2002). Em animais selvagens já foram realizados experimentos não invasivos para dosagem de metabólitos de hormônios esteróides em exemplares de lobo-guará - *Chrysocyon brachyurus* (VELLOSO *et al.*, 1998), chimpanzé - *Pan troglodytes* (WHITTEN *et al.*, 1998), elefante-africano - *Loxodonta africana* (STEAD *et al.*, 2000), hiena - *Crocuta crocuta* (GOYMANN *et al.*, 1999), cervo-de-rabo-branco - *Odocoileus virginianus* (WASHBURN e MILLSPAUGH, 2002), macaco-prego - *Cebus apella nigritus* (LYNCH *et al.* 2002), mono-carvoeiro - *Brachyteles arachnoides* (STRIER *et al.* 1999), ganso - *Anser anser* (FRIGERIO *et al.*, 2001), macaca - *Macaca sylvanus* (WALLNER *et al.* 1999), suricata - *Suricata suricatta* (MOSS *et al.*, 2001) e cão selvagem africano - *Lycaon pictus* (MONFORT *et al.*, 1998), entre outros. Em chimpanzés submetidos a anestesia como agente estressor, picos de corticóides fecais foram encontrados dois dias depois da estimulação (WHITTEN *et al.*, 1998).

Em gatos domésticos, estudos em que foram utilizadas infusões de hormônios radio-marcados, confirmaram que mais de 90% dos metabólitos esteróides são eliminados pelas fezes. Em felídeos selvagens, além da avaliação do cortisol plasmático, muitos avanços foram conseguidos com a análise dos níveis de esteróides fecais. Este método não invasivo permite o controle da função adrenocortical a longo prazo, de maneira mais natural, dispensando os estressantes procedimentos envolvidos na colheita de amostras de sangue, além de apresentar a atividade secretora de determinada glândula de forma global e não apenas em episódios secretores isolados (GRAHAM & BROWN, 1996).

Em 1996, STILLWELL *et al.* avaliaram amostras de sangue e fezes de pantera-nebulosa submetidas a aplicação de ACTH. Valores significativamente maiores de corticóides fecais foram encontrados entre a média basal (141,4 ng/g) e o pico, ocorrido 24 horas após a aplicação de ACTH, (8698,9 ng/g), o mesmo ocorrendo para o cortisol sérico. Além disso, foram também colhidas amostras de

fezes de fêmeas pantera-nebulosa e tigresas submetidas a inseminação artificial, demonstrando aumentos significativos nos corticóides fecais dois dias após o procedimento, em seis dos nove animais.

STILLWELL *et al.* (1996) descreveram também variações entre os valores de corticóides fecais em amostras de guepardo, pantera-nebulosa, leopardo-das-neves, jaguatirica, tigre e gato-das-estepes (*Otocolobus manul*). Os testes revelaram que o kit de radioimunoensaio disponível, utilizado em gatos domésticos, pode ser usado para monitoramento não invasivo da atividade adrenocortical em várias espécies de felídeos selvagens. Os valores reportados para jaguatirica foram de 1920,7 ng/g.

Os níveis basais de corticóides fecais em machos de jaguatirica, gato-maracajá e gato-do-mato-pequeno, foram aumentados em média de quatro a seis vezes após serem submetidos a procedimentos de anestesia e eletroejaculação (MORAIS *et al.*, 1997).

MOREIRA (2001) quantificou hormônios adrenais e gonadais em fêmeas de gato-do-mato-pequeno e gato-maracajá submetidas a três situações de estresse representado pela mudança de recintos. Os animais, inicialmente alojados em recintos amplos e decorados com galhos, troncos e pontos de esconderijo, foram transferidos para recintos menores e sem nenhuma decoração, os quais foram posteriormente decorados. A mudança do recinto grande para o pequeno provocou aumento nos valores de corticosterona fecal e diminuição na atividade ovariana, a qual, mesmo após a ambientação do recinto pequeno, permaneceu reduzida.

Em guepardos, avaliados por TERIO *et al.* (1999), os valores de cortisol sérico e corticóides nas fezes aumentaram além dos valores basais, após aplicações de ACTH. No mesmo estudo, sete fêmeas de guepardo foram submetidas a agentes estressores tais como imobilização, transporte e exposição a um macho. Aumento nos metabólitos fecais foi observado entre 24 e 72 horas após os estímulos. Esse estudo provou que as técnicas de monitoramento não invasivo podem ser úteis na avaliação do estresse a que essa espécie pode estar exposta.

WASSER *et al.* (2000) demonstraram que picos de corticosterona são detectáveis nas fezes de pantera-nebulosa 24 horas após a aplicação de ACTH e 48 horas após aplicação em guepardo.

Em um intenso trabalho realizado com panteras-nebulosas, WIELEBNOWSKI *et al.* (2002) descreveram diversas situações relacionadas a estresse de cativeiro, tais como recintos, exposição ao público, predadores, número de tratadores e comportamentos estereotipados. Da mesma forma que para outros estudos, a aplicação de ACTH promoveu aumentos significativos nos valores de corticóides fecais, verificado 24 horas após a aplicação. A avaliação dos hormônios fecais, durante um período de seis semanas, apresentou diferenças significativas entre os sexos, com as fêmeas exibindo valores mais altos nos corticóides. Correlação negativa foi encontrada entre a altura do recinto e a produção de corticóides, demonstrando a necessidade de recintos adequados ao padrão de cada espécie, principalmente quando se trata de animais de hábitos arborícolas. Altos valores de corticóides fecais foram encontrados também em animais expostos ao público, a seus predadores ou a um número maior de tratadores. Correlações negativas foram encontradas entre o tempo dispensado com os animais e os níveis de corticóides, já que quanto mais tempo um tratador passa com o animal, menor o valor dos corticóides fecais. A auto-mutilação, caracterizada por arrancamento de pêlos ou lambeduras, bem como comportamentos estereotipados, como caminhar, se esconder ou passar muito tempo dormindo foram encontrados entre os animais que apresentaram níveis elevados de corticóides fecais.

CARLSTEAD *et al.* (1992) trabalhando com diferentes espécies de felinos submetidos a transferência de recinto, relataram aumento nos metabólitos de corticóides na urina. As concentrações do cortisol urinário aumentaram sete vezes em gato-do-mato-grande (*Oncifelis geoffoyi*), três vezes em gatos-leopardo (*Prionailurus bengalensis*) e quinze vezes em pumas. Os aumentos foram registrados um dia após a mudança de recinto e permaneceram elevados por cinco dias em gato-do-mato-grande e pumas, e por sete dias em gatos-leopardo. O trabalho relata a dosagem de corticóides na urina como sendo possível, mas, como já citado, entre os felinos cerca de 90% dos metabólitos esteróides são eliminados nas fezes. Além disso, a colheita de amostras de urina é difícil entre esses animais, pois muitas vezes a micção é em forma de *spray*.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e manejos

Para esse trabalho comparativo foram utilizadas fêmeas de felídeos selvagens sul-americanos mantidas em cativeiro e de gato doméstico.

3.1.1 Felídeos selvagens

Foram utilizadas fêmeas adultas de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), puma (*Puma concolor*) e onça-pintada (*Panthera onca*) pertencentes à coleção de felinos do Zoológico de Curitiba (Prefeitura Municipal de Curitiba – PR). Cada animal foi submetido ao procedimento experimental (descrito a seguir), obedecendo-se um intervalo mínimo de seis meses entre os mesmos (Primavera 2001 e Outono 2002). Foram incluídos também resultados obtidos de animais submetidos ao mesmo protocolo em 1998. No quadro 02 estão citados o período da contenção e a identificação dos animais.

QUADRO 02 - IDENTIFICAÇÃO DAS FÊMEAS DE FELINOS SELVAGENS SUBMETIDAS A LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL

	1998	2001	2002	Nº Animais (Procedimentos)
<i>Leopardus tigrinus</i>	Lti 12 Lti 13	Lti 12 Lti 13 Lti 14	Lti 10 Lti 12 Lti 13	04 (08)
<i>Leopardus wiedii</i>	Lwi 04 Lwi 09	Lwi 07 Lwi 08	Lwi 07 Lwi08	04 (06)
<i>Leopardus pardalis</i>	Lpa 10 Lpa 12 Lpa 15 Lpa 16	Lpa 10 Lpa 15 Lpa 17	Lpa 10 Lpa 15 Lpa 17	05 (10)
<i>Puma concolor</i>		Pco 01 Pco 02 Pco 03	Pco 01 Pco 02 Pco 03	03 (06)
<i>Panthera onca</i>		Pon 01 Pon 02	Pon 01 Pon 02	02 (04)

As espécies de pequenos felinos selvagens foram mantidas no Setor Extra do Zoológico, em recintos individuais e fora da exposição ao público. Apesar

de isoladas, as fêmeas continuaram a manter contato visual, auditivo e olfativo com outros animais da mesma espécie (de ambos os sexos) e com a equipe de tratadores e de pesquisa durante a captura e indução anestésica de fêmeas vizinhas. Os recintos eram em forma de bateria, num total de 18 (figura 9). As paredes divisórias eram de alvenaria, enquanto a frente, o fundo e o teto eram de tela de arame, com diferentes malhas adequadas a cada espécie. O piso de alvenaria era recoberto com cerâmica em alguns recintos os quais mediam 2,60 m de comprimento por 2,90 m de largura e 2,00 m de altura e continham uma plataforma de madeira medindo 1,20 m de comprimento por 0,40 m de largura, posicionada a 1,20 m do piso. Como demais elementos decorativos ou de ambientação, existiam galhos, cordas, troncos e caixas de madeira contendo areia. Ao fundo de cada recinto havia uma área fechada para manejo medindo 1,50 m de largura por 1,60 m de comprimento e 1,20 m de altura. Dentro desse manejo havia um estrado e uma caixa de madeira, contendo geralmente palha como substrato (figura 10).

As pumas Pco 01 e Pco 02 estavam alojadas em um único recinto, também no Setor Extra e sem comunicação com o público visitante, distantes cerca de dez metros da bateria de pequenos felinos. Este recinto construído com barras metálicas media 4,50 m de comprimento por 4,30 m de largura e 2,20 m de altura. Possuía ainda um manejo de alvenaria medindo 2,10 m de largura por 1,70 m de comprimento e 1,60 m de altura. O piso era coberto por lajotas cerâmicas e, assim como os demais, possuía estrados de madeira e troncos como forma de ambientação (figura 11).

As duas onças-pintadas estavam alojadas no Setor de Exposição, em um mesmo recinto, há mais de sete anos, estando acostumadas com a presença do público visitante (ver figura 12). A puma Pco 03 era ovariectomizada e mantida em um recinto de exposição, no mesmo setor, junto a um macho adulto. Os recintos de exposição apresentavam uma área coberta, construída em alvenaria, medindo 5,80 m de comprimento por 5,30 m de largura e 3,50 m de altura. A área destinada ao solário e exposição propriamente dita era construída com telas e media 7,00 m de comprimento por 5,30 m de largura e 2,80 m de altura. Cada recinto possuía dois manejos em alvenaria medindo 1,70 m de largura por 2,00 m de comprimento e 1,60

FIGURA 9 - VISTA GERAL DA BATERIA DE RECINTOS PARA PEQUENOS FELINOS, SETOR EXTRA, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI



FIGURA 10 - VISTA DE RECINTO DE PEQUENOS FELINOS, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI

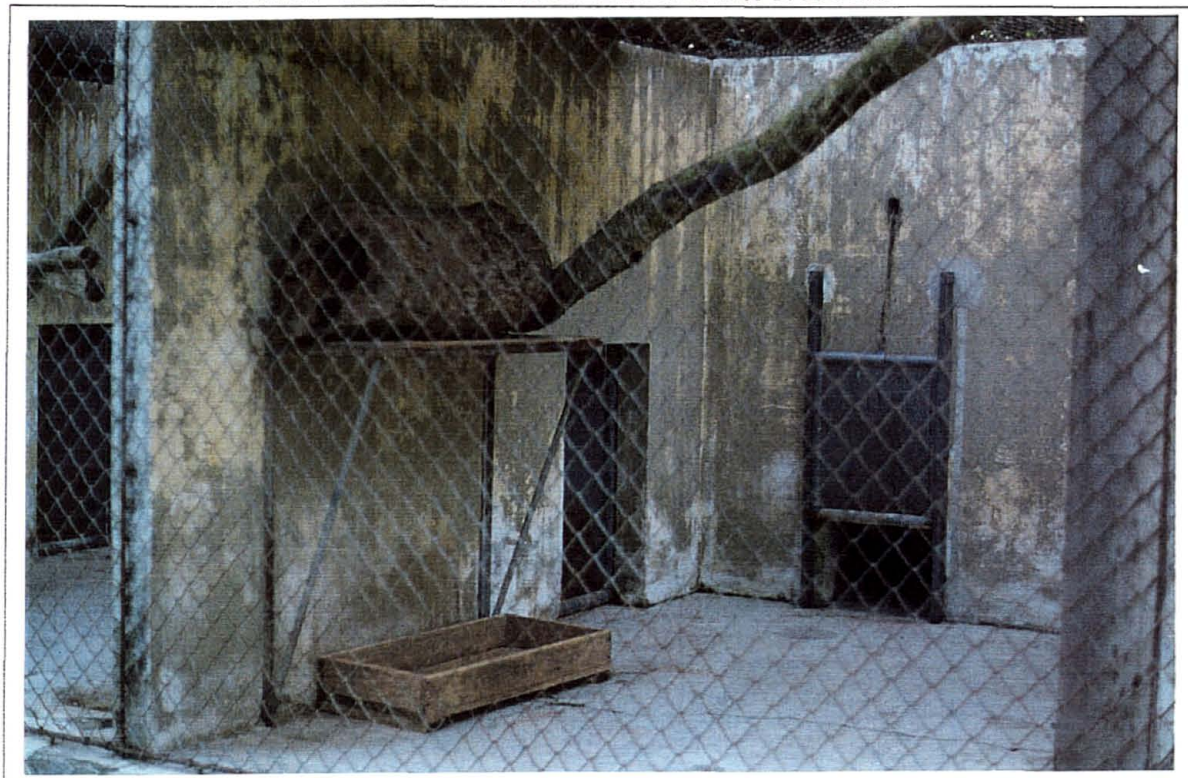
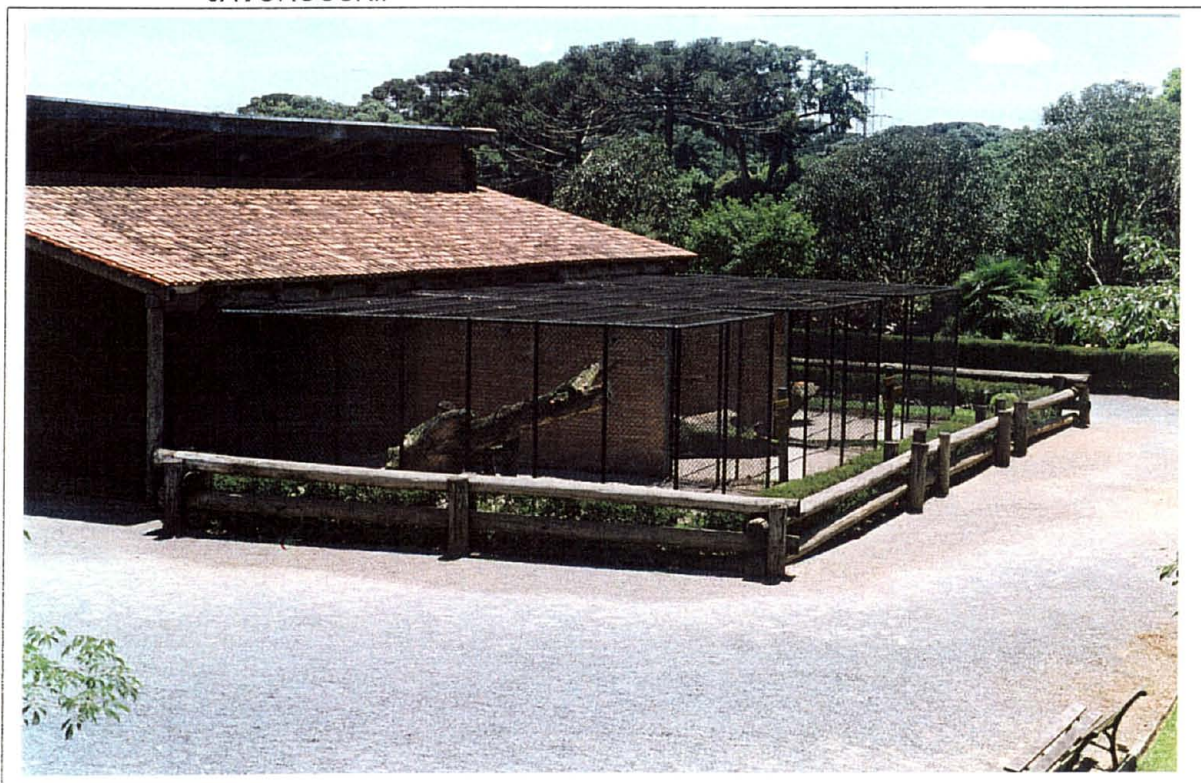


FIGURA 11 - VISTA DE RECINTO PARA PUMAS, SETOR EXTRA, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.



FIGURA 12 - VISTA GERAL DOS RECINTOS DE EXPOSIÇÃO DE GRANDES FELINOS, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2002. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.



de altura. O piso era de tijolos na área coberta e de areia no solário. Cada recinto possuía troncos como elementos de decoração.

A limpeza de todos os recintos era feita pela manhã, entre oito e dez horas, momento em que era feita a colheita de amostras de fezes para dosagem hormonal.

A dieta fornecida consistia de carnes (bovina, eqüina ou dorso de frango) suplementada com vitaminas e sais minerais, baseadas nas necessidades diárias de gatos domésticos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1986) e elaborada pela NUVITAL NUTRIENTES S.A. (Curitiba – PR). Este suplemento era complementado com duas outras fontes de cálcio e fósforo (fosfato bicálcico e carbonato de cálcio) e adicionado ao alimento nas proporções recomendadas por ULREY e BERNARD (1989). Os animais receberam ainda ratos, camundongos, pombos ou coelhos recém abatidos, duas vezes por semana e água *ad libitum*. O horário de fornecimento da alimentação era entre 15:00 e 16:00 horas no Setor Extra e por volta das 17:00 horas no Setor de Exposição. Por estarem em recintos coletivos, as fêmeas Pco 01, Pco 03 e Pon 01 receberam alimentação separadamente e com corante alimentício (*Mago I.A.P.P. LTDA.*), adicionado ao alimento de cada um desses animais, para marcação e diferenciação das fezes entre os indivíduos do mesmo ambiente.

Durante o período de experimentação todas as fêmeas estavam sujeitas à flutuação natural do fotoperíodo e temperatura ambiente.

3.1.2 Gatas domésticas

As gatas domésticas (n=8) foram fornecidas por um criador particular e foram mantidas em recintos individuais localizados no gatil anexo ao Departamento de Anatomia do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Cada recinto possuía em média um metro cúbico, sendo confeccionado em alvenaria e revestido com azulejos. A alimentação foi realizada com ração comercial para gatos (*PURINA*), fornecida duas vezes ao dia e água *ad libitum*. A limpeza dos recintos era realizada pela manhã. As gatas receberam tratamento contra endo (*Ivomec®*, 200 µg/kg, via subcutânea) e ecto-parasitos (*Front-line*

Spray®, *Rhodia-Merieux*, aplicação tópica) ao darem entrada no gatil, além de vacinação contra rinotraqueíte, calicivirose e panleucopenia (*FEL-O-VAC*, *Fort Dodge*). A equipe técnica responsável pela limpeza e colheita de amostras tinha horário e escala pré-determinados. Além de todo cuidado necessário com higiene, alimentação e medidas para evitar o estresse, as gatas eram observadas diariamente para diagnóstico precoce de alguma possível doença.

A mudança de ambiente representa para qualquer espécie animal um agente estressor que pode apresentar, como consequência, alterações comportamentais e até mesmo mudanças de ordem fisiológica, afetando o equilíbrio hormonal e dificultando uma avaliação exata dos resultados obtidos no experimento. Visando minimizar esses efeitos as fêmeas domésticas envolvidas nesse estudo passaram por um período de adaptação de trinta dias antes do início da colheita das amostras de fezes.

3.2 Estimulação dos ovários e indução da ovulação

Como esse trabalho foi realizado em paralelo a um estudo reprodutivo, as fêmeas receberam um tratamento hormonal à base de gonadotrofina coriônica eqüina - eCG (*PMSG*, *SIGMA*), para estimular o crescimento folicular e, cerca de 80 horas após a administração, aplicações de gonadotrofina coriônica humana - hCG (*hCG-SIGMA*), com a finalidade de induzir a ovulação. As fêmeas estavam em anestro comportamental no início do tratamento. As laparoscopias foram realizadas entre 36 e 40 horas após a aplicação de hCG.

Os hormônios foram injetados via intramuscular, com seringa e agulha descartáveis (*B-D*, *Becton e Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda.*, *Curitiba - PR*) após contenção física dos pequenos felinos e gatas domésticas e mediante o uso de dardos (*confecção artesanal a partir de seringas B-D*) e zarabatana nos grandes felinos. A fêmea Pco 03, por ser ovariectomizada, não recebeu aplicação hormonal. A estimulação ovariana foi repetida em cada uma das fêmeas de pequenos felinos após o intervalo de seis meses. Este intervalo minimiza a possibilidade de formação de anticorpos contra as gonadotrofinas exógenas, como destacado por SWANSON

et al. (1997) e a interferência de efeitos sazonais sobre a resposta ovariana (WILDT e ROTH, 1997). As fêmeas de puma e onça-pintada receberam tratamento hormonal apenas na primeira fase do trabalho, sendo submetidas apenas à laparoscopia e manipulação genital na segunda fase.

3.3 Laparoscopia e avaliação genital

3.3.1 Protocolo Anestésico - Felídeos Selvagens

Após jejum de 12 a 24 horas, as fêmeas de pequenos felinos foram contidas quimicamente com 10 mg/kg de cloridrato de cetamina (*Francotar®*, *Virbac*), enquanto as fêmeas de grandes felinos foram contidas com 10 mg/kg de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepan (*Zoletil®*, *Virbac*), via intramuscular. Para aplicação da droga anestésica foram utilizadas seringas e agulhas descartáveis, após captura com rede e contenção física (pequenos felinos). Para as pumas e onças foram utilizados dardos arremessados via zarabatana. Após o período de indução anestésica, os animais foram transportados ao Setor Veterinário do Zoológico de Curitiba, onde foram pesados e preparados para manutenção em anestesia volátil usando-se, primeiramente, máscara facial. A depilação da região abdominal foi realizada após o início da manutenção anestésica volátil. Os pêlos da superfície ventral do abdômen foram aparados entre a porção distal do osso esterno e a porção proximal da pelve e bilateralmente distante da linha alba. O anestésico volátil utilizado foi Isoflurano (*Isoforine®*, *Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos*) aplicado via vaporizador calibrado para Isoflurano, em sistema aberto (*Isotec 3*, *Ohmeda*) com concentrações entre 1 e 2% durante os procedimentos de laparoscopia e avaliação genital. Foram utilizados traqueotubos ou máscaras laringeas, com tamanhos compatíveis para cada animal. O monitoramento das freqüências cardíaca e respiratória foi realizado com uso de estetoscópio, enquanto a saturação de O₂ arterial foi mensurada com pulso-oxímetro (*Nonin Medical, Inc. - E.U.A., Modelo 8500 MV*). Conforme a necessidade foram realizadas correções da quantidade de anestésico volatilizado, em função de diferenças individuais.

3.3.2 Protocolo Anestésico - Gatas domésticas

Os procedimentos nas gatas domésticas foram realizados no bloco cirúrgico do Departamento de Anatomia do Setor de Ciências Biológicas da UFPR. Após período de jejum, que variou de 12 a 24 horas, cada fêmea foi contida manualmente para pesagem e aplicação de cloridrato de cetamina (10 mg/kg) via intramuscular. Após a indução anestésica, os animais tiveram a região abdominal depilada e foram transferidos para a sala de cirurgia. A manutenção da anestesia foi realizada da mesma forma descrita para as fêmeas selvagens.

3.4 Laparoscopia

O equipamento de laparoscopia foi esterilizado por imersão em solução de clorexidina 2,5% (em água morna) por, no mínimo, 20 minutos.

As fêmeas foram colocadas em uma calha de madeira, compatível com o tamanho de cada espécie, e presas à mesma por meio de fitas de polipropileno. O procedimento cirúrgico foi realizado conforme WILDT *et al.* (1997) e é descrito de forma resumida a seguir. Após a assepsia do campo operatório, com uso de aplicações alternadas de poli-vinil-pirrolidona-iodo (PVPI) e álcool glicerinado, uma agulha de Veress foi inserida na cavidade abdominal numa localização caudal à cicatriz umbilical, na área lateral direita. Assim que a penetração abdominal ocorreu, a porção cortante da agulha foi protegida para evitar danos às vísceras. Após aspiração do espaço abdominal usando-se uma seringa descartável estéril, para verificar possíveis ferimentos, foi utilizado insuflador manual de borracha para aplicação de ar ambiente e manutenção da pressão da parede abdominal. Uma pequena incisão foi feita na pele aproximadamente dois a três cm caudalmente ao osso esterno e o animal foi então colocado em posição de Trendelenburg (decúbito dorsal com o posterior elevado em relação à cabeça, em ângulo de aproximadamente 45°), conforme figura 13. Foi inserida uma cânula (*Ethicon Endo-Surgery Inc., Cincinnati, OH*), num ângulo de aproximadamente 60° com a superfície abdominal. O trocarte foi removido, permanecendo apenas a cânula por onde foi inserido o laparoscópio de cinco mm (*Ethicon Endo-Surgery Inc., Cincinnati, OH*) preso pelo cabo de fibra ótica à fonte de luz. Depois de inserido, o

laparoscópio foi acoplado à câmara de vídeo (*Olympus OTV -S2, OES TV System*) para possibilitar visualização em monitor de TV e registrar as imagens obtidas em vídeo-cassete em sistema VHS (figura 14).

As etapas consistiram na inspeção da genitália interna, sendo registrado o tônus, diâmetro aproximado e presença ou não de segmentação nos cornos uterinos, enquanto que os ovários foram avaliados quanto ao tamanho e número de folículos e corpos lúteos, utilizando critérios morfológicos previamente descritos por WILDT e ROTH (1997). A ponta distal da agulha de Veress (com aproximadamente 2 mm de diâmetro) foi usada para estimar o tamanho das estruturas.

Nas fêmeas em condições para inseminação artificial foi introduzida uma segunda cânula, próximo ao ponto de entrada da agulha de Veress, para a colocação de uma pinça com travas (*Ethicon Endo-Surgery Inc., Cincinnati, OH*), a qual foi utilizada para movimentar ou segurar os cornos uterinos (figuras 15 e 16). As fêmeas com pontos recentes de ovulação foram inseminadas *in utero* (ver figuras 17 e 18) conforme HOWARD *et al.* (1992) e BARONE *et al.* (1994), utilizando-se sêmen fresco, colhido por método de eletroejaculação, avaliado e processado de acordo com os métodos descritos por HOWARD *et al.* (1993) e MORAIS (1999).

Depois de completado o procedimento, a mesa cirúrgica foi retornada à posição horizontal. A agulha de Veress e o laparoscópio foram removidos e foi feita uma pressão delicada no abdômen para expulsão do ar da cavidade abdominal via cânula.

A sutura de músculos e pele nos locais onde foram introduzidas as cânulas foi realizada com um ponto Wolff em cada camada, utilizando-se fio categute cromado nº 2-0.

No final da cirurgia os animais foram mantidos apenas com oxigênio, até que fosse detectado algum movimento consciente. As pacientes foram transferidas para caixa de transporte e monitoradas periodicamente para garantir a sua recuperação sem qualquer transtorno. Os animais foram tratados profilaticamente com antibióticos injetáveis (Penicilina G). As fêmeas do gênero *Leopardus* e as fêmeas domésticas retornavam ao recinto logo após o retorno da anestesia, enquanto as fêmeas de grandes felinos geralmente retornavam ao seu recinto no dia seguinte ao procedimento laparoscópico.

FIGURA 13 - INCISÃO DE PELE EM GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*) PARA APLICAÇÃO DA CÂNULA DO LAPAROSCÓPIO, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. NOTAR POSIÇÃO DE TREDENLEMBURG. FOTO ROGÉRIO RIBAS LANGE.

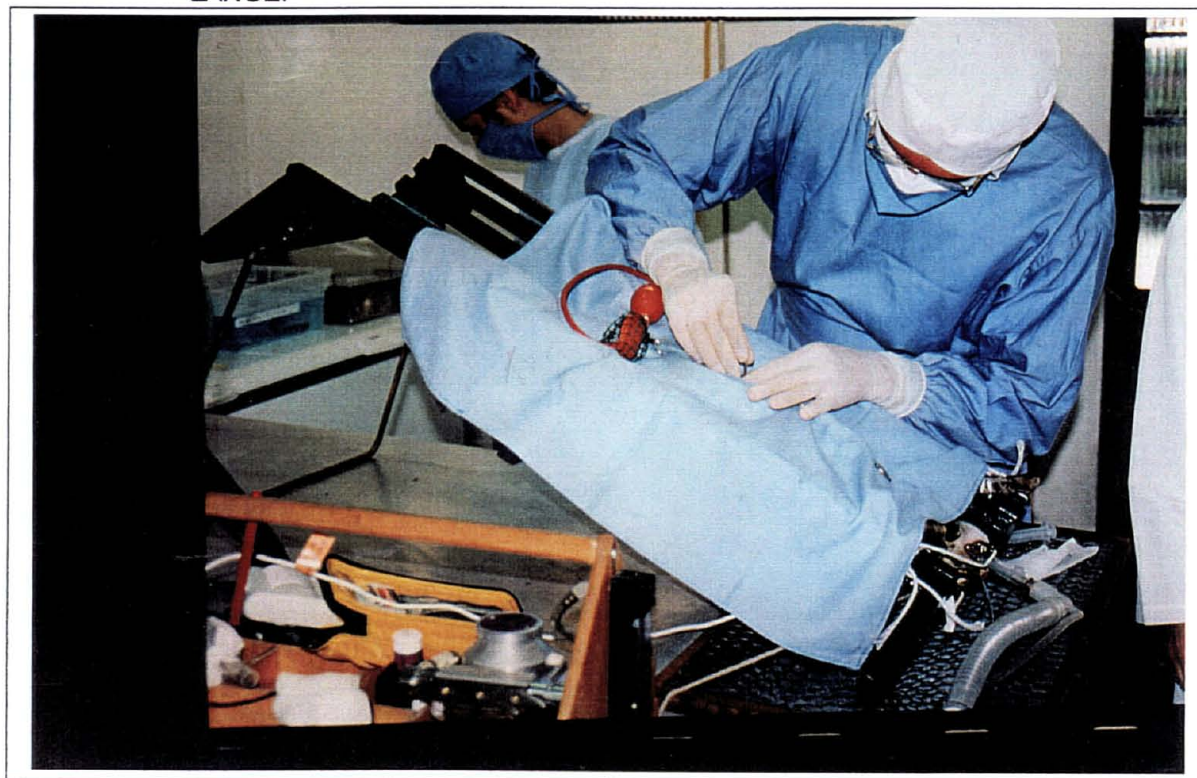


FIGURA 14 - VIDEO-LAPAROSCOPIA EM JAGUATIRICA (*Leopardus pardalis*), COM MANIPULAÇÃO GENITAL, ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. FOTO CESAR BRUSTOLIN, SMCS/PMC.

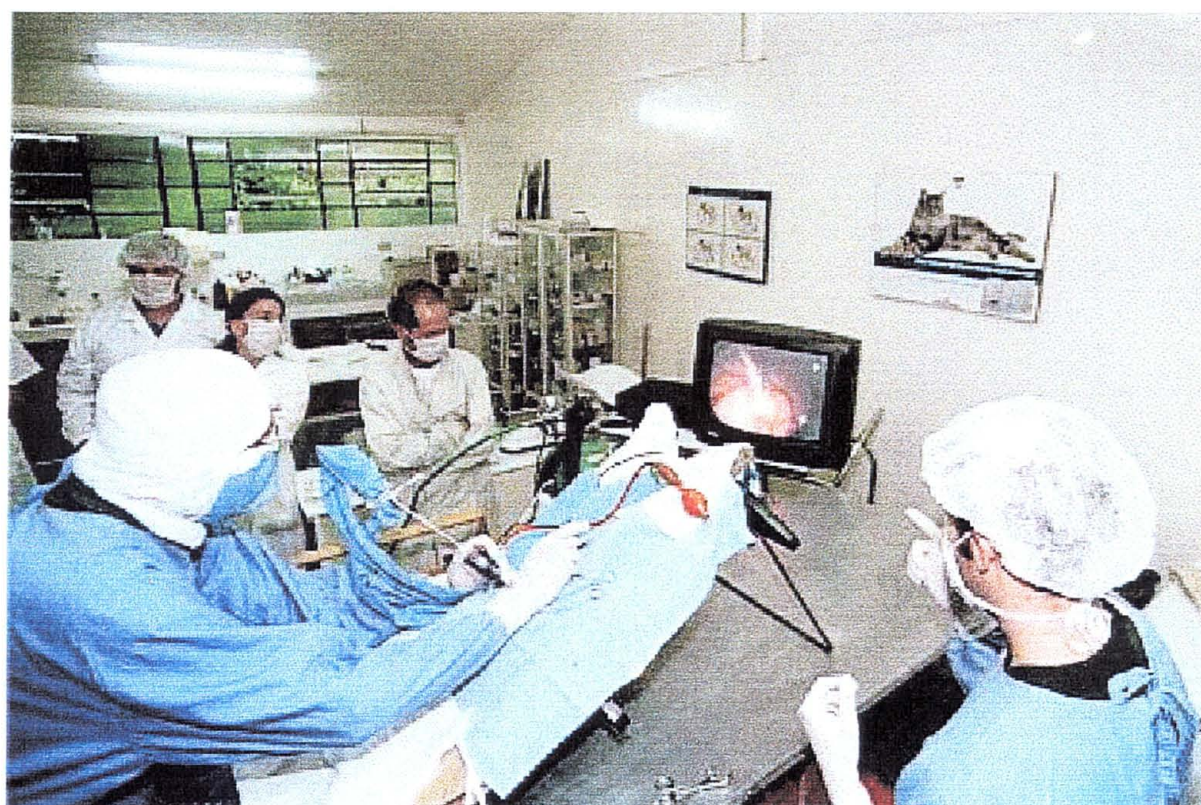


FIGURA 15 - CAMPO CIRÚRGICO DURANTE LAPAROSCOPIA EM GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*). APLICAÇÃO DO SEGUNDO TROCARTE. VERIFICAR AGULHA DE VERESS E PRIMEIRA CÂNULA POR ONDE PASSA O LAPAROSCÓPIO. ZOOLOGICO DE CURITIBA, 2001. FOTO ROGÉRIO RIBAS LANGE.

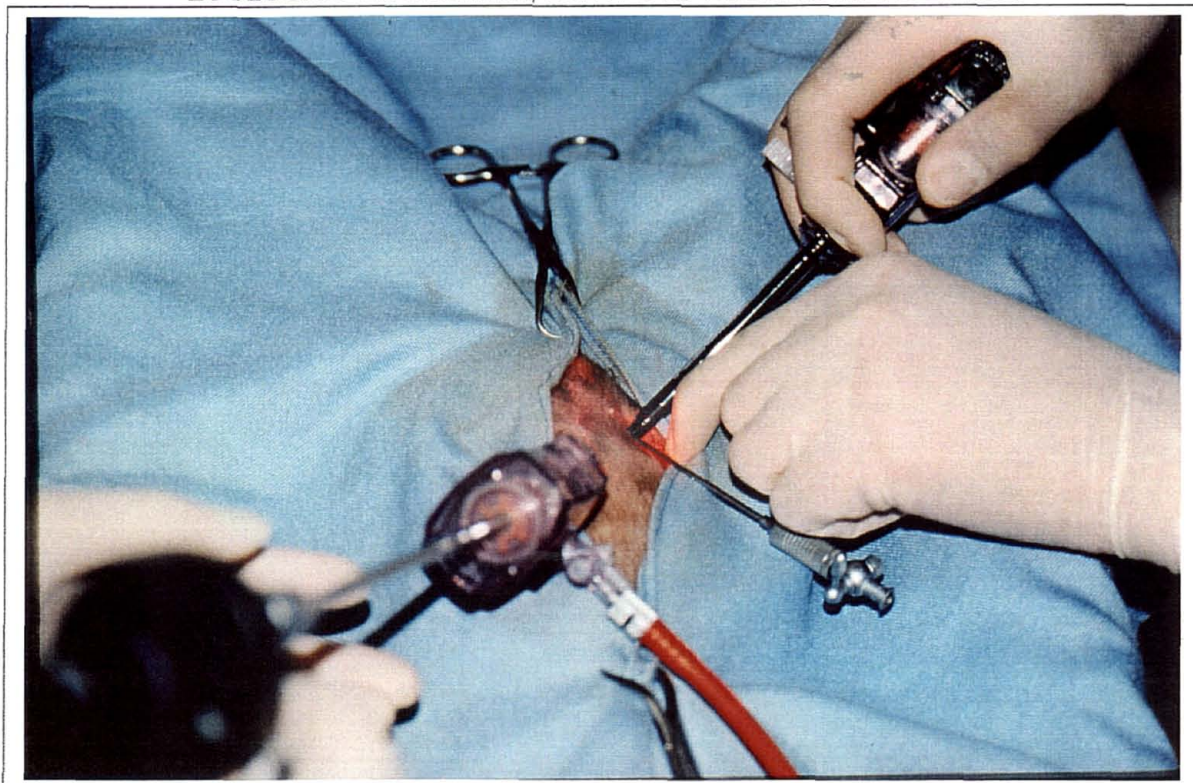


FIGURA 16 - MANUSEIO DE PINÇA E VIDEO-LAPAROSCÓPIO DURANTE MANIPULAÇÃO GENITAL EM FÊMEA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*). ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. FOTO ROGÉRIO RIBAS LANGE.

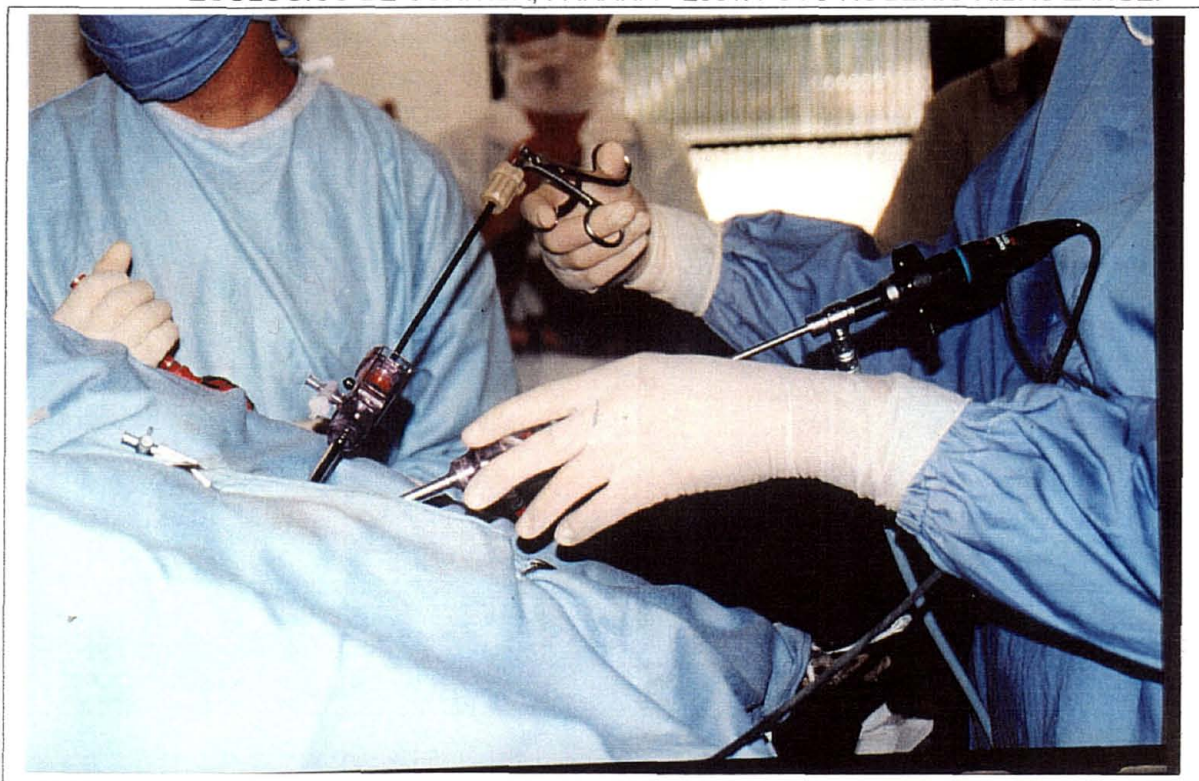


FIGURA 17 - INTRODUÇÃO DE CATETER PARA APLICAÇÃO DE SÊMEN DURANTE VIDEO-LAPAROSCOPIA EM FÊMEA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*). ZOOLOGICO DE CURITIBA, PR - 2001. FOTO ROGÉRIO R. LANGE.

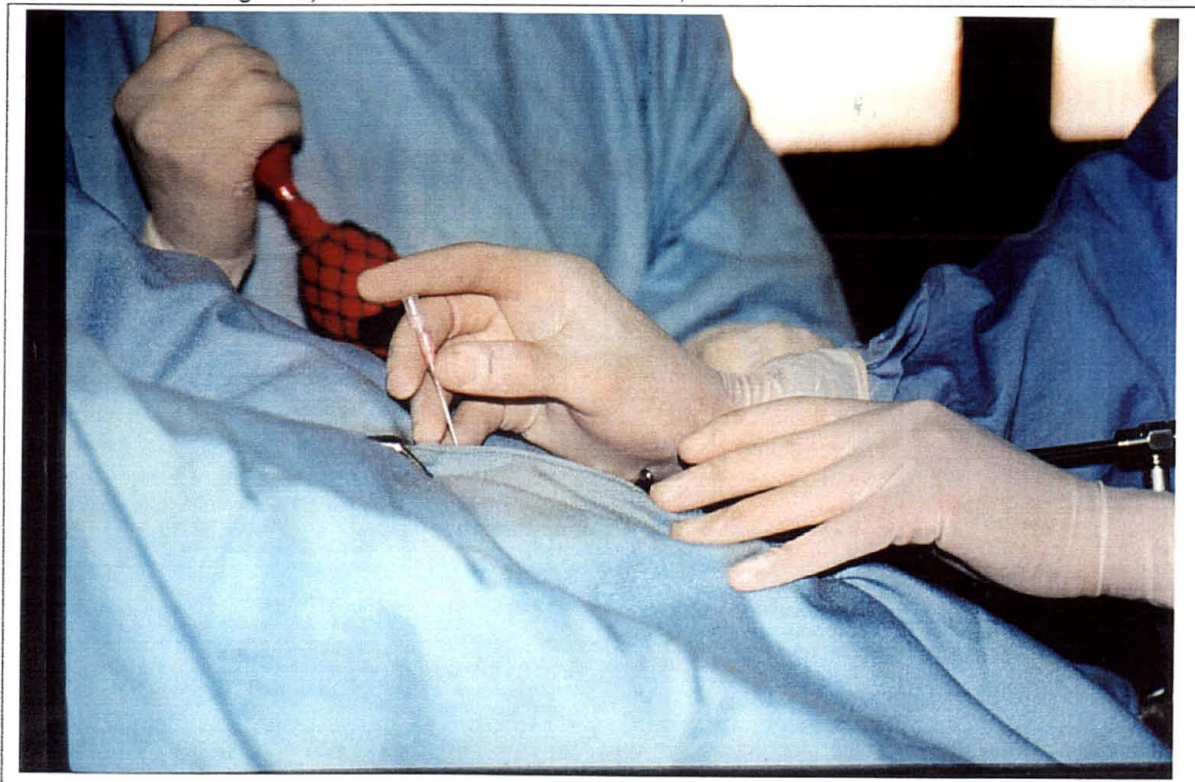
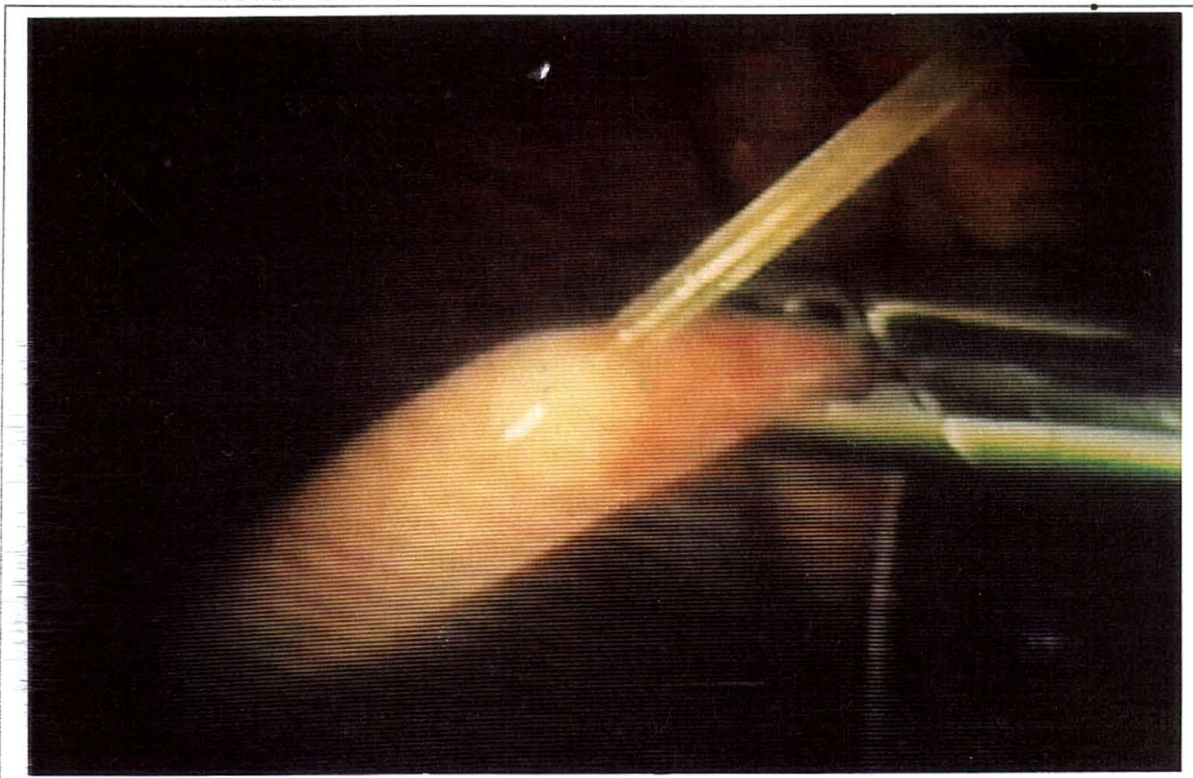


FIGURA 18 - CORNO UTERINO FIXADO POR PINÇA E COM CATETER POSICIONADO *IN UTERO* DURANTE PROCEDIMENTO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM FÊMEA DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*). ZOOLOGICO DE CURITIBA, PARANÁ - 2001. FOTO MANOEL LUCAS JAVOROUSKI.



3.5 Níveis séricos de cortisol

3.5.1 Amostras

Para a determinação dos níveis séricos de cortisol, foram colhidas quatro amostras de sangue. A primeira logo após a indução anestésica e pesagem; a segunda no momento da introdução da cânula do laparoscópio; a terceira durante a manipulação uterina (com ou sem inseminação) e a quarta após o término do procedimento. Cada amostra de sangue foi colhida através de agulha 25 x 8 e seringa estéril de 5 ml diretamente da veia jugular e transferida para frascos sem anticoagulante (*Vacutainer, B-D Indústrias Farmacêuticas, PR*). Os frascos contendo as amostras de sangue foram levados ao Laboratório de Fisiologia da Reprodução, no Setor de Ciências Biológicas da UFPR sendo o soro separado por centrifugação e as amostras identificadas e mantidas a -20°C até o processamento e análise.

3.5.2 Dosagem hormonal

As concentrações de cortisol foram determinadas através de radioimunoensaios, usando-se kits em fase sólida (*Cortisol Coat-a-Count, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA*). Os resultados foram expressos em nMol/L.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Fisiologia da Reprodução, do Setor de Ciências Biológicas (UFPR) e a leitura (contagem) no laboratório CEDIMEN, em Curitiba-PR.

3.6 Níveis de corticóides fecais

3.6.1 Amostras

Para as dosagens de corticóides fecais, amostras de fezes foram colhidas diariamente no recinto de cada fêmea, no horário entre 8:00 e 10:00 horas, envasadas em sacos plásticos com fecho hermético e mantidas a -20° C até o processo de extração. Como algumas fêmeas receberam aplicações de hormônio para induzir crescimento folicular e ovulação, as quais poderiam representar um

momento estressante devido às capturas e aplicações, enquanto outras foram submetidas apenas à laparoscopia, os dias de coleta foram caracterizados da seguinte forma:

- (- 7) a (- 1) - sete dias antes do tratamento hormonal ou laparoscopia.
- (I) a (V) - cinco dias de tratamento hormonal, sendo aplicação de eCG no dia I e aplicação de hCG no dia IV.
- LAP - Dia da laparoscopia, com ou sem inseminação artificial.
- (1) a (7) - sete dias após o procedimento laparoscópico.

As fêmeas de puma e onça-pintada apresentaram diversos dias consecutivos sem amostras de fezes devido à ausência de defecação ou problemas na colheita. Nesses animais optou-se por analisar as sete amostras disponíveis antes e sete amostras depois do procedimento laparoscópico, com ou sem o tratamento hormonal.

3.6.2 Extração dos hormônios fecais

Os procedimentos para a extração dos esteróides fecais foram feitos conforme descrito por GRAHAM (2001, comunicação pessoal)*. De maneira resumida, a extração consiste em pesar cerca de 0,5 g de fezes (0,45 a 0,55 g) e diluir em 5 ml de etanol 80% (v:v, com água ultrapurificada). A eficiência do processo de extração foi monitorada pela adição de 100 µl de ³H-corticosterona (*New England Nuclear*). Os frascos foram agitados por turbilhonamento por 30 segundos (*Agitador de tubos Fanem Mod. 251, São Paulo - SP*) ou até diluição completa das fezes e posteriormente colocados em um misturador lento (*Homogenizador SIEL-026, Curitiba - PR*) por um período de, pelo menos, doze horas. Após o período de agitação, os tubos foram centrifugados a 1000 G (*Presvac DCS-16RV, Argentina*) e o sobrenadante transferido para outro tubo. Com fins de armazenamento, 500 µL do extrato obtido foram diluídos em 1500 µL de PBS e acondicionados em tubos

*Disciplina "Non-Invasive Monitoring Of Reproductive Hormones In Zoo And Wildlife Species", Jaboticabal, SP; 17-20/set/2001

plásticos com tampa ou micro-tubos de Eppendorff (*Kartell S.P.A., Itália*) devidamente identificados. Os extratos foram conservados a -20°C até o momento da dosagem hormonal. Para verificar a eficiência da extração, 500 μL do extrato foram adicionados a 03 mL de coquetel de cintilação (*Ready Value, Beckman, E.U.A.*) e a contagem da radiação recuperada foi realizada em cintilador (*BECKMAN, mod.6500*) no Laboratório de Bioquímica do Setor de Ciências Biológicas da UFPR e comparada com o valor de radioativo adicionado no início do processo.

3.6.3 Dosagem hormonal

Para a quantificação dos esteróides foram utilizados kits de radioimunoensaio de duplo anticorpo e hormônio marcado com ^{125}I odo (*Corticosterone Double Antibody, ICN Biomedicals*). WASSER et al. (2000) citam este kit como sendo o que apresenta a melhor reação cruzada aos metabólitos do cortisol presente nas fezes em diversas espécies de mamíferos e aves.

Os resultados foram corrigidos para o índice de eficiência de extração e expressos em ng/g de fezes.

3.7 Análise estatística

Todos os cálculos e análises foram feitos com o auxílio do programa Statistica (*Statistica for Windows, versão 5.0 – Statsoft Incorporation, 1996*).

3.7.1 Cortisol sérico

Para cada espécie foram calculadas as médias (\pm Erro Padrão da Média) para cada uma das quatro colheitas durante o procedimento laparoscópico.

3.7.2 Corticosterona fecal

Para cada espécie foram calculadas as médias (\pm Erro Padrão da Média) pré e pós-procedimento. Na análise dos corticóides fecais, os valores considerados como pico foram determinados através do cálculo da Média mais duas vezes o Desvio Padrão das amostras totais de um mesmo indivíduo. Todos os valores acima desse resultado são considerados como pico e excluídos. A operação é repetida sucessivamente até que não existam valores acima da fórmula. Os níveis basais do indivíduo são representados pelos valores remanescentes após a exclusão de todos os valores considerados picos (MORAIS *et al.*, 1996). A magnitude e duração da resposta adrenocortical de cada indivíduo foram determinadas, respectivamente, pela diferença entre os níveis basais e de pico de um mesmo indivíduo e pelo tempo (em dias) necessário para o retorno dos níveis de corticóides aos valores basais do mesmo indivíduo.

3.7.3 Parâmetros vitais

Para cada espécie foram calculadas as médias de cada tomada para cada uma das variáveis durante o procedimento laparoscópico.

As diferenças entre as médias pré e pós-laparoscopias dentro das espécies, entre os diferentes pontos para os valores séricos, bem como diferenças entre as espécies, para todas as variáveis estudadas, foram determinadas por análise de variância (ANOVA), seguida por teste de Duncan (Duncan's New Multiple Range Test). Foram ainda calculados os coeficientes de correlação de Pearson dos níveis hormonais entre si (séricos e fecais) e dos níveis hormonais com os achados laparoscópicos.

4 - RESULTADOS

4.1. Cortisol Sérico

O tempo médio necessário para a realização dos procedimentos de anestesia, laparoscopia e manipulação genital (com ou sem inseminação artificial) e o intervalo médio entre cada colheita de sangue para cada espécie estão descritos na tabela 1. Os valores médios de cortisol sérico, por pontos de coleta e por espécie são resumidos na tabela 2. Também são apresentados os valores médios globais por espécie. Diferenças significativas foram observadas entre os valores obtidos nos diversos pontos de coleta, dentro de cada espécie e também entre espécies. As porcentagens médias de alteração no valor do cortisol das diferentes amostras em relação ao valor obtido para a primeira colheita estão apresentadas nos gráficos de 1 a 6.

TABELA 1 - INTERVALO MÉDIO DE TEMPO (MINUTOS) ENTRE AS COLHEITAS DE SANGUE EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4)¹, JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n= 7), SUBMETIDAS A LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002.

Espécie	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Intervalo Médio
Lti (n=8) ²	Tempo 0	26 ± 6* (26 ± 6)**	58 ± 11 (29 ± 6)	73 ± 13 (15 ± 2)	24
Lwi (n=6)	Tempo 0	19 ± 3 (19 ± 3)	37 ± 4 (17 ± 7)	54 ± 4 (12 ± 2)	18
Lpa (n=10)	Tempo 0	17 ± 2 (17 ± 2)	39 ± 3 (21 ± 2)	49 ± 4 (9 ± 1)	16
Pco (n=6)	Tempo 0	24 ± 1 (24 ± 1)	45 ± 3 (21 ± 2)	79 ± 5 (34 ± 7)	26
Pon (n=4)	Tempo 0	12 ± 1 (12 ± 1)	31 ± 1 (18 ± 1)	51 ± 2 (22 ± 1)	18
Fca (n=7)	Tempo 0	15 ± 2 (15 ± 2)	38 ± 4 (24 ± 4)	60 ± 8 (22 ± 3)	20

1 – Números entre parênteses representam o número de indivíduos.

2 – Números entre parênteses representam o número de procedimentos.

* - Os números representam o intervalo de tempo médio para as colheitas das amostras 2, 3 e 4, em relação à amostra 1 (tempo 0).

** - Os números entre parênteses representam o intervalo médio entre cada amostra, em relação à colheita anterior.

TABELA 2 – MÉDIAS (\pm EPM) DE CORTISOL SÉRICO GLOBAL E EM DIFERENTES MOMENTOS EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4)¹, GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n = 7), SUBMETIDAS A LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 e 2002.

Espécie (n) ²	Cortisol (nMOL/L)				
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Média global
Lti (n=8)	442,9 \pm 111,1 ^{a A} (n=8)*	633,83 \pm 202,6 ^{a A} (n=6)	1081,1 \pm 200,0 ^{b A} (n=5)	723 \pm 191,2 ^{b A} (n=4)	680,2 \pm 93,64 ^A (n=23)
Lwi (n=6)	407,5 \pm 115,5 ^{a A} (n=6)	396,6 \pm 125,3 ^{a AB} (n=4)	609 \pm 237,1 ^{a B} (n=4)	837,0 \pm 378,0 ^{a A} (n=3)	528,1 \pm 97,6 ^{AB} (n=17)
Lpa (n=10)	136,3 \pm 15,7 ^{a B} (n=10)	143,4 \pm 32,7 ^{ab B} (n=6)	212,3 \pm 38,8 ^{ab B} (n=6)	232,4 \pm 46,5 ^{b A} (n=6)	174,7 \pm 16,8 ^C (n=28)
Pco (n=6)	740,0 \pm 141,2 ^{ab C} (n=6)	670,75 \pm 151,68 ^{a A} (n=6)	1262,33 \pm 195,3 ^{ab A} (n=6)	1731,2 \pm 585,6 ^{b B} (n=6)	1101,1 \pm 176,3 ^D (n=24)
Pon (n=4)	186,3 \pm 34,1 ^{a B} (n=4)	130,9 \pm 24,9 ^{a B} (n=4)	332,5 \pm 54,8 ^{a B} (n=4)	621,6 \pm 142,6 ^{a A} (n=4)	359,2 \pm 70,3 ^{BC} (n=17)**
Fca (n=7)	228,4 \pm 61,5 ^{a AB} (n=7)	290,8 \pm 105,1 ^{a AB} (n=7)	382,7 \pm 127,4 ^{a B} (n=7)	329,7 \pm 51,3 ^{a A} (n=7)	307,9 \pm 44,6 ^{BC} (n=28)

Letras minúsculas iguais dentro de cada linha indicam diferenças entre as amostras, dentro de cada espécie;
Letras maiúsculas iguais dentro de cada coluna, indicam diferenças entre espécies para cada amostra e média global.

1 – Números entre parênteses representam o número de indivíduos.

2 – Números entre parênteses representam o número de procedimentos.

* Números entre parênteses representam o número de colheitas em cada amostragem.

** - Em Pon 01 foram colhidas cinco amostras de sangue sendo com a quinta amostra igual a 1020,9 nMOL/L.

GRÁFICO 1 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=4) DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=8), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.

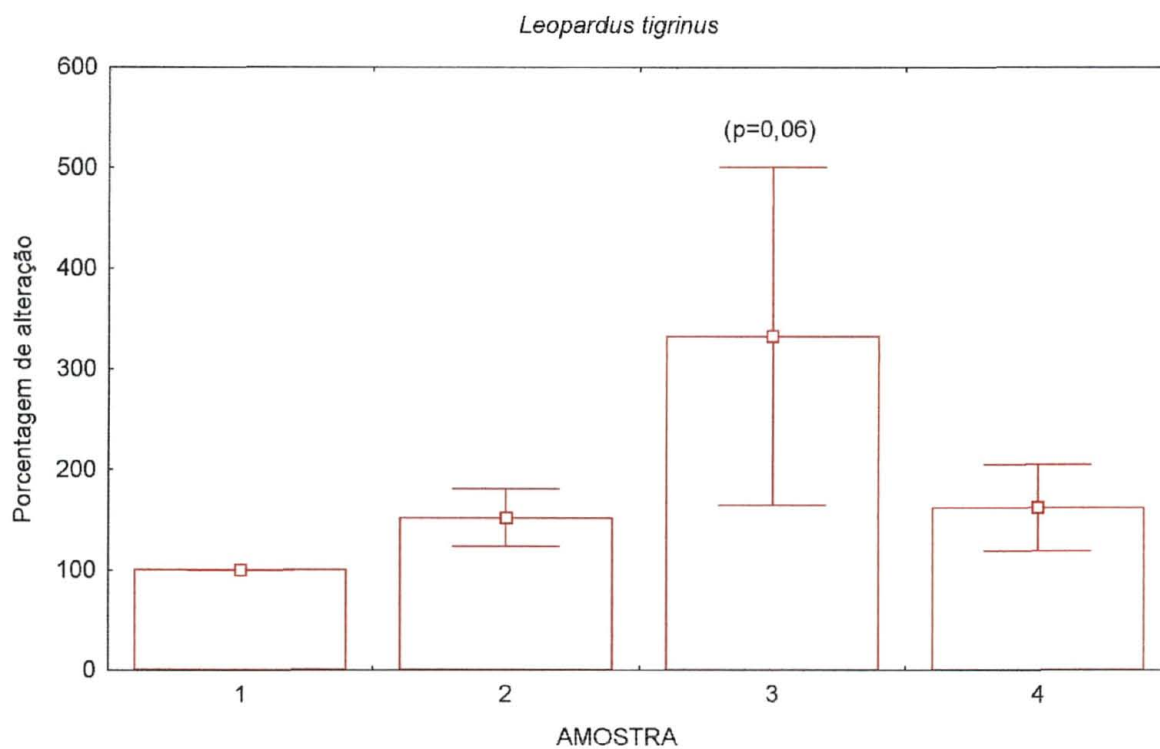


GRÁFICO 2 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=4) DE GATO-MARACAJÁ (*Leopardus wiedii*) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=6), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.

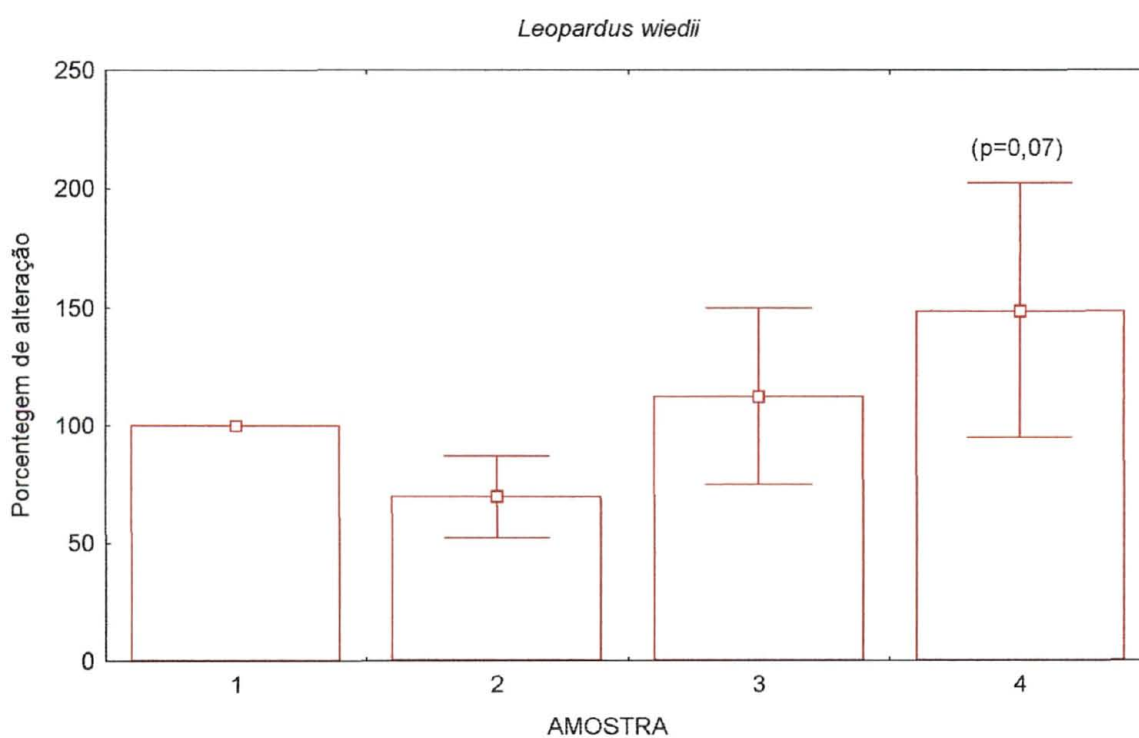


GRÁFICO 3 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=5) DE JAGUATIRICÁ (*Leopardus pardalis*) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=10), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.

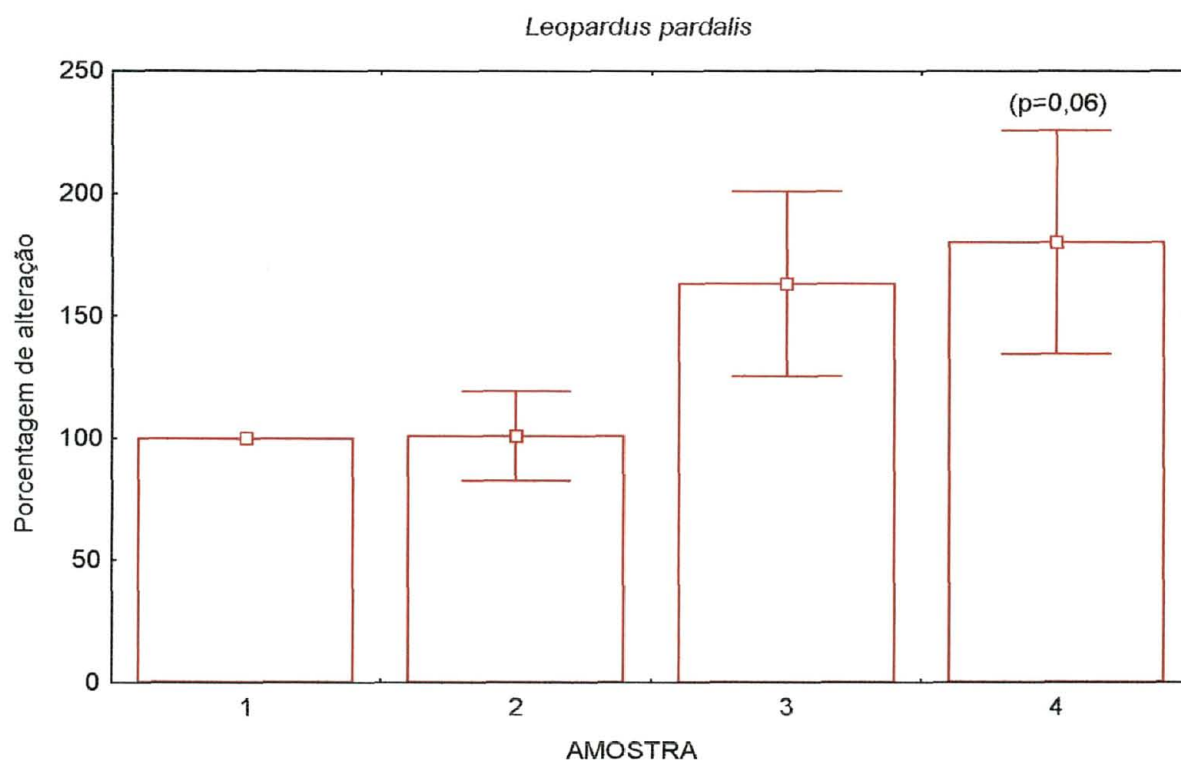


GRÁFICO 4 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=3) DE PUMA (*Puma concolor*) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=6), CURITIBA - PR, 2001 E 2002. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS (P<0,05).

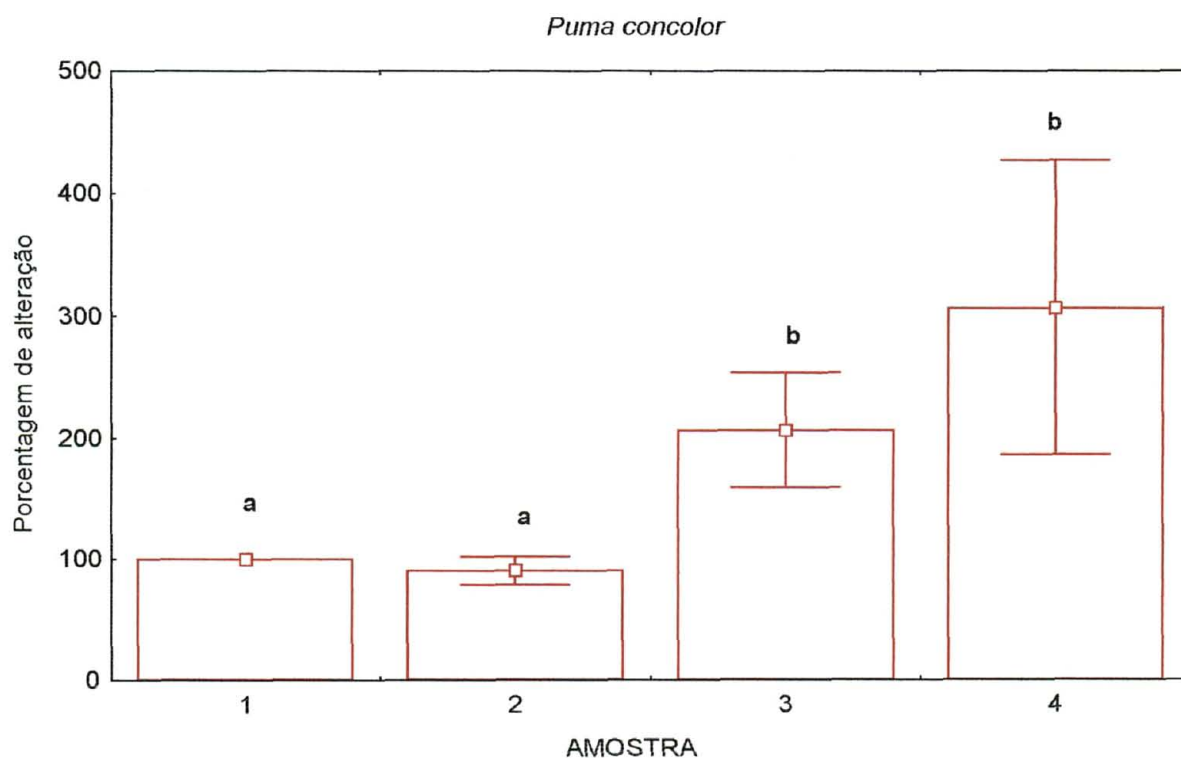


GRÁFICO 5 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=2) DE ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=4), CURITIBA - PR, 2001 E 2002. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS (P<0,05).

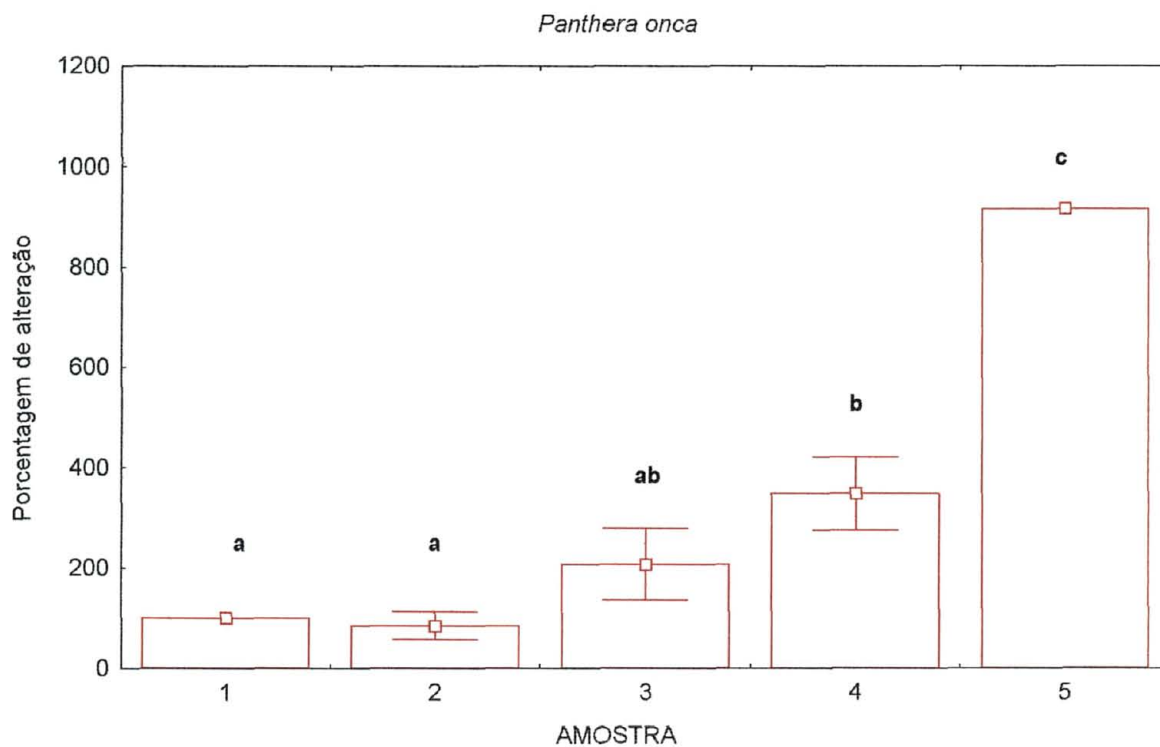
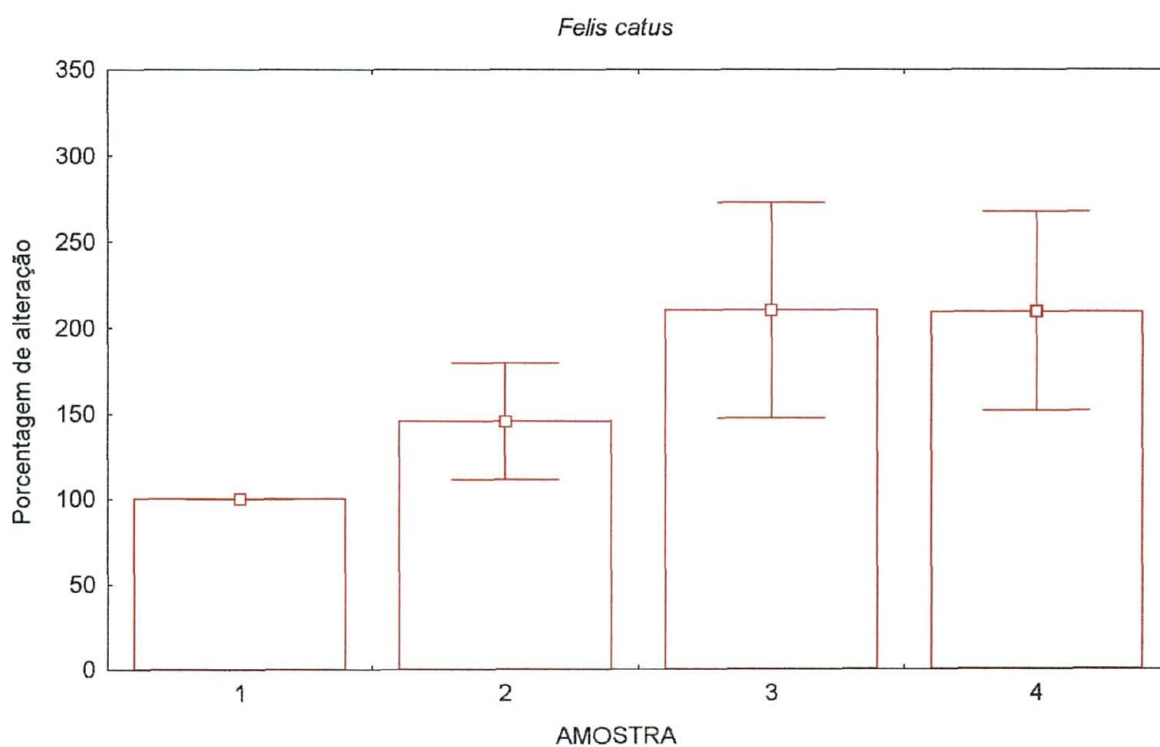


GRÁFICO 6 - PERCENTUAL MÉDIO DE ALTERAÇÃO DE CORTISOL SÉRICO (\pm EPM) EM FÊMEAS (n=7) DE GATO-DOMÉSTICO (*Felis catus*) SUBMETIDAS À ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL (n=7), CURITIBA - PR, 2001 E 2002.



4.2. Corticóides fecais

Os valores obtidos para corticóides fecais nas diferentes fases do experimento estão resumidos na Tabela 3. Diferenças significativas foram encontradas entre as fases pré e pós laparoscopia em todas as espécies, exceto em pumas, porém como será discutido posteriormente, os dados de onça e puma devem ser interpretados com cautela, já que a colheita de amostras no período pós laparoscopia não ocorreu dentro do protocolo obedecido para as demais espécies. Diferenças individuais significativas foram observadas também entre indivíduos de uma mesma espécie no período basal (Tabela 4), com exceção de gatas domésticas.

Apesar dos valores de pico e basais terem sido diferentes, o procedimento de laparoscopia provocou um aumento similar na taxa de excreção dos corticóides entre as espécies. Entretanto, como observado nos gráficos 7 a 10, as fêmeas de gato-do-mato-pequeno, apresentaram o pico máximo cerca de 48 horas após o procedimento, contra 24 horas para gato-maracajá, jaguatirica e gatas domésticas. Com relação ao tempo para retorno aos níveis basais, gato-do-mato-pequeno apresentou retorno aos níveis basais no sexto dia após a laparoscopia. Já as fêmeas de gato-maracajá, jaguatirica e gato doméstico apresentaram retorno aos níveis basais no quinto, quarto e segundo dias após a cirurgia, respectivamente.

Como citado anteriormente, com as fêmeas de puma e onça-pintada ocorreram problemas na colheita de amostras de fezes causadas por diversos fatores tais como ausência de defecação, fezes dentro do reservatório de água, impossibilidade de diferenciação entre amostras de dois indivíduos ou mesmo a não colheita da amostra pelo tratador substituto. Desse modo, a análise foi realizada em sete amostras disponíveis antes e sete após o procedimento para cada indivíduo, as quais se estendem por até 16 dias antes da laparoscopia e 17 dias após em pumas e 11 antes e 16 após em onças-pintadas. Porém dados importantes dos primeiros dias logo após a laparoscopia estão ausentes. Além disso, alguns dias do experimento apresentam amostra de apenas um indivíduo impossibilitando estimar a média, o que compromete o resultado final. Dessa forma, apesar de nos gráficos serem apresentados todos os valores pré e pós procedimento por animal, a análise

estatística foi realizada apenas para o período basal, não sendo possível avaliar de maneira ideal a resposta após os procedimentos de laparoscopia. As variações diárias estão apresentadas em gráficos separados por indivíduos (gráficos 11 e 12).

TABELA 3 – MÉDIAS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g DE FEZES) NAS FASES PRÉ E PÓS-LAPAROSCOPIA E DE PICO MÁXIMO, EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4)¹, GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n=7) SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 E 2002.

Espécie (n) ²	Corticóides fecais (ng/g de fezes) (n) ³		
	Média PRÉ	Média PÓS	PICO (variação %)*
Lti (n=8)	1860,6 \pm 225,7 ^{a (A)**} (n=97)	5410,9 \pm 983,8 ^{b (A)} (n=46)	9010,9 \pm 3563,9 (389%)
Lwi (n=6)	646,2 \pm 97,7 ^{a (B)} (n=73)	1943,1 \pm 262,9 ^{b (B)} (n=41)	3195,9 \pm 1127,8 (394%)
Lpa (n=10)	337,0 \pm 71,3 ^{a (B,C)} (n=63)	1128,1 \pm 187,1 ^{b (B,C)} (n=117)	1690,4 \pm 738,9 (402%)
Pco (n=6)	465,2 \pm 83,4 ^{a (B)} (n=51)	487,4 \pm 114,3 ^{a (B,C)} (n=32)	698,4 \pm 421,5 (50%)
Pon (n=4)	113,5 \pm 13,0 ^{a (B,C)} (n=37)	524,8 \pm 131,5 ^{b (C)} (n=22)	1007,3 \pm 75,0 (787%)
Fca (n=8)	31,5 \pm 1,4 ^{a (C)} (n=103)	50,1 \pm 9,6 ^{b (C)} (n=56)	114,4 \pm 63,1 (263%)

1 – número de indivíduos

2 – número de procedimentos realizados por espécie.

3 – número de amostras de fezes analisadas por etapa, por espécie.

* - variação entre parênteses = porcentagem de aumento em relação à média basal

** - Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as fases pré e pós. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies.

TABELA 4 – MÉDIAS INDIVIDUAIS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g DE FEZES) NA FASE PRÉ-LAPAROSCOPIA, EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3) E ONÇA-PINTADA (n=2), CURITIBA – PR, 2001 E 2002.

Espécie (n) ¹	Corticóides fecais (ng/g de fezes)/ Indivíduo (animal) ²				
	1	2	3	4	5
Lti (n=4)	1315,4 \pm 387,1 ^{a,b} (10)	1913,2 \pm 381,4 ^a (12)	2471,6 \pm 430,6 ^a (13)	564,9 \pm 108,2 ^b (14)	
Lwi (n=4)	352,1 \pm 106,3 ^{a,b} (4)	836,2 \pm 162,6 ^a (7)	790,9 \pm 210,5 ^a (8)	162,4 \pm 38,3 ^b (9)	
Lpa (n=05)	733,1 \pm 219,4 ^a (10)	59,8 \pm 10,2 ^b (12)	173,9 \pm 28,1 ^b (15)	99,8 \pm 14,9 ^b (16)	239,8 \pm 66,9 ^b (17)
Pco (n=3)	264,5 \pm 52,5 ^a (1)	278,9 \pm 105,1 ^a (2)	1030,7 \pm 218,5 ^b (3)		
Pon (n=2)	142,6 \pm 22,9 ^a (1)	85,1 \pm 10,2 ^b (2)			

1 – número de procedimentos realizados por espécie.

2 – número de identificação de cada animal, dentro da espécie.

** - Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os indivíduos, dentro da espécie (P<0,05)

GRÁFICO 7 - VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002. PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA ($p<0,05$)

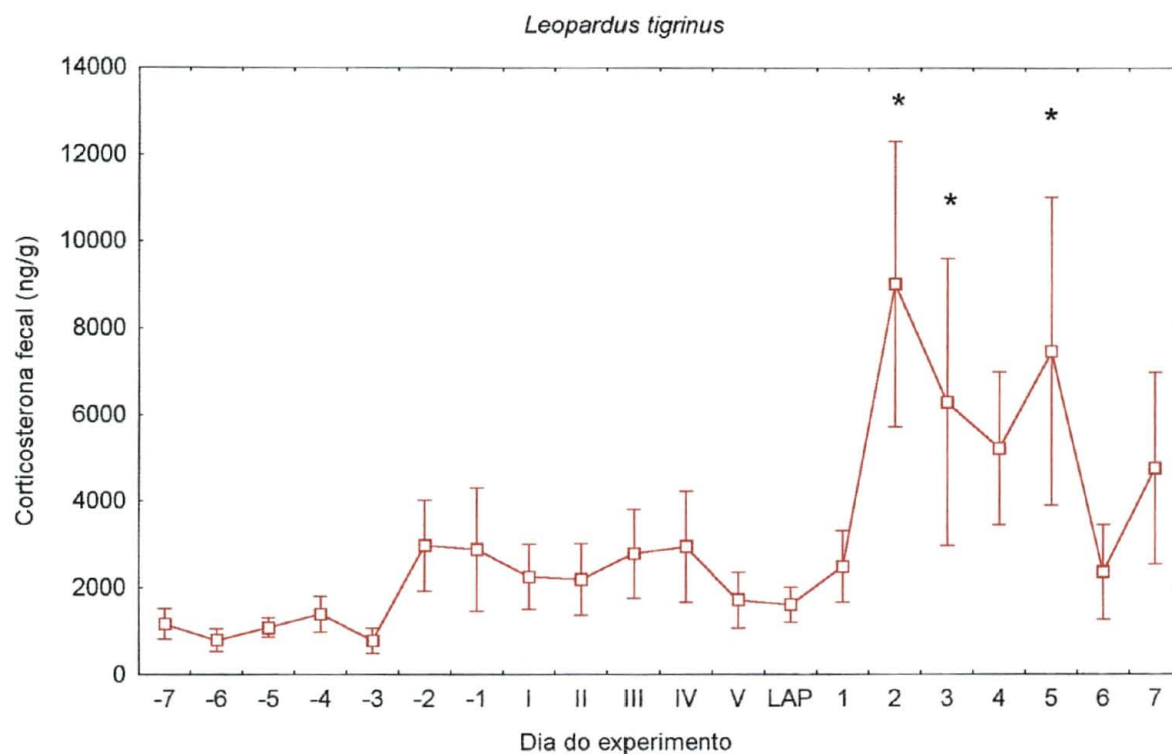


GRÁFICO 8 - VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE GATO-MARACAJÁ (*Leopardus wiedii*), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002. PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA ($p<0,05$)

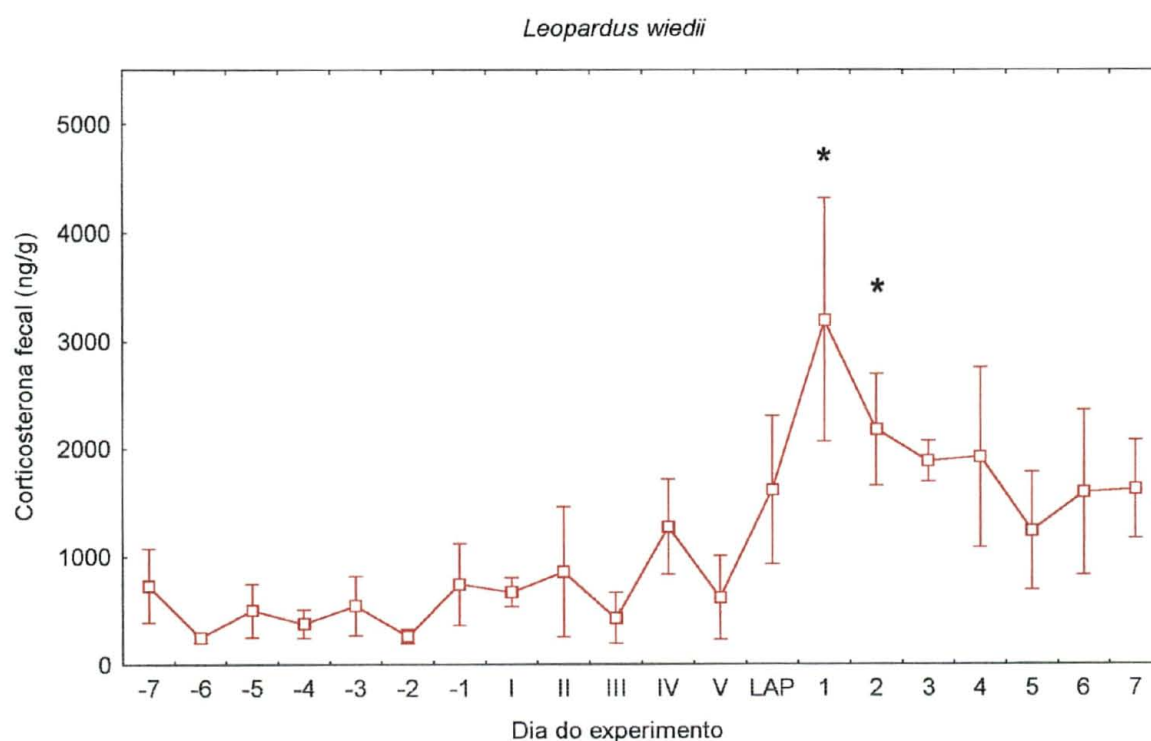


GRÁFICO 9 - VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE JAGUATIRICA (*Leopardus pardalis*), n=5, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002 PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA ($p < 0,05$)

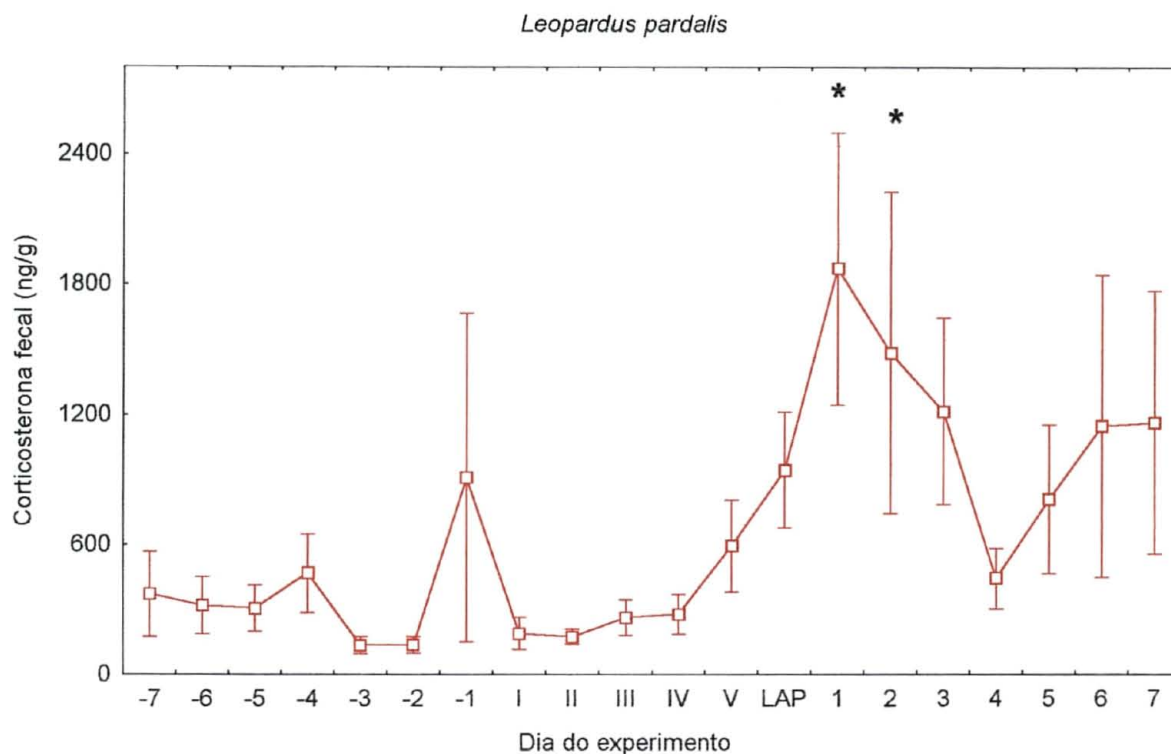


GRÁFICO 10 - VALORES MÉDIOS DIÁRIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM FÊMEAS DE GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*), n=7, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002 PONTOS MARCADOS INDICAM VALORES DIFERENTES DA MÉDIA PRÉ-LAPAROSCOPIA ($p < 0,05$)

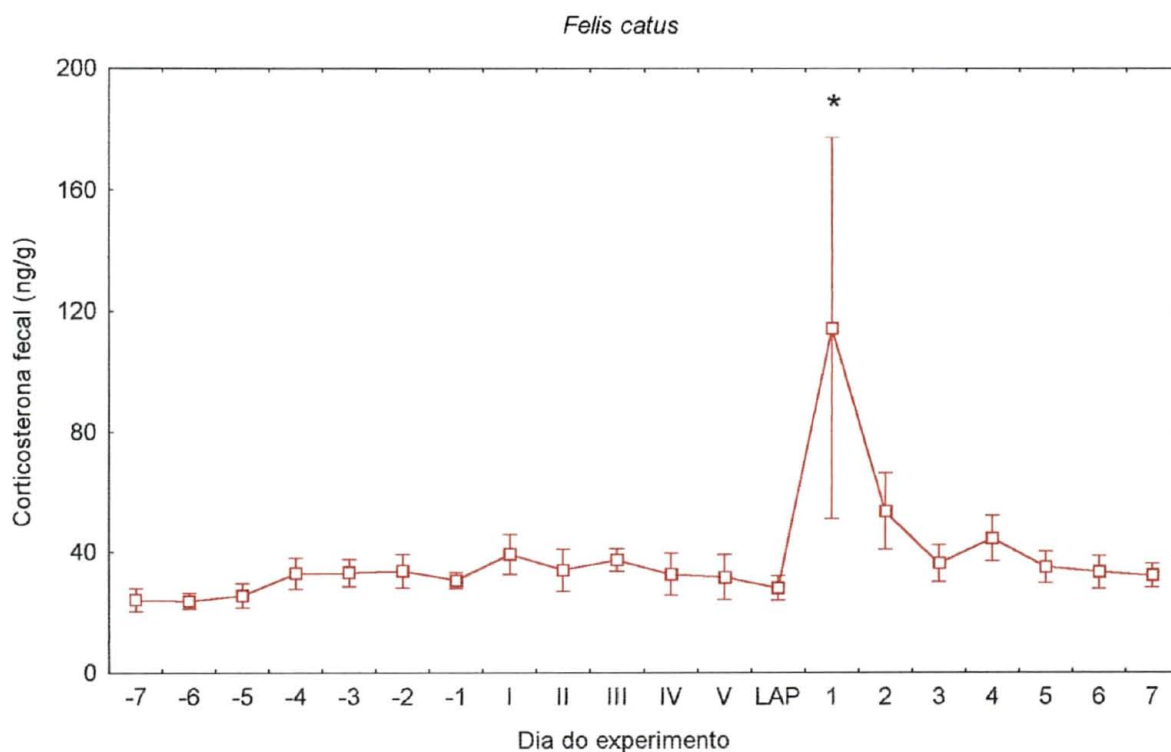


GRÁFICO 11 - VALORES MÉDIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM TRÊS FÊMEAS DE PUMA (*Puma concolor*), SUBMETIDAS A DOIS PROCEDIMENTOS DE ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002.

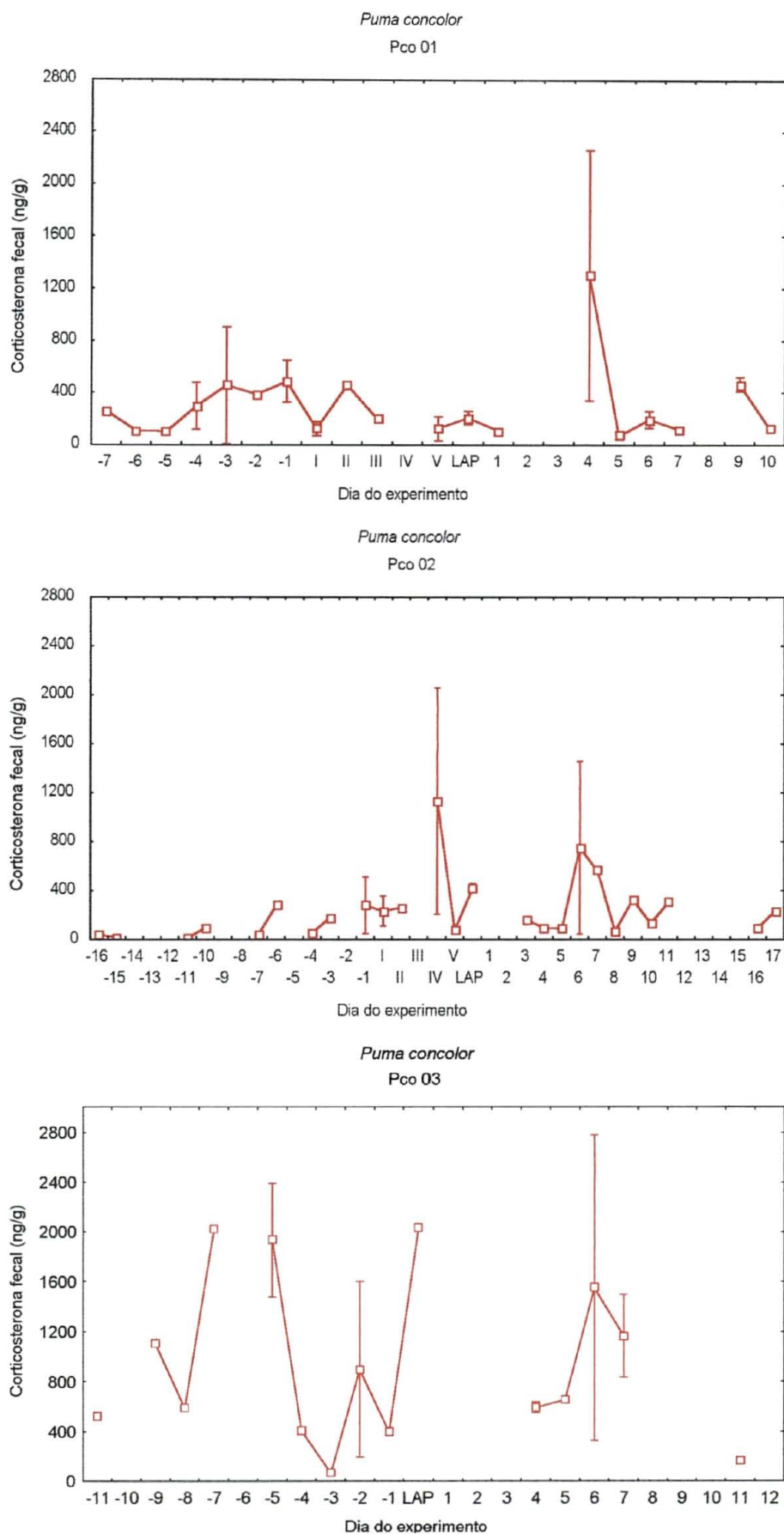
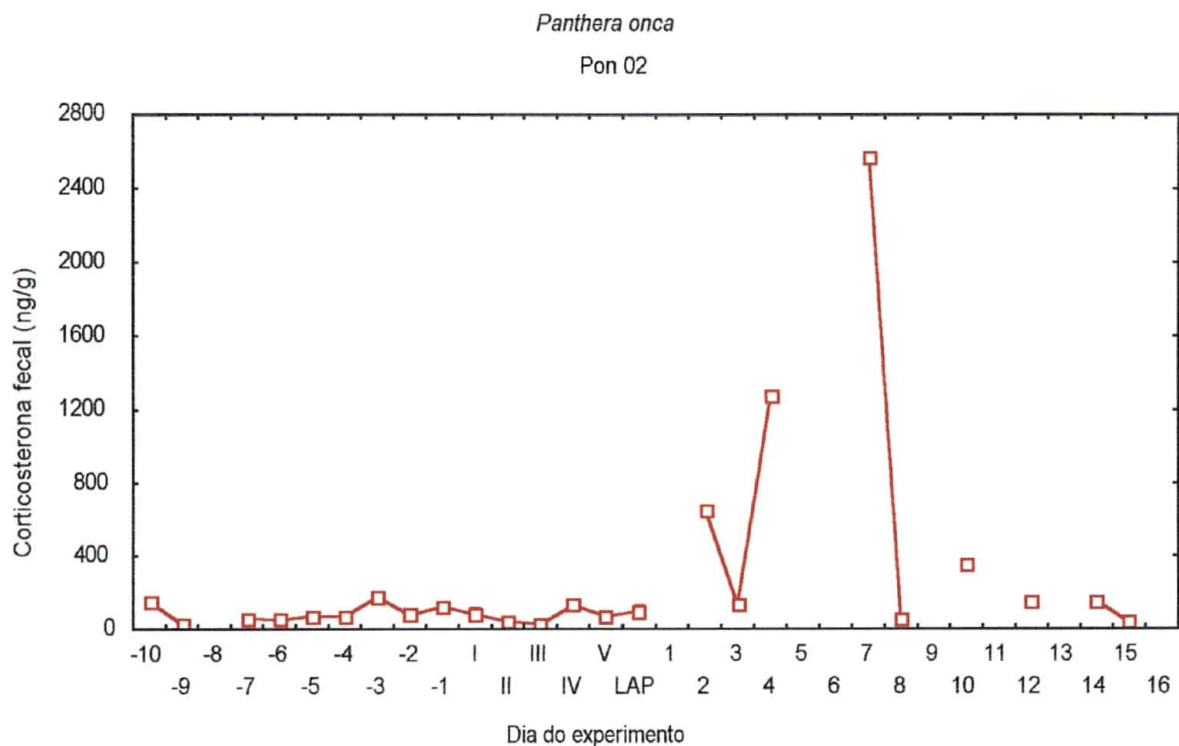
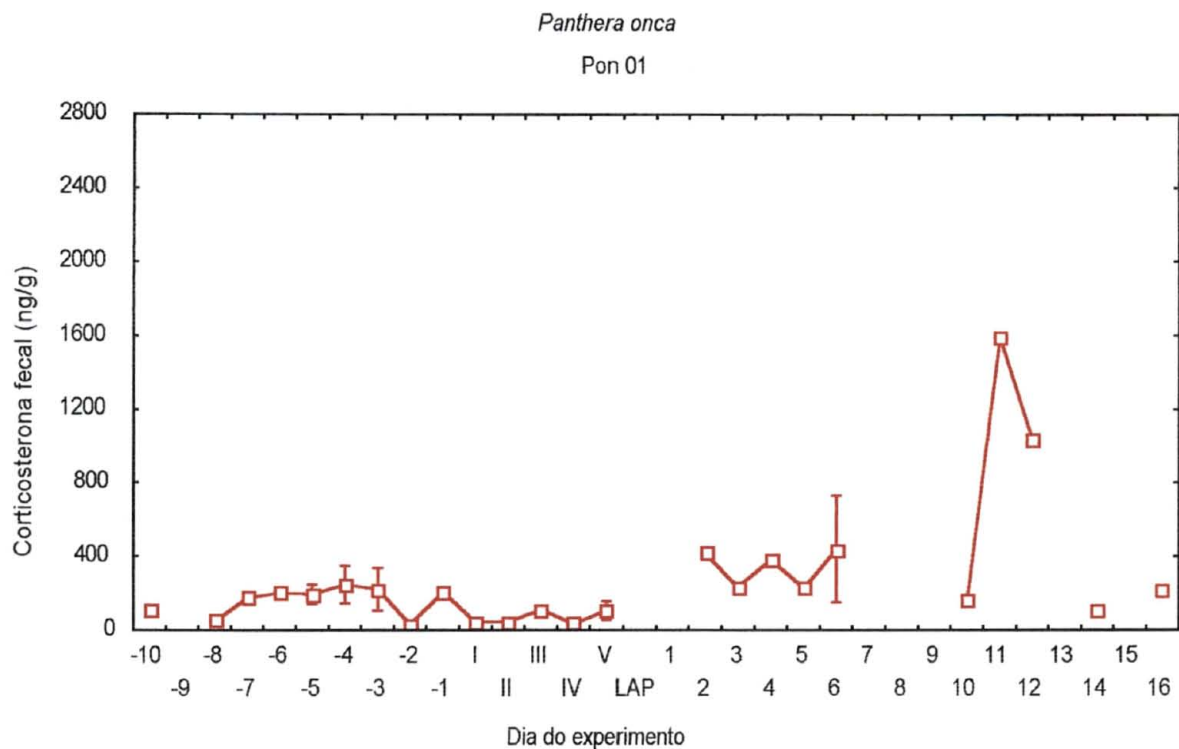


GRÁFICO 12 - VALORES MÉDIOS (\pm EPM) DE CORTICOSTERONA FECAL (ng/g), EM DUAS FÊMEAS DE ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*), SUBMETIDAS A DOIS PROCEDIMENTOS DE ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 E 2002.



4.3. Parâmetros vitais durante a anestesia.

Os resultados médios para as determinações das frequências cardíaca e respiratória e saturação de O₂ arterial para as diferentes espécies, durante o procedimento de anestesia e laparoscopia, estão resumidos na tabela 5. Diferenças significativas foram observadas entre as espécies. Os dados médios das leituras feitas a intervalos de 5 minutos, durante todo o procedimento experimental, são apresentados nos gráficos de 13 a 18, não tendo sido observadas diferenças significativas entre os diferentes momentos do procedimento para qualquer um dos parâmetros avaliados.

TABELA 5 – MÉDIAS (±EPM) DE PARÂMETROS VITAIS EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (n=4), GATO-MARACAJÁ (n=4), JAGUATIRICA (n=5), PUMA (n=3), ONÇA-PINTADA (n=2) E GATO DOMÉSTICO (n=7), SUBMETIDAS A LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA, PR, 2001 e 2002

Espécie (n) ¹	PARÂMETROS VITAIS		
	FC (bpm)	FR (mov/min)	SPO ₂ (%)
Lti (n=8)	134 ± 4 ^a	18 ± 0,8 ^a	98,7 ± 0,6 ^a
Lwi (n=6)	113 ± 6 ^b	13 ± 0,6 ^b	102,6 ± 1,8 ^b
Lpa (n=10)	105 ± 3 ^b	11 ± 4 ^c	99,4 ± 0,3 ^a
Pco (n=6)	141 ± 2 ^a	18 ± 0,7 ^a	99,8 ± 0,04 ^a
Pon (n=4)	88 ± 2 ^c	09 ± 0,6 ^c	98,2 ± 0,4 ^a
Fca (n=5)	116 ± 3,6 ^b	20 ± 1 ^a	99,3 ± 0,4 ^a

1 – n= número de procedimentos realizados por espécie.

Diferentes letras, dentro das colunas, indicam diferenças significativas entre as espécies (p<0,05)

GRÁFICO 13 - VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO₂ (%) EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO (*Leopardus tigrinus*), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 e 2002

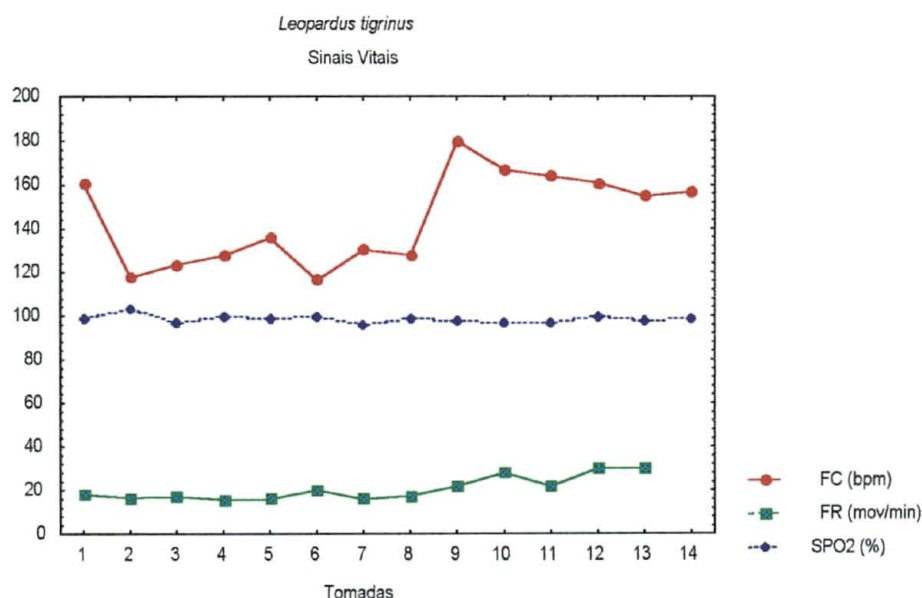


GRÁFICO 14 - VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO₂ (%) EM FÊMEAS DE GATO-MARACAJÁ (*Leopardus wiedii*), n=4, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 e 2002

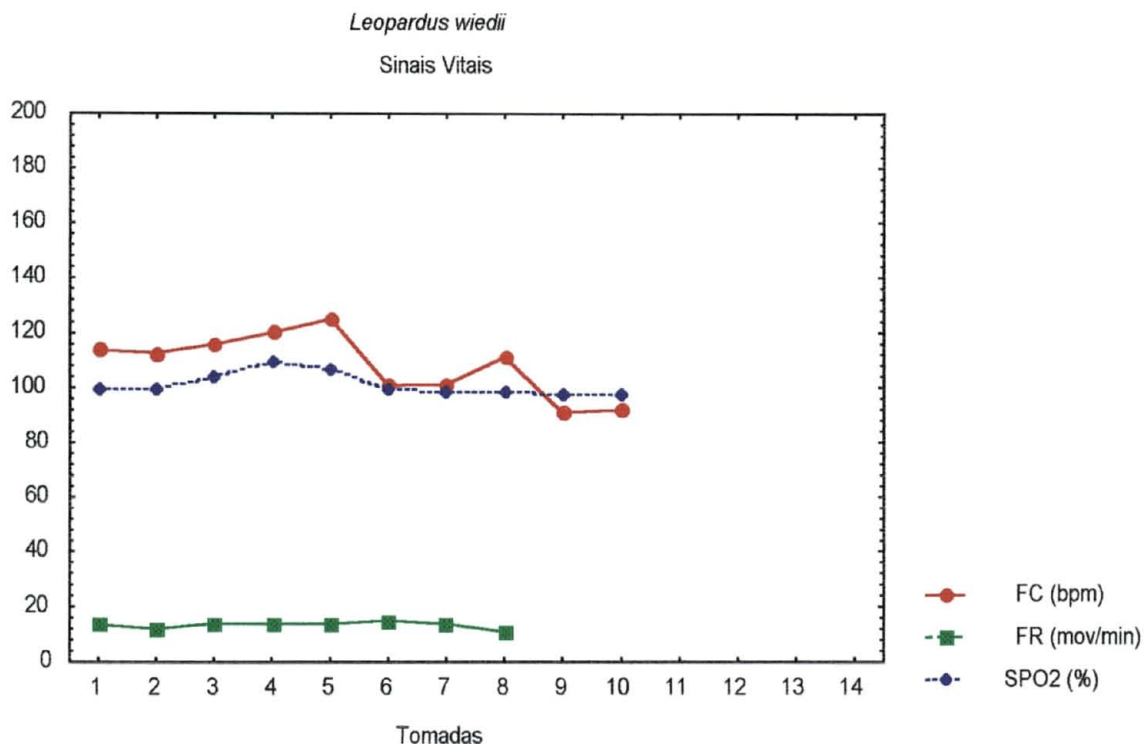


GRÁFICO 15 - VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO₂ (%) EM FÊMEAS DE JAGUATIRICA (*Leopardus pardalis*), n=5, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001 e 2002

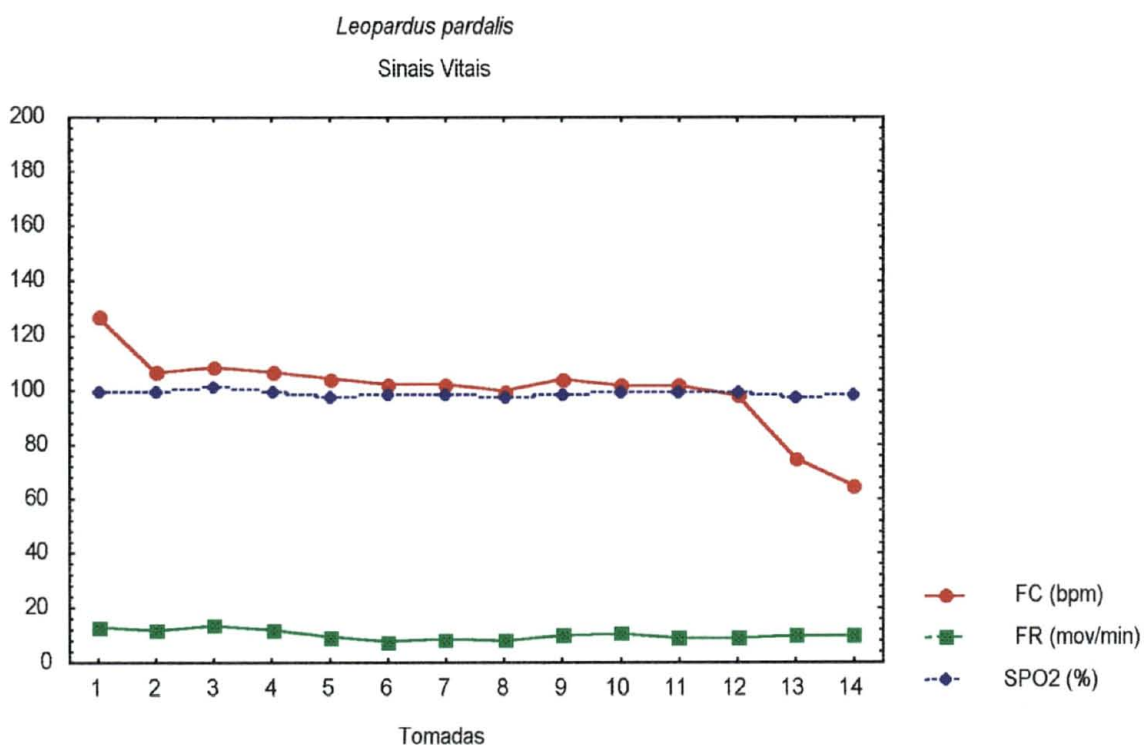


GRÁFICO 16 - VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO₂ (%) EM FÊMEAS DE PUMA (*Puma concolor*), n=3, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002

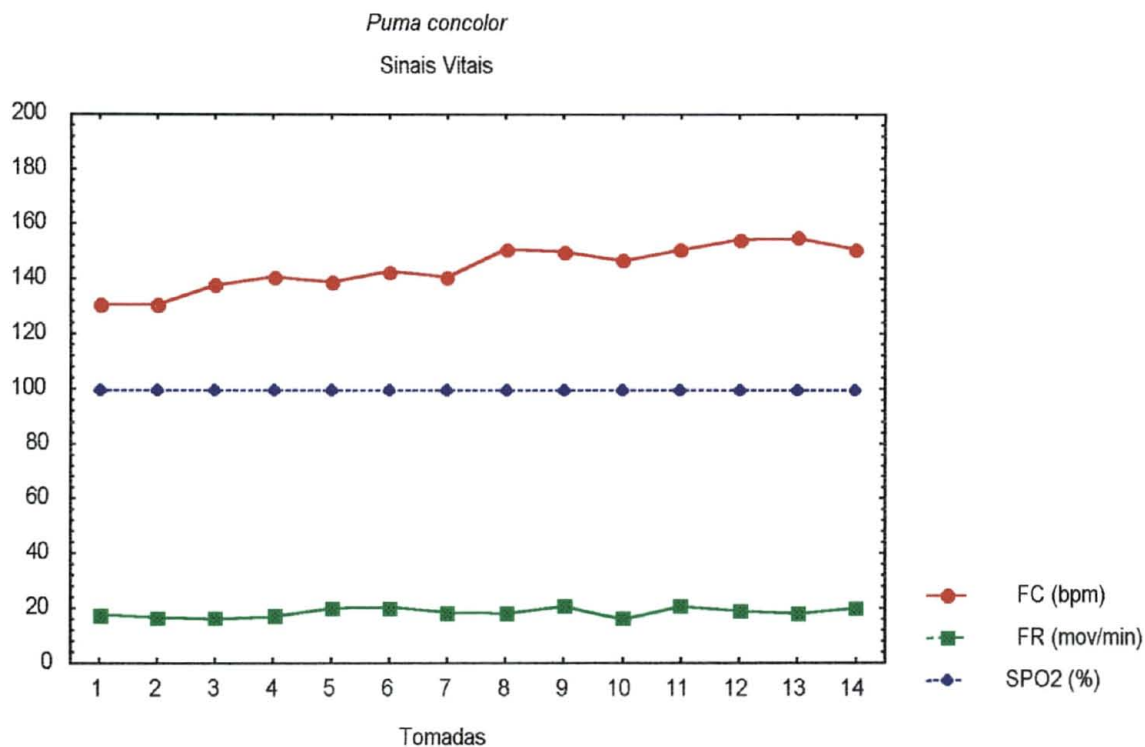


GRÁFICO 17 - VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO₂ (%) EM FÊMEAS DE ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*), n=2, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA - PR, 2001 e 2002

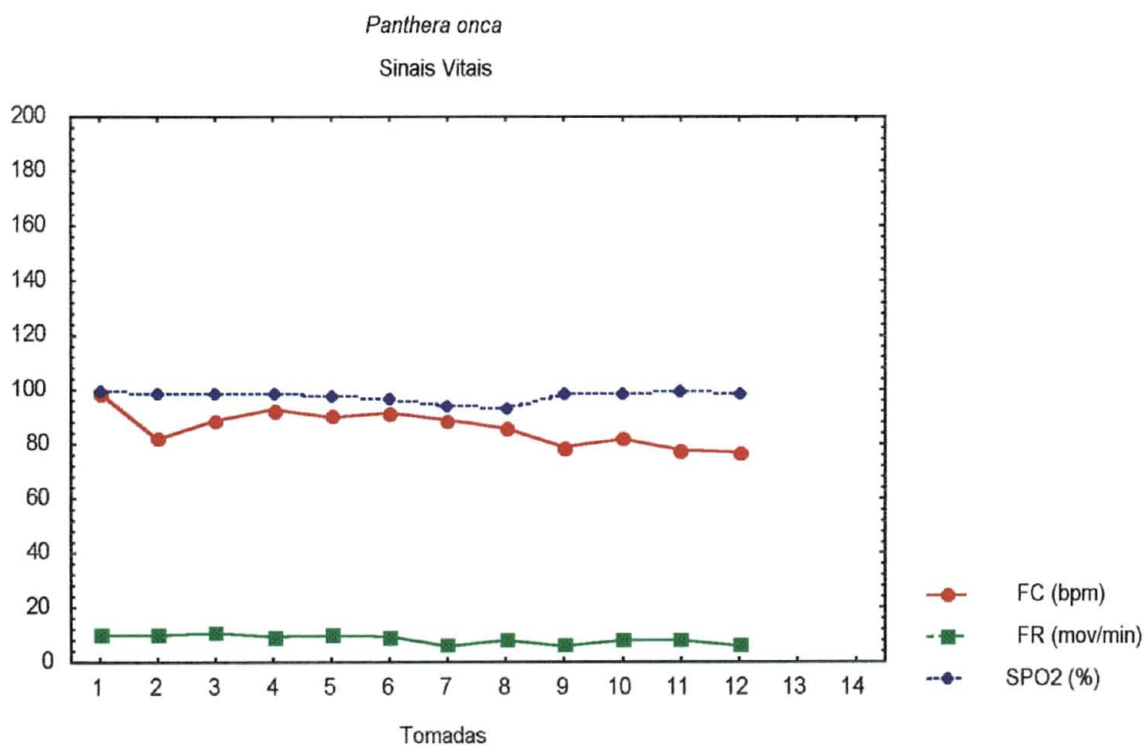
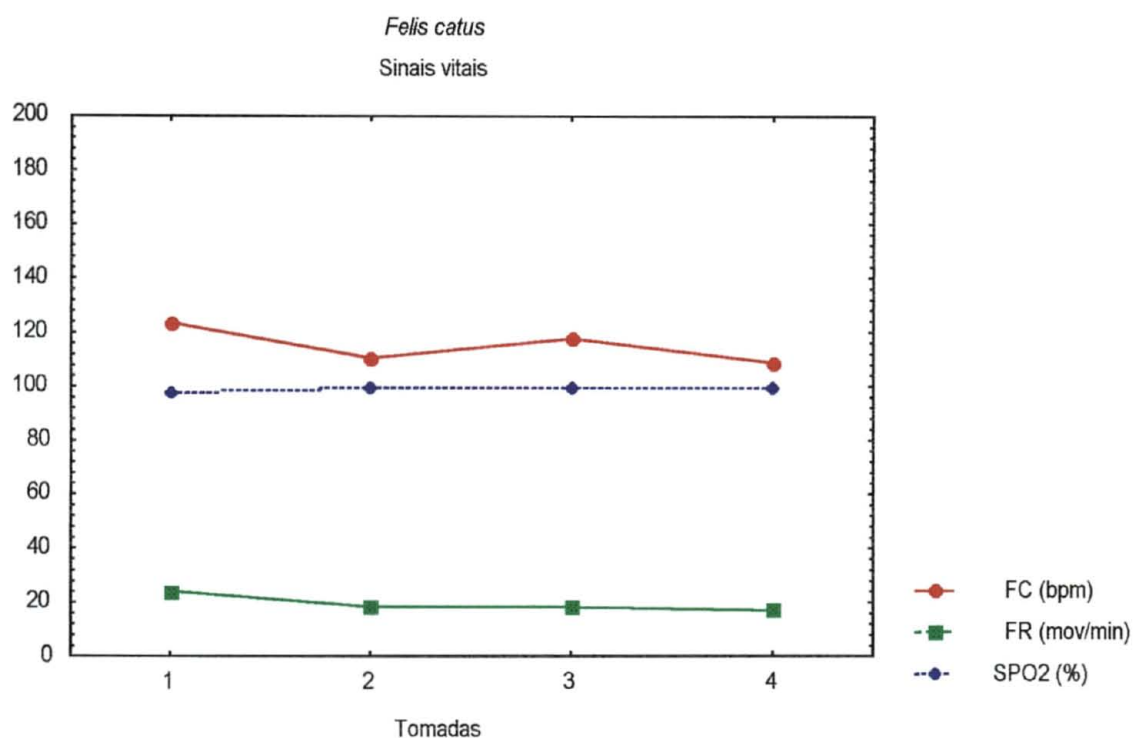


GRÁFICO 18 - VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm), RESPIRATÓRIA (mov/min) E SPO₂ (%) EM FÊMEAS DE GATO-DOMÉSTICO (*Felis catus*), n=5, SUBMETIDAS A ANESTESIA E LAPAROSCOPIA COM MANIPULAÇÃO GENITAL, CURITIBA – PR, 2001.



4.4. Achados laparoscópicos e correlação entre as variáveis

Com a finalidade de discutir as possíveis correlações entre cortisol sérico, corticosterona fecal, achados laparoscópicos e valores de estradiol e progesterona séricos, os dados reprodutivos, ainda que não tenham sido objetivo do presente estudo, estão apresentados na tabela 6. Destaca-se que apesar de todas as fêmeas com pontos de ovulação recentes terem sido inseminadas artificialmente, nenhum nascimento de filhotes foi obtido num total de 35 inseminações.

Alguns coeficientes de correlação significativos ($p < 0,05$) foram encontrados entre as variáveis estudadas. Em gato-do-mato-pequeno o cortisol sérico médio teve correlação positiva com o diâmetro de corpo lúteo ($r = 0,73$).

Nas fêmeas de gato-maracajá, o cortisol sérico médio apresentou correlação positiva com o diâmetro de corpo lúteo ($r = 0,86$), o número de corpos

lúteos ($r=0,91$), a concentração de progesterona sérica ($r=0,84$) e com a média de corticóides fecais pré-laparoscopia ($r=0,90$), o qual por sua vez teve correlação com a progesterona sérica média ($r = 0,94$) e com o diâmetro de corpo lúteo ($r=0,82$).

Em jaguatiricas, correlações significativas foram observadas entre cortisol sérico e diâmetro folicular ($r=0,83$) e entre a média da corticosterona fecal pré-procedimento e a concentração sérica de progesterona ($r=0,64$).

As gatas domésticas apresentaram correlação positiva entre a média do cortisol sérico e os corticóides fecais pós-laparoscopia ($r=0,90$), sem nenhuma correlação significativa com os achados reprodutivos. Do mesmo modo, as pumas e as onças não apresentaram correlação significativa em nenhuma variável estudada.

TABELA 6 – MÉDIA (\pm EPM) DOS ACHADOS OVARIANOS E ESTRADIOL (E2) E PROGESTERONA (P4) SÉRICOS EM FÊMEAS DE GATO-DO-MATO-PEQUENO ($n=6$)¹, GATO-MARACAJÁ ($n=4$), JAGUATIRICA ($n=8$), PUMA ($n=3$), ONÇA-PINTADA ($n=2$) E GATO DOMÉSTICO ($n=8$), SUBMETIDAS A ESTIMULAÇÃO OVARIANA COM GONADOTROFINAS EXÓGENAS, CURITIBA – PR, 2001 e 2002.

Espécie (n) ²	Folículo		Corpo lúteo		Número total de estruturas ovarianas	E2 (pg.ml ⁻¹)	P4 (ng.ml ⁻¹)
	Número*	Diâmetro (mm)	Número*	Diâmetro (mm)			
Lti (n = 8)	4,6 \pm 0,9 ^b	3,2 \pm 0,3 ^b	5,8 \pm 1,2 ^a	3,3 \pm 0,6 ^a	10,5 \pm 1,7 ^{ab}	926,4 \pm 232,0 ^a	6,25 \pm 1,9 ^a
Lwi (n = 6)	2,1 \pm 0,6 ^b	6,2 \pm 1,9 ^a	3,0 \pm 0,9 ^a	2,8 \pm 0,3 ^a	5,1 \pm 1,0 ^b	248,3 \pm 52,7 ^b	1,9 \pm 0,5 ^a
Lpa (n = 10)	9,6 \pm 2,4 ^a	6,3 \pm 1,7 ^a	3,0 \pm 1,1 ^a	3,5 \pm 0,5 ^a	11 \pm 1,9 ^a	1282,1 \pm 285,8 ^a	4,4 \pm 1,3 ^a
Pco (n = 6)	3,5 \pm 1,3 ^b	5,7 \pm 0,6 ^b	3,5 \pm 2,8 ^a	3,9	7 \pm 3,5 ^{ab}	512,5 \pm 265,3 ^b	7,19 \pm 2,3 ^a
Pon (n = 4)	1,6	7,8	0	0	5	356,6 \pm 246,7 ^b	0,3 \pm 0,1 ^a
Fca (n = 8)	2,0 \pm 0,9 ^b	2,6 \pm 0,3 ^b	4,7 \pm 0,9 ^a	2,8 \pm 0,3 ^a	6,7 \pm 1,5 ^{ab}	31,9 \pm 7,5 ^b	14,4 \pm 6,5 ^b

1 – Números entre parênteses representam o número de indivíduos.

2 – Números entre parênteses representam o número de procedimentos.

* - Os números representam a quantidade média de estruturas encontradas.

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies.

5 - DISCUSSÃO

Com base nos dados de literatura disponíveis, os resultados obtidos neste trabalho constituem o primeiro relato para a dosagem de hormônios adrenais, medindo-se ao mesmo tempo cortisol sérico e corticosterona fecal em cinco espécies de felídeos sul-americanos submetidos aos procedimentos de inseminação artificial. Da mesma forma, constitui-se no primeiro trabalho com avaliação da progressão do cortisol sérico durante o procedimento de laparoscopia.

De maneira geral, os dados de literatura indicam a laparoscopia como sendo menos estressante quando comparada com cirurgias invasivas, evidenciada pela menor produção de cortisol. Os relatos de ENGIN *et al.* (1998), FORNARA *et al.* (2000), MARCOVICH *et al.* (2001), MIYAKE *et al.* (2002), BURPEE *et al.* (2002), entre outros, indicam a menor resposta ao estresse com o uso da laparoscopia em relação às cirurgias abertas, porém os procedimentos para inseminação artificial em felinos selvagens são realizados exclusivamente por laparoscopia, não sendo possível neste trabalho a comparação direta com outros métodos reprodutivos e/ou cirúrgicos mais invasivos. Da mesma forma, não existem dados disponíveis na literatura quanto à secreção de cortisol e corticosterona durante situações de monta natural, para que se pudesse fazer a comparação com os procedimentos de laparoscopia e inseminação artificial.

Em virtude de não ocorrerem sinais de infecção ou outros comprometimentos à saúde dos animais estudados, a técnica laparoscópica mostrou-se eficiente para o uso no Zoológico de Curitiba e, a partir dos experimentos realizados neste trabalho, passou a ser utilizada em outras situações dentro da rotina do departamento, como forma de reduzir o trauma cirúrgico e o tempo de tratamento pós-operatório. De qualquer modo é uma técnica estressante como se discute a seguir.

5.1 Cortisol sérico

Pela avaliação de cortisol sérico no início do procedimento, poder-se-ia aventar a hipótese de que a secreção do hormônio devido ao estresse de contenção

e indução da anestesia foi menor em jaguatiricas, onças-pintadas e gatas domésticas, quando comparadas às fêmeas de gato-maracajá, gato-do-mato-pequeno e pumas. Cabe lembrar que animais contidos fisicamente para a aplicação do anestésico, principalmente se for acompanhada de grande agitação motora, podem apresentar níveis mais elevados de cortisol sérico do que aqueles submetidos apenas à contenção química (MORTON *et al.*, 1995). Isto poderia explicar, pelo menos em parte, os níveis iniciais mais baixos no cortisol em onças, porém não em pumas, já que os grandes felinos foram contidos apenas quimicamente. Entretanto, não se pode excluir a possibilidade de os níveis séricos de cortisol ao início do procedimento estarem apenas refletindo uma maior atividade adrenal espécie-específica ou já elevada pelos diferentes agentes estressores do cativeiro, e não uma resposta mais intensa ao estresse da contenção em si. Discussão adicional será feita em relação à pumas, que apresentaram tanto a concentração inicial como a média global mais alta em relação à todas as outras espécies.

A relação entre os resultados de cortisol sérico encontrados para as espécies do gênero *Leopardus* foi semelhante à obtida em um estudo sobre respostas de machos submetidos à colheita de sêmen por eletroejaculação (SWANSON *et al.*, 2003). Entretanto, como o procedimento de eletroejaculação é muito mais rápido, durando cerca de 30 minutos, os valores de cortisol reportados são menores: gato-do-mato-pequeno 251,34; gato-maracajá, 150,08 e jaguatirica 97,11 nMol/L. Além disso, como demonstrado em pantera-nebulosa por WIELEBNOWSKI *et al.* (2002), é possível que a secreção de corticóides seja maior em fêmeas do que em machos, em condições experimentais similares. Cabe ainda destacar que o grau de atividade ovariana na maioria das fêmeas do presente estudo estava elevado, em função da estimulação com gonadotrofinas exógenas, o que pode também alterar o perfil de secreção do cortisol e justificar algumas das diferenças encontradas em relação aos dados de literatura.

Do mesmo modo, os resultados de NOGUEIRA e SILVA (1997) para cortisol sérico em gato-do-mato-pequeno (237 ± 42 nMol/L) e jaguatirica (97 ± 12 nMol/L) são menores do que os obtidos neste trabalho, entretanto não há citação quanto ao sexo dos animais. Também neste estudo de NOGUEIRA e SILVA

(1997), as jagatiricas tiveram valores menores em comparação ao gato-do-mato-pequeno.

Os valores encontrados neste trabalho para as amostras iniciais em pumas (740 ± 141) e onças (186 ± 34) foram bastante similares aos descritos por NOGUEIRA e SILVA (1997) para as mesmas espécies (respectivamente 670 ± 118 nMol/L e 166 ± 33 nMol/L). Porém, da mesma forma como para os pequenos felinos, não há referência quanto ao gênero, nem tampouco descrição do procedimento experimental utilizado. Valores similares ao presente trabalho foram também descritos por HARLOW *et al.* (1992) em pumas de vida livre submetidos a contenção química (variação de 497,44 a 893,91 nMol/L) assim como WILDT *et al.*, (1988) os quais encontraram valores variando entre 601,46 e 1445,71 nMol/L. Aparentemente, como sugestão inclusive de outros autores (SWANSON *et al.*, 2003), esta maior atividade adrenocortical em pumas poderia ser resultado do maior tempo necessário para a indução da anestesia nesta espécie, quando comparado com onça ou os pequenos felinos. Entretanto, os valores de tempo desde a administração do anestésico injetável até o início da anestesia inalatória (o qual inclui também o tempo para deslocamento do animal até a sala de cirurgia), neste trabalho, variaram de 8 a 40 minutos, sendo os valores maiores os referentes a onças e pumas, porém sem diferença significativa entre estas duas últimas. Deste modo, os níveis mais elevados de cortisol sérico em pumas, devem refletir uma maior sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ao estresse da contenção e anestesia e não em relação ao tempo de indução. Inclusive, os dados de corticóides fecais aqui encontrados, a serem discutidos na seqüência, dão suporte a esta hipótese.

Os valores para gatos domésticos também diferem um pouco dos dados reportados na literatura, sendo maiores os obtidos neste experimento em relação às médias apresentadas por BALDWIN *et al.* (1996; 26,2 a 49,0 nMol/L), CRAGER *et al.* (1994; 38,3 nMol/L), PETERSON *et al.* (1994; 35,0 nMol/L), WILLEMSE *et al.* (1993; 87 nMol/L) e MOON (1997; 137,95 nMol/L). Porém podem existir diferenças referentes à forma da colheita (com ou sem anestesia), procedimento realizado ou diferenças impostas pelo ritmo circadiano, já que os horários de colheita de amostras podem ser variáveis.

Como citado anteriormente, não existem dados referentes ao aumento de cortisol sérico durante o procedimento laparoscópico em felinos, por isso optou-se

por comparar os resultados obtidos neste trabalho com os reportados em estudos utilizando desafios com aplicações de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Ao se analisar a variação do cortisol ao longo do tempo de cirurgia fica evidenciado que os procedimentos aqui utilizados provocaram uma ativação da resposta adrenal, levando a aumentos no cortisol sérico da ordem de 170 a 330% em relação ao ponto inicial, enquanto STILWELL *et al.* (1996) obtiveram aumentos de apenas 27% entre os valores pré e pós-aplicação de ACTH.

Por outro lado, as variações aqui encontradas são comparáveis aos aumentos observados em gatos domésticos submetidos ao desafio com ACTH encontrados por MOON (1997), porém um pouco menores do que o aumento de 500% observado por CRAGER *et al.* (1994) e CARLSTEAD *et al.* (1992), 60 minutos e 30 minutos após aplicação de ACTH, respectivamente. Gatos domésticos de ambos os sexos apresentaram, após aplicação de ACTH, concentrações de cortisol sérico aumentadas mais de 1000%, permanecendo elevados por até 6 horas após a aplicação (GRAHAM e BROWN, 1996). Gatas domésticas testadas por BALDWIN *et al.* (1996) apresentaram aumento nos valores de cortisol sérico variando entre 313 e 668%, em relação ao valor basal, após aplicação de ACTH.

Nas fêmeas de gato doméstico e gato-do-mato-pequeno, o maior valor de cortisol foi observado na média da amostra três, coincidente com o momento em que o útero estava sendo manipulado para a inseminação artificial (fixado com pinça e perfurado por catéter endovenoso). O mesmo não foi observado nas outras espécies. Este aumento poderia sugerir uma maior estimulação de receptores de dor neste momento, gerando maior sensibilidade dolorosa. Entretanto, as respostas observadas por CARLSTEAD *et al.* (1992, 1993) em gatos domésticos e gatos-leopardo, sugerem que a resposta adrenocortical frente a um estímulo estressor ocasiona um pico máximo de cortisol sérico em 30 a 45 minutos e valores já menores ao redor de 60 minutos pós-estimulação. Deste modo, como a maioria dos procedimentos de laparoscopia foram concluídos em cerca de 60 minutos, deve-se considerar que um valor maior para a amostra 3 pode também estar apenas refletindo a dinâmica de ativação adrenal frente ao estresse da captura, anestesia e aplicação do trocarte, do que uma sensibilidade específica da genitália.

As fêmeas de puma e onça-pintada apresentaram picos de cortisol sérico na quarta amostra. Em uma onça foi possível colher uma quinta amostra, que

apresentou aumento em relação à média das amostras anteriores e 917% em relação à primeira amostra. Esse fato está de acordo com dados de literatura (HARLOW *et al.*, 1992) citando pumas que apresentaram picos de cortisol sérico 90 minutos após a aplicação do ACTH. Quando os valores aqui obtidos para onças são comparados com os descritos por BROWN *et al.* (1993) em leoas, pertencentes ao mesmo gênero, mas com peso mais elevado, verifica-se que as últimas apresentaram aumentos de 300%, 45 a 60 minutos após aplicação de ACTH. Apesar de ser citado por BROWN *et al.* (1993) que leões apresentam variação no cortisol menor que os pumas, no presente trabalho os valores obtidos para puma foram similares aos reportados para leões. TERIO *et al.* (1999) demonstraram em guepardos que o aumento no cortisol já ocorreu a partir de 10 minutos após a aplicação de ACTH, concordando com o obtido no presente estudo, já que logo nos minutos iniciais do procedimento de laparoscopia, já foram observados aumentos no cortisol, com algumas exceções individuais.

Dessa forma, como citado por BROWN *et al.* (1993) há uma ampla variação na atividade adrenal entre as espécies de felídeos sugerindo diferenças na resposta fisiológica aos estímulos estressores.

5.2 Corticóides fecais

Apesar de estarem incompletos, os dados relativos a corticosterona fecal em pumas e onças-pintadas são citados por serem possivelmente os primeiros relatos com essas espécies no que se refere a dosagem de hormônios adrenais nas fezes, seja como valor basal ou como resposta ao procedimento de laparoscopia.

Pela análise dos dados de corticóides fecais fica evidente que as fêmeas selvagens apresentam uma atividade adrenal maior, quando comparadas às fêmeas domésticas, o que pode sugerir um estresse de cativeiro para as primeiras muito mais intenso do que para estas últimas. Diferenças entre as espécies foram bem evidentes, com ampla variação na excreção de corticóides, como ocorrido principalmente entre os pequenos felinos. Destacam-se também as diferenças observadas entre indivíduos de uma mesma espécie. Esse perfil diferenciado, tanto no período basal quanto na resposta pós-operatória, poderia ser resultado de diferenças no metabolismo da espécie, peso corporal, características individuais e

diferenças nas condições de cativeiro tais como a qualidade do recinto, e a localização de um indivíduo em relação a outro, sejam da mesma espécie ou de espécies diferentes (felinos ou não). Variações circadianas no perfil de secreção do cortisol podem ser excluídas nas diferenças observadas entre indivíduos e espécies do presente estudo já que os valores encontrados nas fezes refletem a produção de hormônio durante o total de 24 horas.

Assim sendo, alguns fatores do ambiente de cativeiro merecem ser destacados para a análise das diferenças específicas e/ou individuais encontradas na atividade adrenal, incluindo as condições de recinto, tal como área, altura e ambientação. WIELEBNOWSKI *et al.* (2002) citam valores mais elevados de corticóides fecais em panteras-nebulosas alojadas em recintos baixos. No presente trabalho, a altura do recinto pôde ter grande influência principalmente entre os gatos-maracajá, espécie tipicamente arbórea. Alterações na qualidade de recintos influenciaram os valores de corticosterona fecal, conforme descrito por MOREIRA (2001). Valores basais variando de 467,9 a 568,7 ng/g para gato-do-mato-pequeno e de 111,3 a 190,9 ng/g para gato-maracajá foram aumentados para valores que variavam de 578,1 a 1126,8 ng/g e 131,5 a 266,5 ng/g respectivamente, apenas pela mudança dos animais de um recinto amplo e ambientado com troncos e local de esconderijo para recintos menores e sem ambientação. Em estudo prévio no Setor Extra do Zoológico de Curitiba, com alguns dos mesmos indivíduos aqui utilizados, a ambientação dos recintos não foi suficiente para diminuir os corticóides fecais, indicando a necessidade de se ampliar também a área e a altura dos mesmos, principalmente para gatos-maracajá (OLIVEIRA *et al.* 2000, dados não publicados).

Outro fator descrito por WIELEBNOWSKI *et al.* (2002) como sendo um importante agente estressor é a quantidade de tratadores responsáveis por um determinado animal, pois quanto maior o número de pessoas, ou maior o rodízio de funcionários, maior o nível de corticóides fecais, indicando haver uma “familiarização” do animal com o “seu” tratador. As variações ocorridas nos valores de corticosterona fecal, tanto antes quanto depois do procedimento laparoscópico, podem ter relação com a rotatividade de funcionários, já que vários tratadores prestaram serviço durante o estudo. Além disso, a presença de outras pessoas, tanto funcionários da manutenção quanto os componentes da equipe técnica

durante os procedimentos de contenção dos animais em recintos vizinhos, pode ter influenciado a secreção de corticóides.

Quando as espécies selvagens são comparadas entre si, é demonstrado que as fêmeas de menor porte (gato-do-mato-pequeno), são as que apresentam as maiores taxas de excreção de corticóides fecais. Estudos anteriores no Laboratório de Fisiologia da Reprodução, Setor de Ciências Biológicas, UFPR, demonstraram comportamento similar entre as três espécies do gênero *Leopardus*. As médias observadas em animais não anestesiados durante o período de estudo comportamental (cerca de seis meses de acompanhamento) foram de 450 ng/g de fezes para gato-maracajá e 550 para gato-do-mato-pequeno (OLIVEIRA *et al.* 2000, dados não publicados). Esses valores referem-se a machos e fêmeas, não tendo sido observada diferença significativa entre os sexos.

Os níveis basais de corticóides fecais, em ng/g de fezes, em machos de jaguatirica (253,1), gato-maracajá (421,8) e gato-do-mato-pequeno (419,5), foram aumentados em média de 400 a 600% após serem submetidos a procedimentos de anestesia e eletroejaculação passando para 424 ng/g em jaguatirica, 1215 ng/g em gato-maracajá e 978 ng/g em gato-do-mato-pequeno (MORAIS *et al.*, 1997). Como já citado para cortisol sérico, os procedimentos de eletroejaculação são mais rápidos e não invasivos como as laparoscopias. Os valores médios encontrados em fêmeas de gato-do-mato-pequeno, gato-maracajá e jaguatiricas são maiores que os citados para os machos. Essa mesma relação foi descrita por WIELEBNOWSKI *et al.* (2002) em pantera-nebulosa em que fêmeas exibiram valores significativamente maiores que os machos. Concordando com os autores, pode-se sugerir que essa seja uma adaptação evolutiva das fêmeas para aumentar a vigilância a fim de proteger e cuidar dos filhotes ou se prevenir de agressões dos machos dominantes. Além disso, as fêmeas geralmente são menores que os machos e mais sujeitas a predação. Essas diferenças intersexuais já haviam sido descritas para roedores, cães e primatas, incluindo os humanos.

Os valores reportados por STILWELL *et al.* (1996) para jaguatiricas ($1920,7 \pm 275,1$ ng/g), são maiores do que os encontrados neste trabalho, porém foram utilizadas amostras liofilizadas de fezes, o que impossibilita uma comparação direta. Entre os grandes felinos, os mesmos autores citam valores de 77,4 ng/g para guepardos, 141,1 ng/g em pantera-nebulosa, 302,4 ng/g em leopardo-das-neves e

618,0 ng/g em tigres, porém assim como em jaguatiricas, foram utilizadas amostras de fezes liofilizadas. WIELEBNOWSKI *et al.* (2002) descrevem valores basais médios de $97,4 \pm 11,6$ ng/g de corticóides fecais, com variação entre 17,2 ng/g e 1401,4 ng/g em pantera-nebulosa.

De maneira geral, os valores citados para *Leopardus* referem-se a dados de animais de cativeiro submetidos a diferentes manejos. Não existem na literatura dados de animais de vida livre que poderiam confirmar se os altos índices, principalmente para gato-do-mato-pequeno, são normais ou refletiriam estresse crônico.

Os valores médios citados por GRAHAM e BROWN (1996) para gatos domésticos foram de 51,1 ng/g e houve aumento no metabólito do cortisol nas fezes, 24 a 48 horas após a aplicação de ACTH, sendo que o aumento sobre o valor basal foi de 238% nos machos e de 826% nas fêmeas.

Observando os valores médios em cada dia experimental, fica ainda mais evidente que existem vários fatores estressantes no ambiente de cativeiro, gerando picos ocasionais em alguns indivíduos, e como já citados anteriormente, aparentemente não associados a qualquer dos procedimentos utilizados no presente estudo. Entretanto todas as fêmeas apresentaram picos máximos de corticóides fecais a partir de 24 horas após a anestesia e laparoscopia, sendo que as fêmeas de gato-do-mato-pequeno apresentaram o pico com 48 horas. Em tigresas e fêmeas de pantera-nebulosa, um pico máximo de corticóides foi registrado 24 horas após o procedimento de inseminação artificial por laparoscopia, com duração de dois dias, em seis das nove fêmeas operadas (STILWELL *et al.*, 1996). De maneira semelhante às fêmeas de gato-do-mato-pequeno, chimpanzés apresentaram picos de corticóides fecais 48 horas após serem submetidos a anestesia como agente estressor. Estudos anteriores descreviam esse tempo como sendo normal para o trânsito intestinal entre alguns primatas (WHITTEN *et al.*, 1998), o que também foi encontrado por GRAHAM e BROWN (1996), com picos de eliminação do corticóide radioativo infundido nos animais, sendo observados em 24-48 horas.

Ao se avaliar o período compreendido entre as aplicações de eCG, hCG e a laparoscopia, percebe-se que apesar de a administração dos hormônios representar uma situação teoricamente estressante para as espécies selvagens, principalmente para os pequenos felinos que são capturados para aplicação das

injeções, não foram encontradas elevações significativas nos corticóides fecais. As fêmeas de gato-maracajá e jaguatirica tenderam a apresentar aumentos na atividade adrenal ao final dos cinco dias, sob o efeito da estimulação ovariana, o que pode sugerir também uma relação entre o aumento de esteróides sexuais e a atividade adrenal, como será discutido adiante dentro da análise das correlações entre variáveis.

Apesar das diferenças nos valores médios absolutos ao longo do experimento nas espécies estudadas, o aumento médio na taxa de excreção, frente ao estresse da laparoscopia foi similar entre as fêmeas estudadas, oscilando entre 170 e 600%. Esse aumento é muito diferente do aumento de cerca de 6000% em relação ao valor basal apresentado por STILWELL *et al.* (1996), para fêmea de pantera-nebulosa (de 141,4 para 8698,9 ng/g de fezes secas). Porém, ao contrário dos animais desta pesquisa, que tiveram um tempo médio de anestesia de uma hora, a fêmea de pantera-nebulosa foi mantida anestesiada durante três horas e ao invés do estresse da laparoscopia, teve a atividade adrenal estimulada por ACTH. Em guepardos, o aumento nos metabólitos de cortisol nas fezes, 48 horas após aplicação de ACTH, variou de 690 a 4194% acima do valor basal (TERIO *et al.*, 1999).

De modo geral, pode-se afirmar que, independente do estado de atividade da adrenal pré-laparoscopia, o procedimento teve um efeito estimulador da adrenal bastante semelhante entre as espécies estudadas já que todas apresentaram aumentos significativos após o procedimento laparoscópico. Entretanto, algumas variações foram observadas para o tempo necessário ao retorno aos valores basais, sendo que gato-do-mato-pequeno apresentou pico com 48 horas e retorno aos níveis basais no sexto dia. Já as fêmeas de gato-maracajá, jaguatirica e gato doméstico apresentaram picos com 24 horas e retorno aos níveis basais no quinto, quarto e segundo dias respectivamente, sugerindo uma resposta de menor duração e/ou uma melhor resolução pós-operatória em jaguatiricas e gatas domésticas.

Entre as fêmeas de puma e onça-pintada, os problemas relativos à falta de colheita de algumas amostras dificultaram a avaliação completa dos resultados. Todos os animais anestesiados eram mantidos em caixas de transporte até a completa recuperação da anestesia. Os pequenos felídeos retornavam ao seu recinto geralmente no mesmo dia da laparoscopia, enquanto as fêmeas de grandes

felídeos eram mantidas nas caixas até o dia seguinte à laparoscopia, o que implicou na ausência de fezes no primeiro dia após o procedimento. Quando avaliadas individualmente, tanto as pumas quanto as onças-pintadas apresentaram aumento entre o período basal e o pós-operatório, porém não é possível determinar qual o momento exato do pico. Oscilações de perfil semelhante às apresentadas pela fêmea Pco 03 foram também descritas por WIELEBNOWSKI et al. (2002) em pantera-nebulosa e poderiam ser justificadas pela presença deste animal em um recinto de exposição, compartilhado com um macho, além de sofrer também a mudança de tratadores. Esses fatores podem ter colaborado para a instabilidade nos valores de corticosterona fecal ao longo do experimento, evidenciando através da excreção de corticóides fecais o estresse cumulativo da exposição ao público, à presença contínua do macho e a alta rotatividade de funcionários. Os valores de corticóides das fêmeas de puma mantidas fora da visitação pública foram significativamente menores, indicando um efeito da condição de exposição sobre a fêmea Pco3.

No caso das onças-pintadas, apesar de estarem em recintos de exposição ao público, estas apresentaram os menores valores médios de corticosterona fecal basal entre as espécies selvagens, sugerindo que características inerentes às próprias espécies podem ser mais importantes que os agentes estressores externos, ou ainda a adaptação das onças à presença do público. Cabe ressaltar, ainda, que as duas fêmeas de onça compartilhavam um mesmo recinto, não estando, como a puma Pco3, expostas à presença constante de um macho. Pode-se, portanto, aventar a possibilidade de que, nas condições descritas, a presença do macho poderia representar uma situação de maior estresse para a fêmea de puma, quando comparada com a exposição ao público. De qualquer modo, um delineamento experimental específico seria necessário para a comprovação desta hipótese.

Com base nos estudos de BALAGUE *et al.* (1999) e TUNG e SMITH (1999), o estresse cirúrgico da laparoscopia observado em todas as fêmeas aqui estudadas poderia ser minimizado ainda mais com a substituição do insuflador manual de ar ambiente, por aplicação de CO₂ ou levantamento da parede abdominal. Esses procedimentos causariam menor reação local e irritação das vísceras sendo, entretanto, necessário ainda confirmar sua eficiência em felinos.

5.3 Sinais vitais

A avaliação dos dados obtidos para frequências cardíaca e respiratória e saturação de O₂ arterial durante o período de anestesia sugerem ausência de modificações significativas ao longo do tempo, o que pode indicar que os diferentes momentos do procedimento, incluindo o momento da inserção do trocarte ou a manipulação da genitália, podem não ter representado situações adicionais de estresse aos animais. Não foram constatadas correlações entre os sinais vitais e os valores de cortisol sérico durante a procedimento, indicando que esses parâmetros não são ideais para mensuração de estresse isoladamente, durante laparoscopias para inseminação artificial.

As frequências cardíaca e respiratória médias encontradas nas gatas domésticas neste trabalho são menores que as reportadas por HODGSON *et al.* (1998), em animais submetidos a anestesia com isoflurano.

As maiores médias de frequência cardíaca e respiratória em fêmeas de gato-do-mato-pequeno podem estar relacionadas com o menor peso corporal e conseqüente maior taxa metabólica, assim como os menores valores encontrados nas onças-pintadas em relação ao maior tamanho. Entretanto, determinações destas mesmas variáveis em outras condições são necessárias para uma discussão mais aprofundada.

5.4 Achados laparoscópicos e correlações

Apesar de não serem objetivo deste trabalho, os dados relativos aos achados laparoscópicos da avaliação genital foram apresentados e serão discutidos por demonstrarem o estado reprodutivo específico em que as fêmeas se encontravam durante o período de avaliação da atividade adrenal, tendo particular importância a sua relação com os dados de hormônios adrenais. Como ressaltado anteriormente, tanto a atividade adrenal pode interferir na atividade reprodutiva, nos seus diversos níveis de controle, como a atividade ovariana e estado reprodutivo da fêmea, interferir na atividade adrenal.

Apesar das diferenças específicas já destacadas para a atividade adrenal ao longo do experimento, a resposta ovariana ao tratamento hormonal utilizado não

diferiu significativamente entre as diversas espécies, com um número médio de ovulações, indicado pelo número de corpos lúteos nos ovários, bastante semelhante entre as mesmas. Na verdade, ao contrário do que se esperaria numa situação fisiológica, a maior excreção de corticóides não teve uma relação inversa com a taxa de ovulação no presente estudo. Ao contrário, o que se observou foram correlações positivas e significativas entre o número e o diâmetro de corpos lúteos com cortisol sérico e/ou corticóides fecais. Várias hipóteses poderiam ser aventadas a partir destas relações, sendo uma delas o fato de que a própria ovulação, com elevação na secreção de progesterona e mudanças comportamentais associadas, se comporte como um agente estressor importante. Em felinos, o cio ou período de receptividade sexual também pode modificar a função adrenal na fêmea, uma vez que antecede uma situação de maior atividade em busca de parceiro compatível, e também de grande estresse, já que a aproximação e interação entre indivíduos adultos significam um momento de grande risco à sua integridade física. Como citado por MOSTL e PALME (2002) diversas situações estressantes são normais na vida de um animal, sendo a reprodução uma delas. Entre os felídeos selvagens mantidos em cativeiro, tentativas de reprodução natural muitas vezes podem ocasionar sérios danos a um ou a ambos os animais, tais como ferimentos, lacerações ou mesmo a morte de um dos indivíduos, causados pela aproximação forçada. Sabe-se que a presença de machos elevou significativamente a secreção de corticóides em fêmeas de guepardo 24 a 72 horas após a exposição (TERIO, *et al.*, 1999). No entanto não se sabe se a magnitude do estresse causado pela inseminação artificial via laparoscopia é maior, menor ou mesmo equivalente ao estresse causado pela aproximação.

As fêmeas de jaguatirica e de gato-do-mato-pequeno, apesar do número semelhante de ovulações, apresentavam ainda um grande número de folículos anovulatórios nos ovários, dando a estas espécies um número significativamente maior de estruturas ovarianas. Porém a menor ativação adrenal em fêmeas de jaguatirica em relação a gato-do-mato-pequeno, não favoreceu esta espécie no tratamento utilizado para a resposta ovariana. Ao contrário, as fêmeas de jaguatirica que apresentaram maior número de folículos ovarianos, foram também as que tiveram níveis mais elevados de corticóides, podendo também sugerir, mudanças associadas ao comportamento de cio e possibilidade eminente de cópula.

Infelizmente, concordando com HOWARD *et al.* (1993), que destaca o baixo índice de nascimentos após inseminação artificial em felinos, nenhum nascimento foi registrado apesar de todas as fêmeas com pontos recentes de ovulação em pelo menos um dos ovários terem sido inseminadas, mesmo nas gatas domésticas, as quais apresentaram os menores valores de corticosterona fecal, além de retornarem aos níveis basais no dia seguinte ao pico de corticosterona. Dessa forma fica evidente que outros fatores estão envolvidos no sucesso ou não da reprodução assistida, tais como a qualidade do sêmen, o tempo para aplicação intra-uterina, a anestesia e manipulação uterina (ROTH *et al.* (1997), local da deposição do sêmen, doses inadequadas dos hormônios aplicados, além de outros relacionados ao ambiente pós-cirúrgico. Assim sendo, a diminuição do estresse causado pela inseminação artificial pode favorecer, mas não garante o sucesso do método reprodutivo.

A utilização das gatas domésticas neste trabalho serviu para confirmar que técnicas reprodutivas similares às desenvolvidas para esses animais podem ser aplicadas aos felinos selvagens. Porém são necessárias precauções ao se fazer a adaptação dos resultados para as espécies selvagens, já que as fêmeas domésticas não estão expostas a diversas condições de manejo e comportamento como as selvagens. Como observado nos valores de corticosterona fecal, apesar de terem pesos semelhantes, as fêmeas de gato-do-mato-pequeno e gato-maracajá apresentaram valores muito acima dos encontrados para as domésticas.

6 - CONCLUSÕES

Considerando-se as condições experimentais descritas e os dados encontrados no presente estudo podemos concluir que:

1. Os procedimentos de anestesia e laparoscopia com manipulação genital para a inseminação artificial, apesar de representarem um evento estressante para todas as espécies estudadas, provocando aumentos significativos no nível de cortisol sérico e na taxa de excreção de corticóides fecais, apresentaram-se seguros para a finalidade proposta.
2. No gênero *Leopardus*, as fêmeas de jaguatiricas mantém o nível de atividade adrenal menor, em qualquer das situações estudadas, em relação a gato-do-mato-pequeno e gato-maracajá, de menor peso e semelhantes entre si, sugerindo que as fêmeas de menor porte são mais estressáveis em cativeiro, sendo necessário uma maior atenção quanto à construção e ambientação de recintos para estas espécies, de modo a permitir uma melhor condição de bem-estar animal.
3. As fêmeas de gatas domésticas apresentaram menor ativação adrenal em relação às espécies selvagens, apesar de não terem tido vantagem reprodutiva frente ao protocolo de reprodução assistida utilizado, levando à conclusão de que vários outros fatores são determinantes para o sucesso da técnica, além da simples redução do estresse cirúrgico.
4. O menor nível de cortisol sérico e fecal das fêmeas de jaguatirica e onça-pintada, pode favorecer estas espécies para o sucesso da inseminação artificial, pelo menos no que se refere às relações de estresse cirúrgico e reprodução, bem como para o sucesso da reprodução natural, desde que as demais variáveis sejam mantidas dentro de valores ideais, o que está de acordo com os dados de nascimento em cativeiro para estas espécies de felinos.

5. Pela correlação positiva observada entre as concentrações séricas e/ou fecais de corticóides com a presença de corpos lúteos no ovário, conclui-se que de algum modo, as mudanças impostas pelos eventos hormonais, bioquímicos e/ou comportamentais associados à ovulação representam uma situação de estresse em felinos.
6. Pela avaliação da atividade adrenocortical em fêmeas de puma, através da quantificação de corticóides fecais, conclui-se que as concentrações séricas elevadas de cortisol, tanto neste experimento como em dados da literatura, parecem indicar apenas uma maior reação ao estresse de contenção química e não uma maior atividade adrenal inerente à espécie. Protocolos alternativos de sedação e anestesia devem ser testados na tentativa de reduzir o estresse de qualquer procedimento que envolva a contenção química em pumas.
7. Os parâmetros vitais não apresentaram alterações estatisticamente significativas durante os procedimentos de anestesia, laparoscopia e manipulação genital em nenhuma das espécies selvagens estudadas, impedindo o uso isolado desses dados para determinação de estresse.
8. Tanto a técnica de extração dos metabólitos fecais, quanto as dosagens de corticosterona fecal, mostraram-se úteis na indicação de atividade adrenal em todas as espécies estudadas, podendo ser utilizadas para outras situações experimentais.
9. Diferenças individuais marcantes podem ser observadas pelo acompanhamento da excreção de corticóides nas fezes, possibilitando o uso desta técnica para acompanhamento individualizado do impacto de mudanças no ambiente de cativeiro sobre o bem-estar animal.
10. Devido à facilidade no manuseio e por se mostrar segura, a técnica de laparoscopia torna-se uma ferramenta útil e adequada para a realização de outros procedimentos além da reprodução assistida, podendo ser empregada com maior frequência dentro do Departamento de Zoológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADANIA, C. H. Situação atual da população de felinos em cativeiro no Brasil. In: CURSO DE EXTENSÃO FELINOS SELVAGENS: BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS E CONSERVAÇÃO, 1998, Curitiba. **Anais**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998.
- BALAGUE C, TARGARONA EM, PUJOL M, FILELLA X, ESPERT JJ, TRIAS M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. **Surg Endosc** Aug;n.13(8), p.792-796, 1999.
- BALDWIN, C.J.; PETER,A.T. e BOSU,W.T.K. Adrenocortical fnction in the domestic cat during teatment with levonorgestrel. **Research in Veterinary Science**, n. 60, p. 205 - 208, 1996.
- BALLONE, G.J. - Estresse - in. **PsiquWeb Psiquiatria Geral**, Internet, última revisão, 2002 - disponível em <http://www.psiqweb.med.br/cursos/stress1.html> acesso em 27/11/02
- BAMBINO, T.H.; HSUEH, J.W. Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis *in vivo* and *in vitro*. **Endocrinology**, n.108, p.2142-2148, 1981.
- BARONE, M.A., WILDT, D.E., BYERS, A.P. Gonadotropin dose and timing of anesthesia for laparoscopic artificial insemination in the puma (*Felis concolor*). **Journal of Reproduction & Fertility**. n.101, p. 103-108, 1994.
- BEERDA, B.; SCHILDER, M. B. H.; JANSSEN, N. S. C. R. M. e MOL, J. A. The use of saliva cortisol, urinary cortisol and catecholamine measurement for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. **Hormones and Behavior** 30, 272 - 279, 1996
- BERCZI, I. The stress concept and neuroimmunoregulation in modern biology. **Annals of the New York Academy of Science**, vol.851, p.3-12, 1998.
- BERGERON, R.; SCOTT, S.L.; EMOND, E.P.; MERCIER, F.; COOK, N.J.; SCHAEFER, A.L. Physiology and behavior of dogs during air transport. **Can. J. Vet. Res.** n.66 (3), p. 211-216, 2002.
- BROWN, J.L.; BUSH, M.; PACKER, C.; PUSEY, A.E.; MONFORT, S.L.; O'BRIEN,S.J.; JANSSEN,D.L. e WILDT, D.E. Hormonal characteristics of free-ranging female lions (*Panthera leo*) of the Seringeti plains and Ngorogoro crater. **Journal of Reproduction & Fertility**, n. 97, p. 107-114, 1993.
- BROWN, J.L.; GOODROWE, K.L.; SIMMONS, L.G.; ARMSTRONG, D.L.; WILDT, D.E. Evaluation of the pituitary-gonadal response to GnRH, and adrenal status in the leopard (*Panthera pardus japonensis*) and tiger (*Panthera tigris*). **Journal of Reproduction & Fertility**. N.82, p. 227-236, 1988

- BUMSTEAD, P.; KNAPIK, D.; FITCH, W.; RUSSELL, S. **Feline Facts - A Resource Guide On The World's Cat Species**. International Society for Endangered Cats Canada Inc. U.S.A. 2001.
- BURPEE, S.E.; KURIAN, M.; MURAKAME, Y.; BENEVIDES, S.; GAGNER, M. The metabolic and immune response to laparoscopic versus open liver resection. **Surg. Endosc.** Jun; n. 16 (6). P. 899-904
- CALOGERO, A.E.; BAGDY, G.; D'AGATA, R.. Mechanisms of stress on reproduction: evidence for a complex intra-hypothalamic circuit. **Annals of the New York Academy of Science**, vol.851: 364-370, 1998.
- CANTAROW, A.; TRUMPER, M. **Clinical biochemistry**, 7 ED. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1975.
- CARLSTEAD, K., J.L. BROWN e J. SEIDENSTICKER Behavioural and adrenocortical responses do environmental changes in leopard cats (*Leopardus bengalensis*). **Zoo.Biology**, 12:321-331, 1993.
- CARLSTEAD, K., J.L. BROWN, S.L. MONFORT, R. KILLENS, D.E. WILDT. Urinary monitoring of adrenal responses to psychological stressors in domestic and nondomestic felids. **Zoo Biology**. 11: 165-176. 1992.
- CARTER, K.K.; CHAKRABORTY, P.K.; BUSH, M. Effects of electroejaculation and ketamine-HCl on serum cortisol, progesterone and testosterone in the male cat. **J. Andrology**, N.5, p.431-437, 1984.
- CHROUSOS, G.P. Stressors, stress and neuroendocrine integration of the adaptive response **Annals of the New York Academy of Science**, vol.851: 311-335, 1998.
- CONFORTI, V.A.; AZEVEDO, F.C.C. Local perceptions of jaguars (*Panthera onca*) and pumas (*Puma concolor*) in the Iguaçu National Park area, south Brazil. **Biological Conservation**, 2003. (In press)
- COOK, R. A.; STOLOFF, D. R. The application of Minimally Invasive Surgery for the Diagnosis and Treatment of Captive Wildlife. In FOWLER, M. E. & MILLER, R. E. **Zoo And Wild Animal Medicine, Current Therapy 4**, 1999.
- CRAGER, C.S.; DILLON, A.R.; KEMPPAINEN, R.J.; BREWER, W.G.; ANGARANO, D.W. Adrenocorticotropic hormone and cortisol concentrations after corticotropin-releasing hormone stimulation testing in cats administered methylprednisolone **Am. J. Vet. Res.** n.5 (55), p704-709, 1994
- D'HOOGE TM, BAMBRA CS, DE JONGE I, LAUWERYNS JM, KONINCKX PR. The prevalence of spontaneous endometriosis in the baboon (*Papio anubis*, *Papio cynocephalus*) increases with the duration of captivity. **Acta Obstet Gynecol Scand** Feb;75(2):98-101, 1996.

- DONOGHUE, A.M.; JOHNSTON, L.A.; ARMSTRONG, D.L.; SIMMONS, L.G.; WILDT, D.E. Birth of a Siberian tiger cub (*Panthera tigris altaica*) following laparoscopic intrauterine artificial insemination. **J. Zoo Wild.Med.**,n.24, n.185-189, 1993.
- ENGIN, A.; BOZKURT, B.S.; ERSOY, E.; OGUZ, M.; GOKCORA, N. Stress hyperglycemia in minimally invasive surgery. **Surg Laparosc Endosc** 1998 n.8(6), p.435-437, 1998.
- FONTAINE, Y.A. Adaptation *versus* accomodation: some neuroendocrine aspects in teleost fish **Fish Phisiology and Biochemistry** vol.11, n 1-6, pp. 147-154, 1993.
- FORNARA, P.; DOEHN, C.; SEYFARTH, M.; JOCHAM, D. Why is urological laparoscopy minimally invasive? **Eur Urol Mar**;n.37(3), p.241-250, 2000.
- FOWLER, M.E. Stress. In: FOWLER, M.E. (Ed.)**Zoo and Wild Animal Medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p . 33-35.
- FRANKLIN, W.L.; JOHNSON, W.E.; SARNO, R.J.; IRIARTE, J.A. cology of the Patagonia puma *Felis concolor patagonica* in southern Chile. **Biological Conservation** n.90, p. 33-40, 1999.
- FRIGERIO, D.; MOESTL, E.; KOTRSCHAL, K. Excreted Metabolites of Gonadal Steroid Hormones and Corticosterone in Greylag Geese (*Anser anser*) from Hatching to Fledging **General and Comparative Endocrinology**, Vol. 124, No. 2, pp. 246-255, 2001.
- GOYMANN, W.; MÖSTL, E.; VAN'T HOF, T.; EAST, M.L.; HOFER, H. Noninvasive Fecal Monitoring of Glucocorticoids in Spotted Hyenas, *Crocuta crocuta*. **General and Comparative Endocrinology**, Vol. 114, No. 3 (Jun), pp. 340-348, 1999.
- GRAHAM, L.H e BROWN, J.L. Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for noinvasive monitoring of adrenocortical function in endangered felids. **Zoo Biology**, n.15, p.71-82,1996.
- GREEN,R. **Wild cat species in the world**. Plymouth: Basset, 1991. 163p.
- GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**, 7. Ed., Rio de Janeiro, Guanabara, 1989, p. 721-731.
- HARLOW, H.J.; LINDZEY, F.G.; VAN SICKLE, W.D.; GERN, W.A. Stress response of cougars to nonlethal pursuit by hunters. **Can. J. Zool.** n. 70, p. 136-139, 1992.
- HARTLEY, J.E.; MEHIGAN, B.J.; MONSON, J.R. Alterations in the immune system and tumor growth in laparoscopy. **Surg Endosc Mar**;15(3):305-13, 2001.

- HORVATH, K.D.; WHELAN, R.L.; LIER, B.; VISCOMI, S.; BARRY, L.; BUCK, K.; BESSLER, M. The effects of elevated intraabdominal pressure, hypercarbia and positionig on the hemodynamic responses to laparoscopic colectomy in pigs. **Surg. Endosc.** n. 12 (2), p. 93-94, 1998
- HOWARD, J.G. Assisted reproductive techniques in nondomestic carnivores. In: FOWLER, M.E. & MILLER, R.E. **Zoo and Wild Animal Medicine**, Philadelphia: W. B. Saunders, 1999. p.449-457.
- HOWARD, J.G.; BARONE, M.A.; BYERS, A.P.; ROTH, T.L.; WILDT, D.E. Ovulation induction sensitivity and laparoscopic intrauterine insemination in the cheetah, puma, and clouded leopard. **Lab. Anim. Sci.**, n.42, p.421, 1993.
- HOWARD, J.G.; DONOGHUE, A.M.; BARONE, M.A.; GOODROWE, K.L.; BLUMMER, E.S.; SNODGRASS, K.; STARNES, D.; TUCKER, M.; BUSH, M.; WILDT, D.E. Successful induction of ovarian activity and laparoscopic intrauterine artificial insemination in the cheetah (*Acinonyx jubatus*). **J. Zoo Wildl. Med.**, n.23, p.288-300, 1992.
- HOWARD, J.G.; WOLF, K.; VARGAS, A.; MARINARI, P.; KREEGER, J.; WILLIAMSON, L.; WILDT, D.E. Enhanced Reproductive Efficiency and Pregnancies After Artificial Insemination in Black-footed Ferrets (*Mustela nigripes*). American Association Of Zoo Veterinarians Annual Meeting, 1997, Houston, Texas, USA. **Proceedings**. 1997, p 351-352.
- KOJIMA, K.; MAKI, S.; HIRATA, K.; HIGUCHI, S.; AKAZAWA, K.; TASHIRO, N. Relation of emotional behaviors to urine catecholamines and cortisol. **Physiology and Behavior**, v.3, n.57, p.445-449, 1995.
- KUNTZ, C.; KIENLE, P.; SCHMEDING, M.; BENNER, A.; AUTSCHBACH, F.; SCHWALBACH, P. Comparison of laparoscopic versus conventional technique in colonic and liver resection in a tumor-bearing small animal model. **Surg Endosc** Aug; n.16(8), p.1175-1181, 2002.
- LAUC, G.; DABELIC, S.; SUPRAHA, S.; FLÖGEL, M. Glicobiology of stress. **Annals of the New York Academy of Science**, vol.851: 397-403, 1998.
- LEITE, M.R.P. Relações entre a onça-pintada, onça-parda e moradores locais em três unidades de conservação da Floresta Atlântica do Estado do Paraná, Brasil. Dissertação (**Mestrado em Ciências Florestais**). UFPR, 2000.
- LYNCH, J.W.; ZIEGLER, T.E.; STRIER, K.B. Individual and Seasonal Variation in Fecal Testosterone and Cortisol Levels of Wild Male Tufted Capuchin Monkeys, *Cebus apella nigritus*. **Hormones and Behavior**, Vol. 41, No. 3, pp. 275-287, 2002.
- MARCOVICH, R.; WILLIAMS, A. L.; SEIFMAN, B. D.; WOLF, J. S. Jr. A canine model to assess the biochemical stress response to laparoscopic and open surgery. **J. Endourol.** v.10, n.15, p. 1005-1008, 2001.

- MATTERN, M.Y. e McLENNAN, D.A. Phylogeny and Speciation of Felids. **Cladistics**, n. 16, p. 232-253, 2000.
- MAZZOLLI, M.; GRAIPEL, M.E.; DUNSTONE, N. Mountain lion depredation in southern Brazil. **Biological Conservation** n. 105, p. 43-51, 2002.
- McGRAY, A.V.. Effects of psychological stress on male reproduction: a review. **Archives of Andrology**, n.13, p.1-17, 1984.
- MELLEN, J.D. Factors influencing reproductive success in small captive exotic felids (*Leopardus spp.*): a multiple regression analysis. **Zoo Biology** n.10, p.95-110, 1991.
- MENDOZA-SAGAON, M.; HANLY, E.J.; TALAMINI, M.A.; KUTKA, M.F.; GITZELMANN, C.A.; HERREMAN-SUQUET, K.; POULOSE, B.F.; PAIDAS, C.N.; DE MAIO, A. Comparison of the stress response after laparoscopic and open cholecystectomy. **Surg. Endosc.** N. 14 (12), p. 1136-1141, 2000.
- MERL, S.; SCHERZER, S.; PALME, R. e MÖSTL, E. Pain causes increased concentrations of glucocorticoid metabolites in horses feces. **Journal of Equine Veterinary Science** 09 (20), 586-580, 2000
- MIYAKE, H.; KAWABATA, G.; GOTOH, A.; FUJISAWA, M.; OKADA, H.; ARAKAWA, S.; KAMIDONO, S.; HARA, I. Comparison of surgical stress between laparoscopy and open surgery in the field of urology by measurement of humoral mediators. **Int J Urol** n.9(6), p.329-33, 2002.
- MOBERG, G.P. Biological response to stress: Key to assessment of animal well-being? In: MOBERG, G.P. (ed.) **Animal Stress**, American Physiological Society, Bethesda, 1985, p.27-50.
- MONFORT, S.L.; MASHBURN, K.L.; BREWER, B.A.; CREEL, S.R. Evaluating adrenal activity in African wild dogs (*Lycaon pictus*) by fecal corticosteroid analysis. **J Zoo Wildl Med** Jun;29(2):129-33, 1998.
- MOON, P.F. Cortisol suppression in cats after induction of anesthesia with etomidate, compared with ketamine-diazepam combination. **Am. J. Vet. Res.** n. 58, p. 868-871, 1997.
- MORAES, W.; MORAIS, R.N.; MOREIRA, N.; LACERDA, O.; GOMES, M.L.F., MUCCIOLO, R.G.; SWANSON, W.F. Successful artificial insemination after exogenous gonadotropin treatment in the ocelot (*Leopardus pardalis*) and tigrina (*Leopardus tigrinus*). AMERICAN ASSOCIATION OF ZOO VETERINARIANS ANNUAL MEETING, Houston, Texas, USA. **Proceedings**. 1997, p. 334-336.
- MORAIS, R.N. Fisiologia reprodutiva de pequenos felinos (*Leopardus pardalis*, *Leopardus wiedii* e *Leopardus tigrinus*): sobre a função testicular (gametogênica e esteroidogênica) de machos em cativeiro, incluindo variações sazonais. Tese (Doutorado em Reprodução Animal)

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 177 p., 1999.

- MORAIS, R.N.; MOREIRA, N.; MORAES, W.; MUCCIOLO, R.G.; LACERDA, O.; GOMES, M.L.F.; SWANSON, W.F.; GRAHAM, L.H.; BROWN, J.L.. Testicular and ovarian function in South American felids assessed by fecal steroids. **Proc. American Association Zoo Veterinarians**, p.561-565. 1996.
- MORAIS, R.N.; MUCCIOLO, R.G.; GOMES, M.L.F.; LACERDA, O.; MORAES, W.; MOREIRA, N.; SWANSON, W.F.; BROWN, J.L.. Adrenal activity assessed by fecal corticoids and male reproductive traits in three south american felid species. **Proc. American Association of Zoo Veterinarians**, p.220-223, 1997.
- MOREIRA, N. Reprodução e Estresse em Fêmeas de Felídeos do Gênero *Leopardus*. Curitiba. Tese (**Doutorado em Zoologia**) - Universidade Federal do Paraná, Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de Zoologia, 2001
- MORTON, D.J.; ANDERSON, E.; FOGGIN, C.M.; KOCK, M.D. e TIRAN, E.P. Plasma Cortisol as na Indicator of Stress Due to Capture and Translocation in Wildlife Species. **Veterinary Record** n.136, p.60-63, 1995.
- MOSS, A.M.; CLUTTON-BROCK, T. H.; MONFORT, S. L. Longitudinal Gonadal Steroid Excretion in Free-Living Male and Female Meerkats (*Suricata suricatta*) **General and Comparative Endocrinology**, Vol. 122, No. 2 (May) pp. 158-171, 2001.
- MOSTL, E.; MESSMANN, S.; BAGO, E.; ROBIA, C.; PALME, R. Measurement of glucocorticoid metabolite concentrations in faeces of domestic livestock **J. Vet. Med. A.** 46, 621-631, 1999.
- MOSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domest Anim Endocrinol** Jul; n.23(1-2), p.67-74, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of cats**. Washington, D.C., National Academy Press, 1986, 78 p.
- NINOMIYA, K.; KITANO, S.; YOSHIDA, T.; BANDO, T.; BAATAR, D.; MATSUMOTO, T. Comparison of pneumoperitoneum and abdominal wall lifting as to hemodynamics and surgical stress response during laparoscopic cholecystectomy. **Surg Endosc** Feb; n.12(2), p.124-128, 1998
- NOGUEIRA, G. P. e SILVA, J. C. R. Plasma cortisol Levels in captive wild Felines after chemical restraint **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 30 (11), 1959-1361, 1997
- NOWAK, R. M. **Walker's mammals of the world**. 6.ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1999. V.1, 836 p.

- NOWELL, K.; JACKSON, P. **Wild cats: status survey and conservation action plan**. Gland: IUCN (World Conservation Union), 1996. 382p.
- OLIVEIRA, T.G. e CASSARO, K. **Guia de identificação dos felinos brasileiros, 2 ed.** São Paulo, Sociedade de Zoológicos do Brasil, 1999. 60 p.
- OLIVEIRA, T.G. **Neotropical cats ecology and conservation**. São Luis: Universidade Federal do Maranhão, 1994. 244 p.
- ORTH, D. N.; KOVACS, W. J. The adrenal cortex. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. **Williams textbook of endocrinology**. 9. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.517-664
- PALME, R.; ROBIA, C.; MESMANN, S.; HOFER, J.; MÖSTL, E. Measurement of faecal cortisol metabolites in ruminants: a non-invasive parameter of adrenocortical function. **Wien. Tierärztl. Mschr.** n.86, p.237-241, 1999.
- PETERSON, M. E.; KEMPPAINEN, R. J.; ORTH, D. N. Plasma Concentration of Immunoreactive proopiomelanocortin peptides and cortisol in clinically normal cats. **Am. J. Vet. Res**, vol 55, N° 2, Fevereiro 1994.
- POL, F.; COURBOULAY, V.; COTTE, J.P.; MARTRENCHAR, A.; HAY, M.; MORMEDE, P. Urinary cortisol as an additional tool to assess the welfare of pregnant sows kept in two types of housing. **Vet Res** 2002 Jan-Feb;33(1):13-22
- POLISAR, J.; MAXIT, I.; SCOGNAMILLO, D.; FARRELL, L.; SUNQUIST, M.E.; EISENBERG, J.F. Jaguars, pumas, their prey base, and the cattle ranching: ecological interpretations of a management problem. **Biological Conservation** n.109, p. 297-310, 2003.
- POPE, C.E. Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. **Theriogenology** n.53, p. 163-174, 2000.
- RABIN, D.S.; JOHNSON, E.O.; BRANDON, D.D.; LIAPI, C.; CHROUSOS, G.P. Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine growth: possible role of the uterine estradiol receptor. **Biology of Reproduction**.v.1, n.42, p.74-80, 1990.
- RAWLINGS, C.A.; FOUTZ, T.L.; MAHAFFEY, M.B.; HOWERTH, E.W.; BEMENT, S.; CANALIS, C. A rapid and strong laparoscopic-assisted gastropexy in dogs. **Am J Vet Res** n.62(6), p.871-875, 2001.
- ROTH, T. L.; WOLFE, B. A.; LONG, J. A.; HOWARD, J.; WILDT, D. E. Effects of Equine Chorionic Gonadotropin, Human Chorionic Gonadotropin and Laparoscopic Artificial Insemination on Embryo, Endocrine and Luteal Characteristics in the Domestic Cat. **Biology of Reproduction** n.57, p.165-171, 1997.

- SAPOLSKY, R.M. Stress-induced suppression of testicular function in the wild baboon: role of glucocorticoids. **Endocrinology**, n.116, p.2273-2278. 1985
- SIETSES, C.; BEELEN, R.H.; MEIJER, S.; CUESTA, M.A. Immunological consequences of laparoscopic surgery, speculations on the cause and clinical implications. **Langenbecks Arch Surg** Jun; n.384(3), p.250-258, 1999.
- SMITH, J.D.; ALLEN, S.W.; QUANDT, J.E. Changes in cortisol concentration in response to stress and postoperative pain in client-owned cats and correlation with objective clinical variables. **Am. J. Vet. Res.** n.60, p.432-436. 1999.
- STEAD, S.K.; MELTZER, D.G.; PALME, R. The measurement of glucocorticoid concentrations in the serum and faeces of captive African elephants (*Loxodonta africana*) after ACTH stimulation. **J S Afr Vet Assoc** Sep;71(3):192-6, 2000.
- STILWELL, H.J.; BROWN, J.L.; GRAHAM, L.H. Assessment of a commercially available radioimmunoassay for the detection of fecal cortisol metabolites in several non-domestic felid species. **Proc. American Association Zoo Veterinarians.**, p.582-583.1996.
- STRIER, K.B.; ZIEGLER, T.E.; WITTEWER, D. J. Seasonal and Social Correlates of Fecal Testosterone and Cortisol Levels in Wild Male Muriquis (*Brachyteles arachnoides*) **Hormones and Behavior**, Vol. 35, No. 2, pp. 125-134, 1999.
- SUMAR, J.; BRAVO, P.W. In situ observation of the ovaries of llamas and alpacas by use of a laparoscopic technique. **J Am Vet Med Assoc** n.199(9), p.1159-1163, 1991.
- SWANSON W. F.; JOHNSON, W. E.; COMBRE, S. B.; CITINO, S. B., QUIGLEY, K. B.; BROUSSET, D.; MORAIS, R. N.; MOREIRA, S. J.; O'BRIEN; WILDT, D. E. Reproductive status of endemic felid species in latin american zoos and implications for ex situ conservation. **Zoo Biology**, 2003 (**In press**)
- SWANSON, W.F.; HOWARD, J.G.; ROTH, T.L.; BROWN, J.L.; ALVARADO, T.; BURTON, M.; STARNES, D.; WILDT, D.E. Responsiveness of ovaries to exogenous gonadotrophins and laparoscopic artificial insemination with frozen-thawed spermatozoa in ocelots (*Felis pardalis*). **Journal of Reproduction & Fertility**. 106(1), p.87-94, 1996.
- SWANSON, W.F.; WOLFE, B.A.; BROWN, J.L.; MARTIN-JIMENEZ, T.; RIVIERE, J.E.; ROTH, T.L.; WILDT, D.E. Pharmacokinetics and ovarian-stimulatory effects of equine and human chorionic gonadotropins administered singly and in combination in the domestic cat. **Biology of Reproduction**. n.57, p.295-302, 1997.

- SZABO, S. Hans Selye and the development of the stress concept. **Annals of the New York Academy of Science**, vol.851: 19-27, 1998.
- TERIO, K.A.; CITINO, S.B.; BROWN, J.L. Fecal cortisol metabolite analysis for noninvasive monitoring of adrenocortical function in the cheetah (*Acinonyx jubatus*). **J Zoo Wildl Med** Dec;30(4):484-91,1999.
- TEWES, M. E. e SCHMIDLY, D. J. The Neotropical Felids: Jaguar, Ocelot, Margay, and Jaguarundi. In: NOVAK, M; BAKER, J.A.; OBBARD, M. E.; MALLOCH, B. **Wild Furbearer Management and Conservation in North America**, Ontario Trappers Association & Ontario Ministry of Natural Resources, Canada, 1987. p.697-711.
- TUNG, P.H.; SMITH, C.D. Laparoscopic insufflation with room air causes exaggerated interleukin-6 response. **Surg Endosc** May; n.13(5), p.473-475, 1999.
- ULREY, D.E. e BERNARD, J.B. Meat diet for performing exotic cats. **J. Zoo Wildl. Med.**, n.20, p.20-25. 1989.
- VELLOSO, A. L.; WASSER, S. K.; MONFORT, S. L. e DIETZ, J. M. Longitudinal Fecal Steroid Excretion in Maned Wolves (*Chrysocyon brachyurus*) **General and Comparative Endocrinology** 112, 96 - 107, 1998.
- WACLAWICZEK, H.W.; SCHNEEBERGER, V.; BEKK, A.; DINNEWITZER, A.; SUNGLER, P.; BOECKL, O. Value of diagnostic laparoscopy and minimal invasive procedures in acute abdomen. **Zentralbl Chir**, n.122(12), p.1108-1112, 1997.
- WALLNER, B.; MÖSTL, E.; DITTAMI, J.; PROSSINGER, H. Fecal Glucocorticoids Document Stress in Female Barbary Macaques (*Macaca sylvanus*) **General and Comparative Endocrinology**, Vol. 113, No. 1, pp. 80-86, 1999.
- WASHBURN, B.E.; MILLSPAUGH, J.J. Effects of simulated environmental conditions on glucocorticoid metabolite measurements in white-tailed deer feces. **General and Comparative Endocrinology**, Vol. 127 (Jul), No. 3, pp. 217-222, 2002.
- WASSER, S. K.; HUNT, K. E.; BROWN, J. L.; COOPER, K.; CROCKETT, C. M.; BECHERT, U.; MILLSPAUGH, J. J.; LARSON, S.; MONFORT, S. L. A Generalized Fecal Glucocorticoid Assay for Use in a Diferent Array of Nondomestic Mammalian and Avian Species. **General and Comparative Endocrinology** n.120, p.260-275, 2000.
- WHITTEN, P. L.; STAVISKY, R.; AURELI, F. e RUSSEL, E. Response of fecal Cortisol to Stress in Captive Chimpanzees (*Pan troglodytes*). **American Journal of Primatology** 44, 57-69, 1998.

- WIELEBNOWSKI, N.C.; FLETCHALL, N.; CARLSTEAD, K.; BUSO, J.M.; BROWN, J. Noninvasive assessment of adrenal activity associated with husbandry and behavioral factors in the North American clouded leopard population. **Zoo Biology** n.21, p. 77-98, 2002
- WILDT, D.E. e ROTH, T.L. Assisted reproduction for managing and conserving threatened felids, **Ynt. Zoo Yb.**, n.35, p.164-172, 1997.
- WILDT, D.E.; HOWARD, J.G.; CHAKRABORTY, P.K. e BUSH, M. Reproductive Physiology of the clouded leopard: A circannual analysis of adrenal-pituitary-testicular relationships during electroejaculation or after an adrenocorticotropin hormone challenge. **Biology of Reproduction**. n. 34, p. 949-959, 1986.
- WILDT, D.E.; MELTZER, D.; CHAKRABORTY, P.K. e BUSH, M. Adrenal-testicular-pituitary relationships in the cheetah subjected to anesthesia/electroejaculation. **Biology of Reproduction**. n. 30, p. 665-672, 1984.
- WILDT, D.E.; PHILLIPS, L.G.; SIMMONS, L.G.; CHAKRABORTY, P.K.; BROWN, J.L.; HOWARD, J.C.; TEARE, A. e BUSH, M. A comparative analysis of ejaculate and hormonal characteristics of the captive male cheetah, leopard and puma. **Biology of Reproduction**. n. 38, p. 245-255, 1988.
- WILLEMSE, T.; VROOM, M.W.; MOL, J.A. Changes in plasma cortisol, corticotropin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone concentrations in cats before and after physical restraint and intradermal testing. **Am. J. Vet. Res.**, n.54, p.69-72, 1993.