

Juliana Costa da Conceição

Dinâmica de desenvolvimento folicular e perfil da
concentração plasmática de progesterona durante o ciclo
estral da Jumenta (*Equus asinus*)

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual
Paulista, Campus de Botucatu para a obtenção do
Título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de
Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Ass. Dr. Cezinande de Meira

Botucatu – SP

2005

AGRADECIMENTOS

Em especial ao Prof. Ass. Dr. Cezinande de Meira pela orientação durante estes dois anos.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – e ao Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, pela oportunidade de dar continuidade à minha formação profissional.

Aos professores, residentes e pós-graduandos do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, que de forma individual e diferenciada me acolheram de braços abertos.

A professora Eunice Oba pelo carinho, amizade e principalmente pela colaboração na realização deste estudo.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Zootecnia -Colina – SP, em especial ao Méd. Vet. José Victor de Oliveira, pela amizade e auxílio no desenvolvimento deste estudo.

Aos amigos, em especial Karina Alberti e Marilú Gioso, pelos momentos de descontração e incentivo vividos nestes dois anos.

A todos que de forma direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste meu ideal.

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	2
3. REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1.1 Fisiologia do desenvolvimento folicular	3
3.1.2 Oogênese e foliculogênese	3
3.2 Ciclo estral	5
3.2.1 Comportamento sexual e Duração do ciclo estral	5
3.2.2 Fisiologia ovariana	6
3.2.2.1 Ondas foliculares	6
3.2.2.2 Desvio folicular e seleção do folículo dominante	8
3.2.2.3 Atresia folicular	10
3.2.2.4 Ovulação	10
3.4 Corpo Lúteo e Concentração de Progesterona (P4)	12
4. MATERIAL E MÉTODO	14
4.1 Animais e local do estudo	14
4.2 Avaliação ultra-sonográfica	14
4.3 Análise Hormonal	15
4.4 Análise Estatística	16
5. RESULTADOS	17
5.1 Dinâmica folicular	17
5.2 Concentração de progesterona	18
5.3 Resultados (dados agrupados)	18
5.3.1. Dinâmica folicular e ovulação	18
5.3.2. Concentração de progesterona e diâmetro do corpo lúteo	19
5.3.3 Duração do ciclo estral	20

6. DISCUSSÃO -----	25
6.1 Concentração plasmática de progesterona -----	28
7. CONCLUSÃO -----	29
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA -----	30

LISTA DE FIGURAS

Páginas

- Figura 1:** Diâmetro médio (mm) do folículo dominante e do segundo maior folículo (subordinado), do dia da emergência até a ovulação (n=8), considerando as ondas foliculares maiores primárias. -----23
- Figura 2:** Diâmetro do CL (mm) e concentração plasmática de progesterona (ng/ml) em jumentas com simples (n=5) e duplas (n=3) ovulações, observada a partir da ovulação referência (D0). -----23
- Figura 3:** Concentração plasmática de progesterona (ng/ml) ao longo de dois ciclos estrais, cujos animais apresentaram ovulação durante o diestro. As setas indicam os dias que foram detectadas as ovulações de diestro (OV= ovulação). -----24

LISTA DE TABELAS

Páginas

Tabela 1: Dinâmica folicular observada durante o ciclo estral de jumentas caracterizado por uma (n=6) ou duas(n=4) ondas foliculares maiores em dez ciclos, considerando-se D0= dia da ovulação.----- 21

Tabela 2: Taxa de crescimento do folículo dominante e do segundo maior folículo (subordinado) antes e depois do desvio folicular e taxa de regressão do folículo subordinado depois do desvio folicular, durante o ciclo estral de jumentas (n=8).-----21

Tabela 3: Variáveis da dinâmica ovariana detectada a partir da onda folicular primária em todos os ciclos estrais (n=8).-----22

RESUMO

A atividade folicular ovariana foi estudada utilizando-se a ultra-sonografia e a concentração plasmática de progesterona (P4) ao longo de 10 ciclos estrais em jumentas da raça Marchador Brasileira. Diariamente exames ultra-sonográfico foram realizados e os dados compilados foram estudados retrospectivamente, baseando-se na identificação diária de cada folículo. Amostras de sangue foram colhidas diariamente a partir da ovulação (D0) até a ovulação subsequente. Os folículos com diâmetros ≥ 11 mm foram mensurados e o diâmetro médio foi registrado diariamente em um mapa representativo dos ovários realizando uma análise retrospectiva dos dados, permitindo a construção da dinâmica de crescimento folicular. Uma e duas ondas foliculares maiores foram detectadas em seis (60%) e quatro (40%) dos dez ciclos estrais estudados, respectivamente. A emergência da onda primária e divergência folicular para ciclos com uma onda maior foram $10,2 \pm 0,75$ e $14 \pm 0,81$ e para os ciclos com duas ondas maiores 9 ± 2 e $14,0 \pm 1,15$ dias pós-ovulação. O diâmetro máximo do folículo dominante nos ciclos com uma e duas ondas foliculares foram $37,2 \pm 3,35$ mm e $37,3 \pm 1,1$ mm, respectivamente. A duração média do intervalo interovulatório foi de $23 \pm 1,79$ e $22,3 \pm 1,26$ dias nos ciclos com uma ou duas ondas maiores. O diâmetro máximo do folículo dominante foi ligeiramente menor nos casos de ovulações duplas, em comparação às ovulações únicas ($p > 0,05$). Os corpos lúteos formados a partir de ovulações simples ou duplas apresentaram diâmetro de $26,2 \pm 4,4$ e $22,1 \pm 2,7$ mm, respectivamente, representando 66,1% e 64,1% do tamanho do folículo pré-ovulatório. A presença de dois corpos lúteos nos ovários das jumentas que apresentaram ovulações duplas, não refletiu em aumento significativo da concentração de progesterona.

ABSTRACT

The ovarian activity was accessed by ultrasound and progesterone plasma concentrations (P4) throughout 10 estrous cycles from Jennies (Marchador Brasileira). Daily ultrasound examinations were performed and the data was retrospectively studied based on daily identification of each follicle detected. Blood samples were collected every 24 hours from ovulation (D0) until the next identified ovulation. The follicles measuring 11mm were detected and their mean diameter was registered daily using an ovarian map and permitting a retrospective evaluation of the data, which represented the follicular growth dynamics. One and two major follicular waves were detected in six (60%) and four (40%) cycles respectively from ten estrous cycles in the present study. The primary wave emergency and follicle deviation from the cycles observed during the present study with one major follicular wave occurred at day 10.2 ± 0.75 and at day 14.1 ± 0.81 and for cycles with two major waves, those events occurred at 9 ± 2 and 14.0 ± 1.15 days after ovulation. The maximum diameter of the dominant follicle at the cycles with one and two follicular waves were 37.2 ± 3.35 mm and 37.3 ± 1.1 respectively. The mean intervals from two ovulations were 23 ± 1.79 and 22.3 ± 1.26 days when observed in cycles with one and two major follicular waves. The maximum diameter of the dominant follicle was slightly smaller when double ovulations were observed if compared with the single ovulations ($p > 0.05$). The corpora lutea formed from single ovulations or double ovulations presented a mean diameter of 26.2 ± 4.4 and 22.1 ± 2.7 mm, respectively, which represented 66.1% and 64.1% of the preovulatory follicle diameter. The presence of two CLs from double ovulations was not reflected by a significant increase on progesterone concentrations.

1. INTRODUÇÃO

A utilização da ultra-sonografia na reprodução animal permitiu aprimorar os conhecimentos da dinâmica ovariana durante o ciclo estral de diversas espécies domésticas, dentre elas, a bovina é a mais estudada. As pesquisas desenvolvidas nos últimos anos a respeito da atividade ovariana geraram importantes informações sobre as características da foliculogênese durante o ciclo estral. Essas características se mostram próprias para cada espécie (FORTUNE, 1994).

A caracterização do padrão de crescimento folicular e a crescente compreensão dos seus mecanismos reguladores são de grande utilidade na manipulação artificial da função ovariana, para um controle exógeno das ondas foliculares e dos fenômenos de recrutamento, emergência, seleção, desvio, dominância folicular, ovulação e atresia. A aplicabilidade desses conhecimentos e sua eficiência já foram comprovadas em programas de sincronização de cio e superovulação em bovinos, demonstrando estreita relação entre a fisiologia ovariana e a biotecnologia (ADAMS, 1994; MAPLETOFT et al., 1994).

Com relação à espécie eqüina os estudos informam a existência de variações nos modelos de desenvolvimento folicular de acordo com a raça e época da estação do ano (GINTHER & BERGFELT, 1993).

A utilização de jumentos e muares no trabalho agropecuário vem crescendo muito nos últimos anos, tornando esta espécie de grande relevância para a economia nacional. Apesar da importância econômica desses animais, poucas pesquisas têm sido desenvolvidas, visando o conhecimento da fisiologia reprodutiva da espécie. Os aspectos fisiológicos do ciclo reprodutivo da égua têm recebido especial atenção dos pesquisadores, porém nas jumentas, poucos trabalhos enfocam o assunto.

As pesquisas desenvolvidas por Meira et al. (1995) e Henry et al. (1987), procuraram contribuir para o entendimento do comportamento reprodutivo e de alguns aspectos fisiológicos do ciclo estral da espécie asinina.

2. OBJETIVOS

A presente pesquisa teve por objetivo estudar a dinâmica ovariana em jumentas durante o ciclo estral por meio da ultra-sonografia e nesse contexto determinou-se em cada ciclo estral.

- a) A ocorrência do número de ondas foliculares
- b) O dia da emergência da onda e desvio folicular
- c) A taxa de crescimento do folículo dominante antes e após o desvio folicular e crescimento do segundo maior folículo (subordinado) antes do desvio e a taxa de atresia após o desvio.

No que diz respeito a progesterona, determinou-se a concentração plasmática deste hormônio e correlacionou-a ao diâmetro do corpo lúteo durante o diestro.

3. REVISÃO DE LITERATURA:

3.1 Fisiologia do desenvolvimento folicular

3.1.1 Oogênese e Foliculogênese

As células primordiais, no início do desenvolvimento embrionário, são originárias do saco vitelínico e migram para a crista genital, colonizando a gônada indiferenciada e recebem a denominação de oogônias. Após a proliferação mitótica, as oogônias iniciam um processo de divisão meiótica, transformando-se em oócitos primários, os quais permanecem na fase de diplóteno da prófase I (repouso meiótico) desde a vida fetal até a puberdade (GINTHER, 1989).

Inicialmente quando as oogônias se desenvolvem, tornam-se rodeadas por células precursoras da granulosa, conhecidas como células foliculares, iniciando a foliculogênese (GOUDET et al., 1998). A foliculogênese é o processo de formação, crescimento e maturação folicular, iniciado com o desenvolvimento das oogônias e a formação do folículo primordial, e resulta na formação do folículo De Graaf também denominado de folículo pré-ovulatório ou de folículo maduro (PICTON, 2001; MONNIAUX et al., 1997).

Nos folículos primordiais é encontrada a presença do oócito primário envolto por uma camada de células foliculares, porém os sinais responsáveis pela ativação destes folículos e os mecanismos reguladores de seu desenvolvimento ainda não estão completamente esclarecidos. Portanto, acumulam-se evidências de que o início e crescimento do folículo primordial requerem a expressão de vários fatores e receptores: receptores de gonadotrofinas, fator de crescimento β (TGF – β) e fator fibroblástico de crescimento 2 (HULSHOF, 1995).

Até o início da puberdade os oócitos permanecem em repouso meiótico, após a primeira divisão meiótica ocorre o surgimento do primeiro corpúsculo polar indicando a maturação do oócito. Com o processo de fecundação haverá a emissão do segundo corpo polar e formação dos pró-núcleos masculino e feminino, a meiose II ocorre por meio do fator de ativação

de maturação (MFP) e ativador mitogênico da proteína Kinase (MAPK) (GOUDET et al., 1998). A meiose é reiniciada apenas no oócito do folículo De Graaf selecionado através do pico pré-ovulatório das gonadotrofinas, que acontecem durante a vida fértil. Entretanto, a maturação meiótica que ocorre no oócito se refere especificamente à conversão dos oócitos imaturos presentes nos folículos, em oócitos maduros imediatamente antes da ovulação, pelo processo de maturação nuclear e citoplasmática (LANDIM-ALVARENGA, 1999).

No folículo ovariano encontra-se o oócito, e este é um compartimento que capacita o ovário a preencher sua dupla função de gametogênese e esteroidogênese (HAFEZ, 1995). Após o nascimento, alguns folículos primordiais começam a crescer continuamente durante a vida, mas o destino da maioria dos folículos ovarianos é a atresia. Este fato ocorre, pois durante o ciclo reprodutivo dos mamíferos, apenas um pequeno número espécie-específico de folículos é selecionado para completar a diferenciação e ovular (FORTUNE et al., 2001).

Nas espécies monovulatórias, o desenvolvimento folicular final é subscrito em três fases: a primeira inicia-se com a ativação do folículo primordial, a segunda, ocorre o recrutamento e o crescimento folicular, e a terceira ocasionando a seleção de um ou dois folículos dominantes e atresia dos folículos subordinados (GINTHER & BERGFELT, 1993).

Os folículos, de acordo com seu desenvolvimento, podem ser subdivididos em pré-antrais e antrais, os pré-antrais são os folículos primordiais, folículos primários e folículos secundários; e os antrais compreendem os folículos terciários e os folículos De Graaf (HAFEZ, 1987; FORTUNE, 1994; HULSHOF, 1995).

Os folículos pré-antrais compõem a fase mais longa e são dependentes de fatores ovarianos intrínsecos denominados de fatores parácrinos e autócrinos (AUSTIN & SHORT, 1982). Já os folículos antrais, são caracterizados pelo desenvolvimento do antro quando os folículos atingem aproximadamente 300 µm de diâmetro na espécie eqüina, e são regulados pela hipófise, ou seja, é dependente de FSH e LH, além da ação do estrógeno produzido pelo próprio folículo (HAFEZ, 1995).

Ao mesmo tempo em que ocorre o processo de formação do antro, uma bainha de células, conhecidas como células da teca, forma ao redor das células da granulosa. As células da teca formam duas subcamadas: a teca externa, a qual está constituída, quase que totalmente, por tecido conjuntivo e a teca interna a qual é a camada vascular interna. Enquanto ocorre nova proliferação de células da granulosa, estas células se organizam em duplas camadas ao redor do oócito, formando o “cúmmulus oóphorus”. Os principais produtos secretados pelas células da teca são os andrógenos, enquanto isso, as células da granulosa produzem estrógeno e inibina. Estes eventos demonstram a passagem de folículo secundário a terciário, o qual inicia novo desenvolvimento, até ser eleito à ovulação (HIRSHFIELD, 1991; HYTTEL et al., 1997).

3.2 Ciclo estral

3.2.1 Comportamento sexual e duração do ciclo estral

O ciclo estral, tanto na espécie eqüina, como na espécie asinina, é caracterizado por duas fases: fase de desenvolvimento folicular e fase luteínica. A fase de desenvolvimento folicular ou estrogênica é evidenciada pela receptividade ao garanhão, denominada de estro ou cio. A manifestação do estro mais evidente se difere entre estas espécies. Nas éguas, na fase receptiva ao garanhão, o comportamento sexual é demonstrado pela exposição do clitóris, cauda em bandeira, micção freqüente (McCKINNON et al., 1993). Já nas jumentas, nesta fase receptiva, apresenta um movimento de abrir e fechar a boca, denominado vulgarmente de “mastigação”, orelhas abaixadas rente ao pescoço e voltadas para trás e aceita a monta de outras fêmeas da mesma espécie (MEIRA et al., 1995). A maioria das jumentas que estão em fase de estro, vocaliza (BLANCHARD et al., 2005).

A fase progesterônica é demonstrada por um período de rejeição ao macho, apresentando manifestações similares entre as duas espécies como: abaixar a cauda entre as pernas movimentar-se, escoicear e não aceitação da monta (MCKINNON et al., 1993; MEIRA et al., 1995).

Vale ressaltar que a demonstração de estro ou cio em ambas as espécies é individual e depende muitas vezes do método de detecção (HENRY et al., 1987; MCKINNON et al., 1993).

A duração do ciclo estral nas éguas varia em média de 21 a 22 dias, sendo aproximadamente 14 e 15 dias de diestro e 5 a 7 dias de estro (SUSAN et al., 1996; NAGY et al., 1998; MCKINNON et al., 1993). Nas jumentas, a duração do ciclo estral é de aproximadamente 23 a 25 dias, sendo o período do estro de 6 a 7 dias e diestro de 17 a 19 dias (VANDEPLASSCHE et al., 1981; HENRY et al., 1987; MEIRA et al., 1995).

3.2.2 Fisiologia ovariana

3.2.2.1 Ondas foliculares

Um aumento transitório na população de folículos no início e na metade do diestro em éguas é notado a partir da avaliação ovariana contínua pela palpação retal (GINTHER, 1992). Com a utilização da ultra-sonografia, observou um aumento na população folicular (≥ 10 mm) na metade do diestro, que foi seguida depois de sete a oito dias pelo continuado crescimento do maior folículo e parada ou redução no crescimento dos demais (GINTHER, 1995). A partir de então outros trabalhos realizados com o acompanhamento diário do tamanho de folículos > 15 mm individualmente (identidade) mostraram que nas éguas, durante a estação ovulatória, há uma onda folicular detectada na metade do diestro e em 29 a 42% dos animais outra onda inicia-se ao fim do estro ou começo do diestro, o que caracteriza a ocorrência de apenas uma onda folicular na maioria dos animais e um percentual menor da ocorrência de ciclos com duas ondas foliculares (BERGFELT, 1998).

De acordo com WEBB et al. (1999), a partir da formação do antro, os folículos tornam-se dependente de gonadotrofinas que estimulam o seu desenvolvimento demonstrado pela expressão de receptores de FSH pelas células da granulosa e receptores de LH pelas células da teca.

Na espécie asinina, Meira et al. (1995), observaram um “pool” de desenvolvimento folicular de 11 a 20 mm com início entre o sétimo e o oitavo

dia pós-ovulação, e atingiu valores máximos no dia 17 do ciclo, mostrando que a atividade de folículos maiores que 10 mm iniciaram na metade do diestro.

Aproximadamente dez dias antes da ovulação, o folículo ovulatório surge nas éguas (McKINON et al., 1993). Com o intuito de observar o dia da emergência da onda primária, estudo feito por Ginther et al., (1993) mostra a ocorrência da emergência da onda primária, em média, no dia 7,4 do ciclo em éguas da raça Quarto de Milha.

São descritos dois tipos de ondas foliculares na égua: ondas maiores, caracterizadas pela presença de um folículo dominante e folículos subordinados; e ondas menores, nas quais o maior folículo não atinge o diâmetro de dominância. Ainda de acordo com esta classificação, as ondas maiores dividem-se em ondas primárias, aquelas que emergem durante a fase intermediária do diestro e culminam em ovulação no final do estro seguinte, e secundária aquelas que emergem no final do estro ou início do diestro dando origem a um folículo dominante anovulatório ou, mais raramente, a uma ovulação durante o diestro (GINTHER, 1992; BURATINI, 1997).

De acordo com Ginther (1992), a onda folicular primária se define como um conjunto de folículos que inicialmente crescem sincronizadamente, sucedido pelo crescimento de apenas um, eventualmente dois folículos.

Segundo Fortune (1994), a onda folicular se inicia pelo aumento da concentração de FSH circulante, a qual diminui quando os folículos atingem 13 mm, chegando a níveis basais próximos ao desvio folicular.

Há uma interferência racial que influencia a atividade ovariana em éguas, demonstrando que raças como Quarto de Milha apresentam maior número de animais com uma onda de crescimento folicular maior emergindo na metade do diestro e culminando em ovulação durante o estro. Diferentemente, raças como o Puro Sangue Inglês (PSI), apresentam porcentagem maior de ciclos com duas ondas foliculares, sendo que a onda folicular secundária origina um folículo dominante anovulatório durante o diestro, que às vezes pode ovular (GINTHER, 2000). Além da interferência racial, alguns autores citam a estacionalidade como influência na atividade ovariana. Para confirmar esta hipótese, Ginther (1993) estudou a atividade folicular ovariana em vinte ciclos estrais durante a primavera e nove ciclos durante o outono e observou

que na primavera, 40% dos ciclos acompanhados apresentaram duas ondas foliculares maiores e no outono apenas uma onda folicular maior foi detectada.

Buratini (1997), ao estudar a dinâmica folicular em 17 ciclos estrais de éguas Mangalarga, detectou uma onda folicular em treze ciclos e duas ondas foliculares em quatro ciclos estrais.

3.2.2.2 Desvio folicular e Seleção do folículo dominante

Estudar o mecanismo de seleção folicular em éguas e suas mudanças hormonais é a finalidade de alguns autores, e para isso desenvolveu-se um modelo com dois folículos. Esse modelo consiste na ablação (aspiração) de todos os folículos ≥ 6 mm no dia 10 (dia 0= ovulação), facilitando assim o monitoramento dos dois maiores folículos da nova onda ou pós-ablação por meio de ultra-sonografia. Usando o modelo com dois folículos, o futuro folículo dominante emergiu com 6 mm, em média um dia mais cedo que o futuro folículo subordinado. Os dois folículos cresceram de modo similar até o folículo maior atingir 21-23 mm, em média seis dias após a emergência do futuro folículo dominante. Em seguida, as taxas de crescimento começaram a diferir entre os dois folículos de modo que o folículo maior geralmente tornou-se dominante e continuou a crescer, enquanto o outro folículo tornou-se atrésico. O início da mudança nas taxas de crescimento entre os dois folículos foi denominado desvio folicular. Esses achados indicaram que o futuro folículo dominante apresenta uma vantagem no diâmetro em relação ao segundo maior folículo, sendo o primeiro a atingir um tamanho crítico para que ocorra o início da expressão da sua dominância (GASTAL et al., 1997).

Os valores em diâmetro dos folículos na emergência da onda e no começo do desvio são 6 mm e 19–22 mm (6,2 dias após emergência) respectivamente (GINTHER, 2000). A seleção folicular é um termo usado para espécies monovulatórias para indicar que apenas um folículo adquire a condição de dominante, cresce rapidamente e culmina em ovulação (WILTBANK et al., 2000; FORTUNE et al., 2001; GINTHER, 2001).

Entre as espécies domésticas, a eqüina e a bovina têm o mecanismo de seleção folicular mais efetivo, indicado pela grande frequência de apenas uma ovulação (GINTHER et al., 2000).

Squires et al. (1986) identificaram que a seleção ocorre ou se inicia antes da detecção ultra-sonográfica da emergência dos folículos. Por esta razão, o início da seleção pode não ser definido, desde então, outros fatores podem determinar qual o momento em que os folículos tornam-se sensíveis aos níveis de FSH.

De acordo com Ginther (2000), quando os folículos atingem 13 mm de diâmetro, as concentrações de FSH iniciam seu declínio, devido à capacidade desses folículos a secretar inibina. A partir de então, os dois maiores folículos crescem paralelamente (fase paralela) e ambos os folículos secretam inibina causando o contínuo declínio das concentrações de FSH, as quais são requeridas por eles mesmos para os seus crescimentos.

A fase de crescimento paralelo finaliza-se e inicia-se a fase de desvio folicular, quando o maior folículo atinge 22 a 23 mm de diâmetro (DONADEU et al., 2004).

Segundo Fortune (1994), o estímulo necessário para o recrutamento folicular e para a continuidade do crescimento folicular depende de uma elevação das concentrações plasmáticas de FSH. Provavelmente, durante este recrutamento, o futuro folículo dominante, ou seja, aquele cujo estágio de desenvolvimento esteja mais bem sincronizado com o estímulo gonadotrófico, diferencia-se dos demais folículos e adquire a capacidade de refratariedade aos níveis decrescentes de FSH, desencadeados por ele próprio e por supressores do desenvolvimento dos folículos subordinados.

Donadeu et al. (2004), observaram que pela secreção de estradiol e inibina, o folículo dominante diminui os níveis circulantes de FSH, tornando este hormônio insuficiente para o desenvolvimento de folículos subordinados.

Ainda que o mecanismo de desvio tenha algumas particularidades desconhecidas, alguns autores observaram a participação de fatores de crescimento na seleção e diferenciação do folículo dominante. Acredita-se que estes fatores são encontrados no fluido folicular do folículo dominante e são responsáveis por causar uma elevação na sensibilidade das células da granulosa e potencializam as ações do FSH (MONNIAUX et al., 1997).

A presença de receptores para LH nas células da granulosa indica a participação deste hormônio no desvio folicular. Este evento foi confirmado em um estudo que demonstrou que os níveis circulatórios de LH aumentam

durante o momento do desvio folicular (GASTAL et al., 1999; GASTAL et al., 2000).

Estudos demonstraram que a alta frequência nos pulsos de LH está integrada à fase de crescimento do folículo dominante. Em éguas, a elevada concentração de LH foi temporariamente associada ao desvio da onda (WATSON et al., 2000; GINTHER et al., 2001; GINTHER et al., 2002).

Para melhor entender o papel do LH no desvio folicular, Gastal et al., (1999) utilizaram diferentes doses de progesterona exógenas desde o início da emergência folicular para manipular as concentrações de LH. Os resultados destes experimentos demonstraram que a queda nas concentrações de LH, estimulada pela progesterona exógena, interferiu no desenvolvimento do folículo dominante apenas depois do desvio folicular. Tais resultados sugerem que o LH não esteja envolvido no início do mecanismo de desvio em éguas, porém é requerido para o contínuo crescimento do maior folículo depois do desvio (GINTHER, 2000; 2001).

3.2.2.3 Atresia folicular

Nas espécies monovulatórias, 99% dos folículos subordinados tornam-se atrésicos após o desvio folicular, conseqüentemente somente alguns folículos derivados de uma enorme população de células primordiais, chegam à ovulação. A atresia é geralmente considerada um processo irreversível, que ocorre por morte celular ou apoptose (WEBB et al., 1999).

Um estudo feito por Gastal et al. 1999, utilizando a técnica de ablação folicular e o modelo de dois folículos, demonstraram que o folículo dominante, depois da divergência, foi responsável pela supressão das concentrações de FSH, que se tornaram insuficientes para o contínuo crescimento dos folículos subordinados.

3.2.2.4 Ovulação

A partir do início do declínio dos folículos subordinados, os folículos dominantes começam a crescer rapidamente (PIERSON & GINTHER, 1987). A

taxa de crescimento do folículo dominante é de aproximadamente de 3 a 5 mm por dia em éguas e de 2,7 mm por dia em jumentas (DADARWAL et al., 2004).

O folículo pré-ovulatório apresenta um aumento no volume do antro e um espessamento da parede folicular, notado por imagens ultra-sonográficas (WATSON et al., 2003). Em eqüinos, o folículo dominante alcança um diâmetro de aproximadamente 45 mm e a parede folicular pode apresentar 5 a 6 mm. (MCKINNON, 1993).

Meira et al. (1995) observaram que o diâmetro máximo do folículo dominante nas jumentas, um dia antes da ovulação, foi de 36,7 mm (variando de 28 a 46 mm).

No interior do folículo ocorrem mudanças verificadas pelo aumento da concentração de estrógenos, andrógenos e inibina dentro do fluido folicular. No aspecto molecular, houve um aumento expressivo de receptores de LH pelas células da teca, tornando o folículo responsivo ao LH pituitário (WEBB et al., 1999).

A ocorrência de ovulações duplas tem sido observada tanto em éguas, quanto em jumentas. Na espécie asinina, Meira et al (1995) observaram quatro ovulações duplas (20%) em vinte ciclos estrais estudados.

A freqüência de ovulações duplas unilaterais e bilaterais tem sido motivo de estudo por alguns pesquisadores, que acreditam também que estes eventos podem ocorrer frequentemente, em alguns animais, individualmente. Ginther & Pierson (1989) não observaram diferença significativa entre as ovulações duplas uni ou bilateral. O mesmo foi constatado por Squires et al., (1987) relatando 49,7% de ovulações duplas unilaterais e 50,3% de ovulações duplas bilaterais.

Conforme Mckinnon (1993), aproximadamente 50% das ovulações duplas são sincrônicas. Ginther (1987), em um estudo minucioso, demonstrou que 55% das ovulações duplas são simultâneas, isto é, ocorrem ao mesmo tempo e 33%, em 24 horas, 9% em 48h e 3% em até 62 horas.

Ginther (1992) comparou o diâmetro médio dos folículos pré-ovulatórios entre as ovulações simples e duplas, descrevendo o diâmetro de 44 mm para a ovulação simples e 35 e 40 mm para as ovulações duplas uni e bilaterais, respectivamente. Quando o mesmo autor correlacionou o diâmetro

entre a primeira e a segunda ovulação de dois folículos pré-ovulatórios unilaterais, observou que as mensurações foram de 39 mm e 34 mm de diâmetro respectivamente. Uma das possíveis causas para o menor diâmetro dos múltiplos folículos ovulatórios é o aumento do nível circulante de inibina, resultando na inibição da liberação de FSH, o que limita seu próprio crescimento até que se atinja o diâmetro pré-ovulatório. Entretanto, a relação entre o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios e o menor sincronismo entre as duplas ovulações unilaterais, pode ser consequência do menor, ou diferente, suporte sanguíneo entre os folículos, do ponto de vista morfológico, levando a uma diminuição dos níveis de LH nos folículos menores em relação aos folículos maiores.

Quanto à ovulação durante a fase de diestro, Henry (1982) detectou o desenvolvimento de folículos que atingiram tamanhos pré-ovulatórios (≥ 40 mm) em éguas de varias idades e raças diferentes.

3.3 Corpo lúteo (CL) e concentração de progesterona (P4)

A ovulação ocorre devido ao aumento gradativo de LH durante o estro. Após a ruptura do folículo há uma hemorragia intrafolicular levando a formação do corpo hemorrágico. As células da granulosa e da teca sofrem luteinização, formando assim o corpo lúteo, que sintetiza progesterona, caracterizando o início da fase luteal. A progesterona produzida pelo CL atinge concentração plasmática superior a 1 ng/ml, um a dois dias após a ovulação, o que influencia a cessação do comportamento de estro (HAFEZ & HAFEZ, 2000).

A concentração de progesterona aumenta rapidamente, atingindo o pico aproximadamente no dia cinco ou seis do ciclo estral, mantendo um platô até por volta do 14^o a 15^o dia pós-ovulação, quando ocorre a luteólise (HUGHES et al., 1972; Nagy et al., 2004). Com a maturação do corpo lúteo, o sangue coagulado é absorvido e substituído por células luteínicas, causando diminuição no tamanho do corpo lúteo. Por volta de oito a dez dias, o corpo lúteo decresce de tamanho e aparece no ovário anatomicamente como uma área firme e esponjosa dentro do estroma. O corpo lúteo maduro produz de 8 a 10 ng/ml de progesterona até aproximadamente 14^o e 15^o dias após a ovulação, quando sofre luteólise. Após a lise do CL, o nível de progesterona

diminui rapidamente em um a dois dias para menos de 1 ng/ml e a égua retorna ao estro (ARRUDA et al., 2001).

O perfil de progesterona nas jumentas é similar ao da égua, porém com concentrações mais elevadas. A elevação da concentração de progesterona nos asininos ocorre entre os dias um e quatro dias do diestro, atingindo um platô entre quatro e quatorze dias pós-ovulação (MEIRA et al., 1995; HENRY et al., 1987).

Meira et al. (1995) observaram nas jumentas que o diâmetro médio do corpo lúteo no primeiro dia pós-ovulação foi de 28,5 mm, equivalente a 77,7% do tamanho do folículo pré-ovulatório. Nas éguas, o tamanho do corpo lúteo representa cerca de 50 a 75% do tamanho do folículo pré-ovulatório (GINTHER, 1992).

Nagy et al (2004) observaram que a morfologia dos corpos lúteos, determinados pela imagem do ultra-som não interfere na quantidade de progesterona produzida. Em ovulações duplas naturais ou induzidas, ocorre um aumento na concentração de progesterona circulante, porém os níveis apresentam-se menores do que o dobro das ovulações únicas (SQUIRES et al., 1987; GINTHER et al., 1992).

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Animais e local do estudo

Dez ciclos estrais de sete jumentas da raça Marchador Brasileiro em bom estado geral de saúde, com históricos reprodutivos normais, idade variando entre oito e dez anos e peso entre 280 a 300 kg foram utilizadas durante o período compreendido entre 01 de janeiro e 01 de março de 2004.

A colheita dos dados foi realizada na Estação Experimental de Zootecnia – Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico da Alta Mogiana, Colina – SP (20° 43`S e 48° 22`W) e as dosagens hormonais foram realizadas no Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp – campus de Botucatu - SP.

Os animais foram mantidos em piquetes de 200m², alimentados com feno de coast-cross (*Cynodon dactylon*), ração comercial e suplementado com sal mineral e água à vontade.

4.2 Avaliação ultra-sonográfica

Todos os animais foram rufiados diariamente e individualmente, utilizando um rufião da mesma espécie, visando detectar o primeiro e último dia do estro (período de receptividade). O dia em que as jumentas manifestaram comportamento de rejeição ao rufião (período de rejeição) foi considerado como período de diestro. O desenvolvimento folicular do ciclo estral de cada jumenta (n=10 ciclos estrais, onde três jumentas foram acompanhadas por dois ciclos consecutivos) foi acompanhado pela palpação retal e ultra-sonografia¹ diária sendo a primeira ovulação, considerada o dia zero. Os folículos com diâmetros maiores ou iguais a 11 mm foram mensurados em imagem ultra-sonográfica congelada, utilizando-se a função de medição eletrônica disponível no aparelho de ultra-som.

¹ Pie Medical – Modelo Scanner 200

Duas medições foliculares foram realizadas, uma no sentido horizontal e outra vertical da imagem sendo a média utilizada para representar o diâmetro do folículo.

A localização dos folículos foi registrada pelo uso de mapeamento ovariano, o que equivale à elaboração de esquemas mostrando a posição de um dado folículo em relação aos outros e às demais referências ovarianas.

Posteriormente, a análise retrospectiva dos registros diários, permitiu a construção dos perfis da dinâmica folicular ovariana, determinando o número de ondas folicular maiores por ciclo estral, o dia da emergência da onda e do desvio folicular, o diâmetro máximo do folículo dominante e do segundo maior folículo. A duração do intervalo interovulatório foi considerada o intervalo entre a ovulação referência (D0) e a ovulação subsequente.

A partir do dia zero, a taxa de crescimento dos folículos foi calculada antes e depois do desvio folicular e a média comparada entre os animais. Estes mesmos parâmetros foram avaliados em ciclos com ovulações simples, duplas sincrônicas e assincrônicas (no caso de ovulações assincrônicas, a primeira ovulação foi considerada para determinar o intervalo interovulatório). Foi considerada ovulação dupla assincrônica aquelas que apresentaram um intervalo maior de 24 horas entre as ovulações.

O diâmetro do corpo lúteo foi registrado a partir do dia da ovulação até o momento em que a visualização nítida dos seus limites foi possível. A medição da estrutura foi feita pela média entre os diâmetros maiores e intermediários, no sentido vertical e horizontal.

4.3 Análise Hormonal

As amostras de sangue foram colhidas diariamente e individualmente por meio de punção da veia jugular em tubos heparinizados, a partir da detecção de um folículo ≥ 30 mm até a detecção da ovulação referência (D0). A partir de então, as amostras continuaram sendo colhidas uma vez por dia até dois dias após a ovulação subsequente. Imediatamente após a colheita, as amostras foram centrifugadas a 900G por cinco minutos e o plasma armazenado a -20°C , para posterior determinação da concentração plasmática da progesterona.

A concentração plasmática de progesterona foi determinada por meio do método de Radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, utilizando “Kits” comerciais (DPC)².

A precisão intra-ensaio foi determinada por amostras constituídas por um “pool” de plasmas e o coeficiente de variação intra-ensaio foi de 9,1%. O “pool” de plasmas foi realizado três vezes durante o ensaio, a cada 150 amostras dosadas.

O período progesterônico foi considerado quando a concentração de progesterona plasmática se manteve $>1\text{ng/ml}$ e o período estrogênico quando a concentração plasmática de progesterona esteve $<1\text{ng/ml}$.

4.4 Análise Estatística

Estatística descritiva foi utilizada na análise dos dados obtidos com a finalidade de descrever as características da dinâmica folicular. A média foi utilizada como medida de tendência central e o desvio padrão foram calculados para medir a variabilidade dos resultados.

Para se comparar os valores médios dos folículos (diâmetros e dias) utilizou-se ANOVA e o teste de Tukey. Para as concentrações diárias de P4 e diâmetro de corpo lúteo utilizou-se o teste-t não pareado, todos a 5% de probabilidade de erro.

O método de Regressão linear foi utilizado para correlacionar a concentração plasmática de progesterona comparado ao diâmetro do CL nas ovulações simples e duplas.

A Regressão Quadrática foi utilizada para ajustar a comparação entre a concentração plasmática de progesterona em função do tempo.

² - Diagnostic Products corporation
5700west 96th Street
Los Angeles, CA 90045 – USA.

5. RESULTADOS

5.1 Dinâmica folicular

De todos os ciclos estrais estudados (n=10), seis apresentaram uma onda folicular maior (60%) e quatro duas ondas foliculares maiores (40%). Nos quatro ciclos com duas ondas, dois foram observados em uma mesma jumenta, os outros dois foram observados em animais diferentes, porém, uma delas também foi acompanhada por dois ciclos estrais consecutivos, sendo detectado uma onda folicular maior no primeiro ciclo e duas no segundo.

Nos dez ciclos acompanhados, em dois não pode ser detectado o desvio folicular, observando-se um caso de co-dominância e os folículos subordinados destes dois ciclos atingiram diâmetros menores que 14 mm, entrando em atresia posteriormente. Para o cálculo do desvio folicular foram considerados apenas os ciclos em que este fenômeno pode ser observado (n=8), excluindo dois ciclos estrais (n=2).

O dia da emergência da onda primária, desvio folicular, diâmetro máximo do folículo dominante, a taxa de crescimento do folículo dominante antes e após o desvio e o intervalo inter-ovulatório dos animais com uma ou duas ondas foliculares não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$) e estão apresentadas na tabela 1.

A taxa média de crescimento diário do folículo dominante antes e após o desvio folicular e do segundo maior folículo (subordinado) antes do desvio, bem como a taxa de atresia do subordinado após o desvio folicular para oito ciclos estrais estudados está representada na tabela 2. A taxa média de crescimento do folículo dominante e do segundo maior folículo foi similar até o momento do desvio ($p>0,05$). Após o desvio, o folículo dominante cresceu rapidamente e o subordinado regrediu ($p<0,05$). O folículo dominante apresentou crescimento médio diário mais rápido após o desvio folicular em comparação à fase comum de desenvolvimento ($p<0,05$).

O diâmetro médio dos folículos dominantes e dos maiores folículos subordinados (n=8), desde o dia da emergência até o momento da ovulação estão apresentados na figura 1.

5.2 Concentração de progesterona

O perfil da concentração plasmática de progesterona e a duração da fase progesterônica ou estrogênica foram similares para ciclos com uma ou duas ondas foliculares maiores ($p < 0,05$).

Uma vez que não foi observada diferença estatística entre ciclos com uma ou duas ondas foliculares maiores, os dados foram agrupados e as médias e desvio padrão calculados novamente de todos os ciclos estudados, considerando apenas as ondas primárias de cada ciclo.

5.3 Resultados (dados agrupados)

5.3.1 Dinâmica folicular e ovulação

Os resultados referentes às variáveis da dinâmica ovariana previamente descrita no item 5.1 considerando todos os ciclos (uma e duas ondas) estão representados nas tabelas 2 e 3.

De acordo com a ovulação referência (D0), cinco dos dez ciclos (50%) apresentaram ovulações duplas, das quais três (30%) ocorreram com intervalo menor que 24 horas (sincrônica) e duas (20%) com intervalo superior a 24 horas (assincrônica). Todas as ovulações duplas ocorreram no mesmo ovário, ou seja, ipsilaterais.

Ao iniciar o experimento, os folículos dominantes que originaram a ovulação referência (D0), apresentaram diâmetro máximo de $39,6 \pm 2,65$ mm nos animais que apresentaram ovulações únicas e de $35,4 \pm 1,76$ mm naqueles com ovulações duplas. Nas ovulações subseqüentes, o diâmetro máximo do folículo dominante que resultaram em ovulações simples ou duplas foi de $37,5 \pm 2,58$ e $34,1 \pm 1,06$ mm, respectivamente, sendo que em 20% dos ciclos foram detectadas ovulações duplas. Em dois ciclos estrais foi observada ovulação durante o diestro, que ocorreram no dia 6 ou 7 do ciclo. O perfil da concentração plasmática de progesterona desses ciclos estrais está representado na figura 3.

5.3.2 Concentração de progesterona e diâmetro do corpo lúteo

Para o cálculo da concentração de progesterona e diâmetro do CL foram excluídos os animais que apresentaram ovulação de diestro (n=2). Nos demais ciclos (n=8), a concentração plasmática de progesterona para ovulações simples e duplas foi >1ng/ml no primeiro dia pós-ovulação, aumentando gradativamente até o sexto dia do ciclo, a partir do sexto dia verificou-se um platô que se manteve até o 14º dia pós-ovulação. Após o 14º dia, a concentração de progesterona diminuiu rapidamente atingindo níveis compatíveis à fase estrogênica (<1ng/ml), três dias mais tarde (Fig.2).

No caso de ovulações simples ou duplas, o diâmetro médio do CL foi $26,22 \pm 4,44$ mm e $22,08 \pm 2,67$ mm, representando 66,1% e 64,1% do diâmetro do folículo pré-ovulatório, respectivamente. Quando comparados dia-a-dia, o diâmetro médio do CL não apresentou diferença entre animais com ovulações simples ou duplas e a visualização dos mesmos pela imagem ultrasonográfica, foi possível em média até $12,25 \pm 2,5$ dias para ovulações simples e $10,33 \pm 1,75$ dias para ovulações duplas ($p > 0,05$). Em alguns casos o CL se manteve visível até 14º dia pós-ovulação.

Foi observada correlação linear negativa entre a concentração de progesterona e o diâmetro do CL tanto para ovulações simples ($R = -0,86$) como para duplas ($R = -0,73$). Ao ajustar a regressão quadrática para a concentração plasmática de progesterona em função do tempo, observou que esta equação apresentou maior coerência em relação ao seu papel ao longo do ciclo estral. Para as ovulações simples a equação quadrática foi $y = -0,3185x^2 + 5,6408x - 1,7196$ ($R^2 = 0,91$) e para as ovulações duplas foi $y = -0,4296x^2 + 6,9364x - 0,4552$ ($R^2 = 0,90$). Nos dois casos, os resultados apresentaram correlação positiva entre a concentração plasmática de progesterona em função do tempo.

O diâmetro do CL nas ovulações simples e duplas até o dia de sua última detecção está apresentado na figura 2.

5.3.3 Duração do ciclo estral

Nos dez ciclos estrais estudados, a duração média do estro foi de $5,9 \pm 1,37$ dias, do diestro de $18,2 \pm 1,62$ dias e do intervalo interovulatório de $24,1 \pm 2,23$ dias.

Considerando a concentração plasmática de progesterona $>1\text{ng/ml}$ como sendo a fase progesterônica e $<1\text{ng/ml}$ a fase estrogênica, a duração média foi de $17,9 \pm 1,39$ e $5,9 \pm 2,02$ dias, respectivamente.

Em todos os ciclos ($n=10$), os sete animais manifestaram receptividade ao macho durante a rufiação (cio), sendo que em nove (90%), a concentração plasmática de progesterona encontrava-se $<1\text{ng/ml}$. Uma jumenta apresentou níveis de progesterona $>1\text{ng/ml}$ nos dois dias que antecederam a ovulação referência (2,2 e 3,8 ng/ml, nos dias -2 e -1, respectivamente), bem como nos dois dias anteriores a ovulação subsequente (1,1ng/ml nos dias -2 e -1), porém não interferiu na demonstração de receptividade ao macho. O aumento observado possivelmente tenha ocorrido devido à luteinização das células da granulosa. Nas éguas, o folículo pré-ovulatório, pouco antes da ruptura folicular, apresenta um aumento nos níveis de progesterona, que por sua vez, estimula a síntese de enzimas colagenases, as quais exercem papel importante no processo ovulatório (McKINNON, 1993; HAFEZ, 1995). Outra espécie doméstica que apresenta também um aumento nos níveis plasmáticos de progesterona antes da ovulação é a cadela, ocorrendo aproximadamente de 60 a 70 horas antes da ovulação, o aumento ocorre devido à luteinização das células da granulosa no folículo pré-ovulatório (NOAKES et al., 2001).

Tabela 1: Dinâmica folicular observada durante o ciclo estral de jumentas caracterizada por uma (n=6) ou duas (n=4) ondas foliculares maiores primária em dez ciclos, considerando-se D0= dia da ovulação.

Variáveis Estudadas	Ciclos Estrais	Ciclos Estrais
	Uma onda folicular (média ± s)	Duas ondas foliculares (média ± s)
Emergência (dia do ciclo estral)	10,2 ± 0,7	9 ± 2
Desvio (dia do ciclo estral)	14,0 ± 0,82	14,0 ± 1,15
Taxa de crescimento do FD (mm/dia)*	1,17 ± 0,22	1,45 ± 0,64
Taxa de crescimento do FD (mm/dia)**	2,39 ± 0,37	2,15 ± 0,22
Diâmetro Máximo do FD (mm)	37,2 ± 3,35	37,3 ± 1,10
Intervalo interovulatório (dias)	23 ± 1,79	22,3 ± 1,26

FD= Folículo Dominante p>0,05

* antes do desvio

** depois do desvio

Tabela 2: Taxas de crescimento do folículo dominante e do segundo maior folículo (subordinado) antes do desvio folicular e taxa de regressão do folículo subordinado depois do desvio folicular, durante o ciclo estral de jumentas (n=8).

Variáveis	Folículo dominante	Maior folículo subordinado
Antes do desvio	1,31 ± 0,47 ^{Ba}	1,14 ± 0,25 ^{Aa}
Depois do desvio	2,27 ± 0,31 ^{Aa}	-1,52 ± 0,4 ^{Ab}

Letras maiúsculas (AB) nas colunas indicam diferença estatística (p<0,05)

Letras minúsculas (ab) nas linhas indicam diferença estatística (p<0,05).

Tabela 3: Variáveis da dinâmica ovariana detectada a partir da onda folicular primária em todos os ciclos estrais (n=8).

Variáveis	Ciclos estrais (média ± s)
Emergência (dia do ciclo estral; ovulação = dia 0).	9,6 ± 1,51
Desvio (dia do ciclo estral; ovulação = dia 0).	14,0 ± 0,93
Taxa crescimento do FD (mm/dia)*	1,31 ± 0,47
Taxa crescimento do FD (mm/dia)**	2,27 ± 0,31
Diâmetro máximo do FD (mm)	37,8 ± 1,40

FD= Folículo Dominante *p>0,05*

* *antes do desvio*

** *depois do desvio*

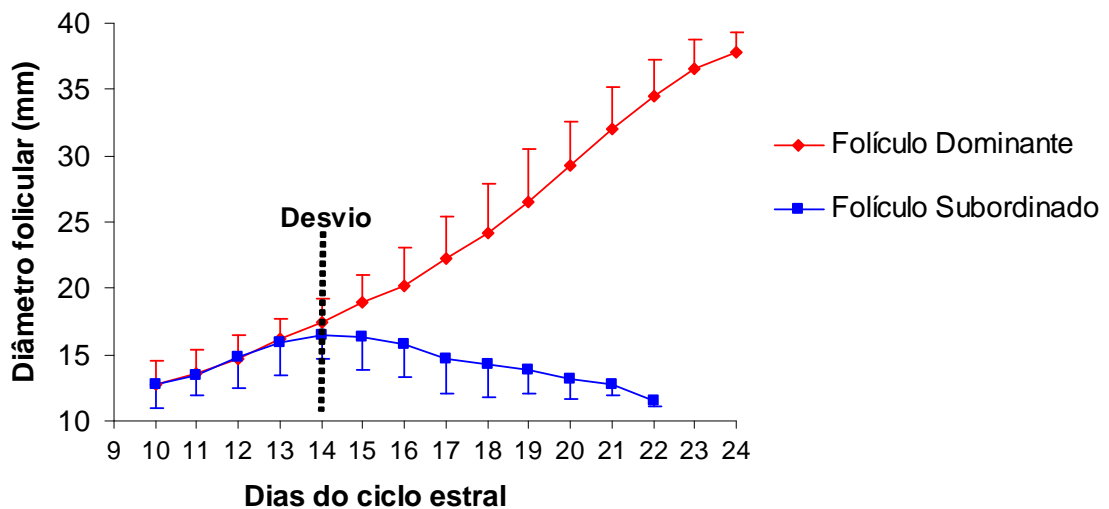


Figura 1: Diâmetro médio (mm) do folículo dominante e do segundo maior folículo (subordinado), do dia da emergência até a ovulação (n=8), considerando as ondas foliculares maiores primárias.

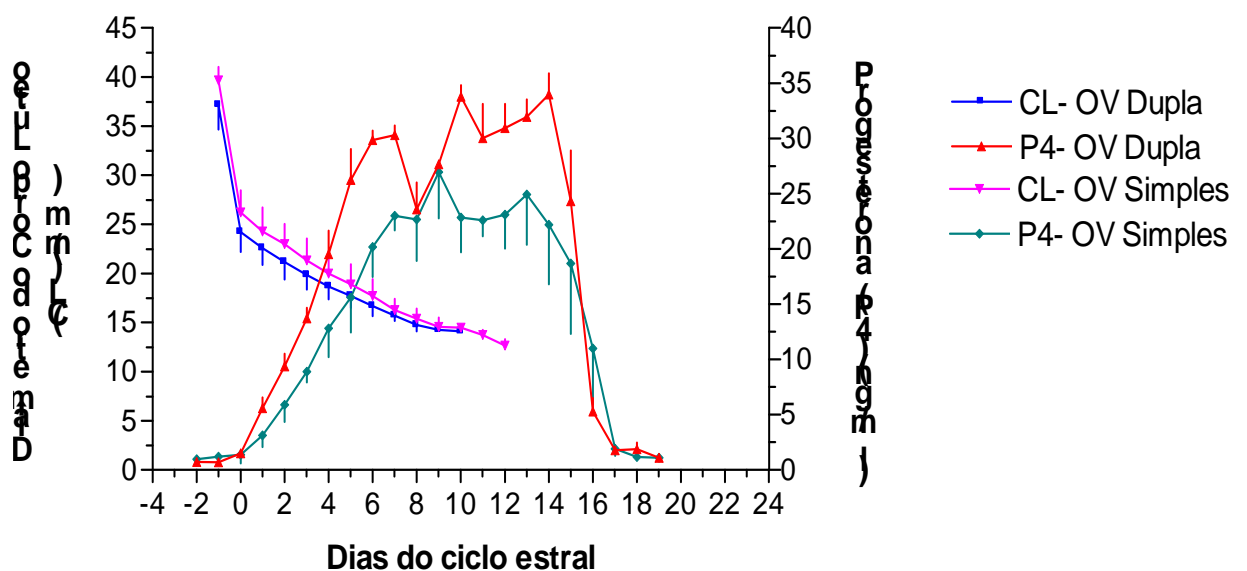


Figura 2: Diâmetro do CL (mm) e concentração plasmática de progesterona (ng/ml) em jumentas com simples (n=5) e duplas (n=3) ovulações, observada a partir da ovulação referência (D0).

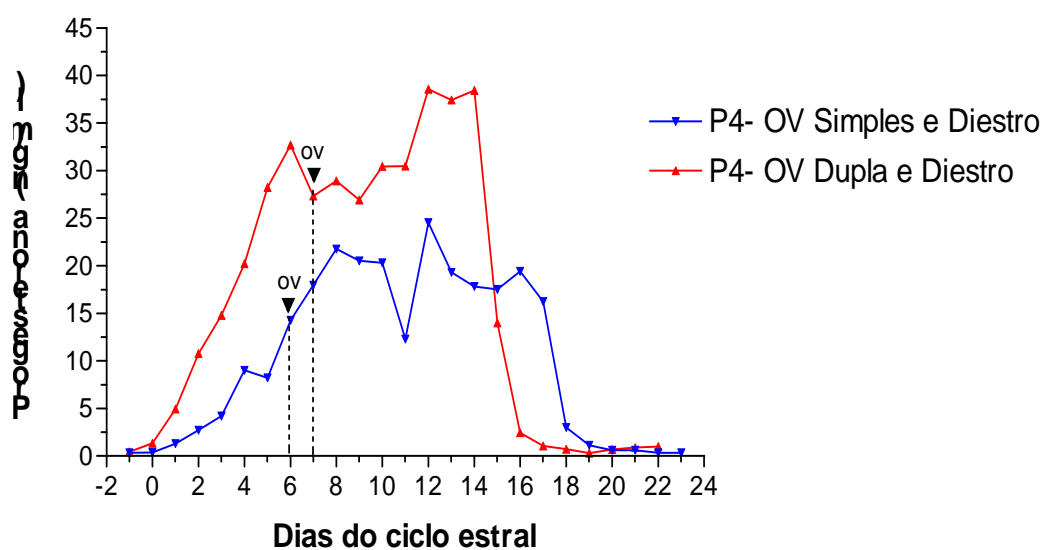


Figura 3: Concentração plasmática de progesterona (ng/ml) ao longo de dois ciclos estrais, cujos animais apresentaram ovulação durante o diestro. As setas indicam os dias que foram detectadas as ovulações de diestro (OV= ovulação).

6. DISCUSSÃO

A ocorrência de ondas foliculares maiores na espécie eqüina é caracterizada pela presença de ondas que diferem durante ciclos estrais subseqüentes observado em um mesmo animal, como demonstrado por Buratini et al., (1997). O caráter individual de cada ciclo observado na espécie eqüina, quanto ao número de ondas foliculares foi detectado também na espécie asinina pelo presente estudo no que diz respeito às características de onda. Na espécie eqüina, a ocorrência de duas ondas maiores em um determinado ciclo seguida pela presença de uma onda maior durante o ciclo subseqüente reflete a ausência de repetibilidade quanto ao padrão de crescimento folicular em um mesmo animal (BURATINI et al., 1997).

O número de estudos relacionados à fisiologia dos ciclos estrais na espécie asinina abordando as características do ciclo estral em jumentas é escasso. Considerando esta limitação, um paralelo entre a espécie asinina e a eqüina será estabelecido para que se discutam eventos observados no presente estudo como: recrutamento, emergência da onda folicular, seleção, desvio, dominância e ovulações.

A presença de uma onda folicular foi observada em 60% dos ciclos estrais acompanhados durante o presente estudo, sendo esta freqüência compatível com os relatos referentes à espécie eqüina, onde um menor percentual de ciclos apresenta duas ondas foliculares (BERGFELT, 1998).

Quanto ao momento de emergência da onda folicular nos ciclos com uma única onda, ambas as espécies apresentam-se de maneira diferente, sendo este fenômeno observado mais tardiamente (9,6 dias) no presente estudo quando comparado à espécie eqüina (entre 6 e 7 dias), como relatada por Buratini (1997) e Ginther (2001).

Meira et al., (1995) acompanharam o desenvolvimento folicular em jumentas, embora o momento da emergência da onda folicular não tenha sido demonstrado. Os autores detectaram a presença de um pool de folículos com diâmetro entre 11 e 20 mm ao redor dos dias 7 e 8 após ovulação, observando-se um aumento no número de folículos caracterizado por um número máximo

na fase final do diestro. A observação de folículos a partir de 11 mm por esses autores sugere que a emergência da onda folicular em jumentas possa ocorrer em um determinado momento do ciclo sendo semelhante ao que se observa na espécie eqüina.

No presente estudo, o momento da emergência da onda observado nos ciclos que apresentaram uma onda folicular maior foi mais tardio quando comparados a ciclos com duas ondas, porém o mesmo não é observado na espécie eqüina, onde ciclos com duas ondas foliculares maiores apresentam o momento da emergência da onda ocorrendo mais tardiamente.

O fenômeno de desvio nas éguas tem sido observado a partir da presença de folículos de 21 a 23 mm, levando-se em média seis dias pós-emergência para a detecção do futuro dominante (GASTAL et al, 1997). O desvio nas jumentas foi mais precoce, com diâmetro folicular menor e ocorreu ao redor de quatro dias após a emergência da onda folicular no presente estudo, comparado ao descrito na espécie eqüina.

Segundo Gastal et al. (1997), após a emergência do futuro folículo dominante ocorre uma fase de crescimento similar entre os dois maiores folículos, a qual se mantém durante aproximadamente seis dias. Estudos envolvendo o acompanhamento de dois folículos pelo uso da ablação folicular, para a caracterização do desvio, não foram realizados em jumentas, estando esta fase ainda obscura nesta espécie.

Embora o presente estudo não tenha utilizado a ferramenta da ablação para o acompanhamento do crescimento folicular e caracterização da divergência, os resultados demonstram uma taxa de crescimento do folículo dominante similar ao relatado por Dardawal et al. (2004), no que diz respeito ao folículo dominante. O perfil do crescimento do folículo dominante antes e após o desvio folicular, bem como o crescimento do segundo maior (subordinado) antes do desvio e atresia após o desvio foi condizente com o que se tem documentado na espécie eqüina, o que nos leva a sugerir que mecanismos similares ao descrito para égua possam estar envolvidos no desenvolvimento folicular da espécie asinina.

A secreção de inibina e estradiol pelo folículo dominante é responsável pela diminuição nas concentrações de FSH e torna-se insuficiente para a manutenção do crescimento de folículos subordinados nas éguas (BERGFELT & GINTHER, 1986; DONADDEU et al., 2004). O início do desvio nesta espécie está relacionado ao aumento de receptores de LH no folículo dominante, sendo esta fase caracterizada por elevadas concentrações desta gonadotrofina. Se o mesmo ocorre na jumenta é necessário ser investigado.

Quanto ao intervalo inter-ovulatório, uma diferença na duração da fase de diestro é responsável por um intervalo maior nas jumentas (MEIRA et al., 1995) quando comparado às éguas. Tal diferença se manteve independente da característica do ciclo, no que diz respeito à presença de uma ou duas ondas foliculares, ainda que maiores. Embora na espécie eqüina a presença de uma ou duas ondas é responsável por uma diferença no intervalo inter-ovulatório, o mesmo não foi constatado nas jumentas pelo presente estudo.

Variações raciais são evidentes na espécie eqüina em vários aspectos do ciclo estral, sendo um deles o diâmetro atingido pelo folículo dominante, como demonstrado por Ginther (1992). Nas jumentas, o diâmetro médio do folículo dominante foi similar ao demonstrado por Meira et al. (1995), sendo este menor do que o observado na espécie eqüina (GINTHER et al, 1993).

A incidência de duplas ovulações foi mais elevada quando comparada a outros relatos, onde os índices ficam ao redor de 20 a 25 % (Henry et al., 1987 e Meira et al., 1995). O presente estudo demonstrou uma incidência de 30% e 20% para as ovulações sincrônicas e assincrônicas, respectivamente, o que se assemelha aos índices observados Meira et al., (1995).

Ovulações de diestro foram detectadas em dois ciclos estrais no presente estudo ocorrendo ao redor dos dias seis e sete após a ovulação, correspondendo a um índice de 20%. Na espécie eqüina ovulações de diestro (1 em 17 ciclos avaliados) foram relatadas por Buratini et al, (1997), sendo esta detectada ao redor do dia seis do ciclo. O desenvolvimento folicular durante o diestro atingindo tamanho pré-ovulatório em jumentas foi demonstrado por Meira et al (1995), porém a ovulação não foi detectada e sim a atresia.

A ocorrência de ovulações duplas no mesmo ovário foi observada no presente estudo, sendo esta ipsilateral e o mesmo foram relatados em éguas, com índice de 50 % das duplas ovulações (SQUIRES et al., 1997). Tal característica pode ser considerada como sendo responsável pelo diâmetro menor atingido pelos folículos que se desenvolveram no mesmo ovário no presente estudo, em comparação aos folículos ovulatórios únicos, resultando em apenas uma ovulação. De acordo com estudos realizados na espécie eqüina, acredita-se que esse fenômeno tem sido relacionado a uma maior produção e liberação de inibina pelos folículos, quando envolvidos na condição de dupla ovulação, resultando em uma possível diminuição dos níveis de LH nos folículos menores comparado aos maiores folículos e também pelo menor suporte sanguíneo entre os folículos (GINTHER, 1992).

O aspecto anatômico da fossa ovulatória em éguas, parece limitar o crescimento dos folículos envolvidos em múltiplas ovulações sendo esta idéia defendida por alguns autores, o que pode vir a interferir com o crescimento e desenvolvimento dos folículos quando localizados paralelamente, como é o caso das ovulações ipsilaterais.

6.1. Concentrações Plasmáticas de Progesterona

As concentrações plasmáticas de progesterona detectadas pelo presente estudo, após a ovulação, foram similares ao documentado por Meira et al., (1995) e por Nagy et al., (2004).

A relação existente entre o diâmetro do folículo pré-ovulatório e o diâmetro atingido pelo corpo lúteo correspondente observado no presente estudo foi similar ao descrito na espécie eqüina, sendo esses valores 66,1% e 64,1% para ovulações simples e duplas, comparadas a 50 e 75% respectivamente, como relatado para a espécie eqüina (GINTHER, 1992).

A presença de dois corpos lúteos comparados às ovulações simples refletiu em um ligeiro aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona, porém os níveis de progesterona apresentam ser menor do que

o dobro das ovulações simples. Estes achados são condizentes com o que se observa na espécie eqüina (GINTHER, 1992).

As duas ovulações detectadas durante o diestro foram observadas em dois ciclos diferentes, porém um apresentou uma ovulação simples e outro uma ovulação dupla. A presença de duas ovulações acompanhadas por uma ovulação de diestro no presente estudo, foi responsável pelo aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona, quando da presença de três corpos lúteos, o que não interferiu no prolongamento da fase luteínica.

A visualização do CL pela da imagem ultra-sonográfica foi detectada durante um período de tempo similar ao período previamente documentado por Ginther (1992) na espécie eqüina, assim como o relatado em jumentas por Meira et al. (1995). Tais eventos sugerem uma similaridade na estrutura luteal em ambas as espécies.

7. CONCLUSÃO

A ocorrência de uma única onda folicular maior foi evidente no presente estudo com um índice de 60% nos dez ciclos estudados, sendo as duplas ovulações observadas ocorrendo de maneira ipsilateral.

O momento da emergência da onda foi observado por volta de 9,6 dias do ciclo estral, ocorrendo mais tarde quando comparado a estudos realizados na espécie eqüina e o fenômeno de desvio nas jumentas pode ser detectado no dia 14 do ciclo estral, acontecendo mais cedo que nas éguas, sendo estas hipóteses baseadas nas observações relativas ao desenvolvimento folicular acompanhado pelo presente estudo.

Atualmente ainda existe uma carência de pesquisas que caracterize as fases da fisiologia reprodutiva nas jumentas. Portanto, metodologias realizadas e comprovadas em estudos feitos na espécie eqüina são sugeridas com o intuito de esclarecer as relações temporais existentes entre hormônios e envolvendo observações da dinâmica folicular ovariana na espécie asinina.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.P. Control follicular waves dynamics in cattle: implications for synchronization & superstimulation. **Theriogenology**, v.41, p.19-24, 1994.

ARRUDA, R. P; VISINTIN, J. A; FLEURY, J.J; GARCIA, A.R; CELEGHINI, E. C. C; NEVES NETO, J.R. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões eqüinos?. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, Vol.38 , no. 5 São Paulo, 2001.

AUSTIN, C.R.; SHORT, R.V. Germ cells and fertilization. In: Reproduction in mammals. Book 1, **Germ cells and fertilization**, 2 ed., editora Cambridge University Press, 1982, p.101.

BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Follicular populations following inhibition of FSH with equine follicular fluid during early pregnancy in the mare. **Theriogenology**, v. 26, p. 735- 747, 1986.

BERGFELT, B.R. Ovarian follicular wave dynamics in mare. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v. 26, p. 104-124, 1998.

BLANCHARD, T. L.; TAYLOR, T. S. Estrous Cycle Characteristics of Donkey with Emphasis on StandaMammoth Donkeys. In: **Veterinary Care of Donkeys.**, in press, 2005.

BURATINI, J.J. Avaliação da dinâmica folicular em éguas da raça mangalarga utilizando a ultra-sonografia e as concentrações plasmáticas de progesterona e hormônio luteinizante. **Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu**, p.1-66, 1997.

DADARWAL, D.; TANDON, S.N.; PUROHIT, G.N.; PAREEK, P.K. Ultrasonographic evaluation of uterine involution and postpartum follicular dynamics in French Jennies (*Equus asinus*). **Theriogenology**, in press, 2004.

DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. Interrelationships of estradiol, inhibin, and gonadotropins during follicle deviation in pony mares. **Theriogenology**, v. 61, p. 1395-1405, 2004.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biol Reprod.**, v.50, p.225-32, 1994.

FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; KOMAR, C.M. Selection and Differentiation of Dominant Ovarian Follicle in Cattle. In: Silva, a.m.r. (Ed), BR **Monographs of Reproduction & Catalog** Group. São Paulo: Arte e Ciência, p. 21-31, 2001.

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BERGFELT, D.R. GINTHER, O.J. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. **Biol. Reprod.**, v.57, p. 1320-1327, 1997.

GASTAL, E.L.; BERGFELT, D.R.; NOGUEIRA, G.P.; GASTAL, M.O.; GINTHER, O.J. Role of luteinizing hormone in follicle deviation based on manipulating progesterone concentrations in mares. **Biol. Reprod.**, v. 61, p.1492-1498, 1999.

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; NOGUEIRA, G.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Temporal interrelationships among luteolysis, FSH and LH concentrations and follicle deviation in mares. **Theriogenology**, v. 53, p. 929-944, 2000.

GINTHER, O.J. **Reproductive Biology of the Mare**. Basic and applied aspects, 2^o ed. Cross Plains: Equiservices, 1992, 640p.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R. Ultrasonic characterization of follicular waves in mares without maintaining identity of individual follicles. **J. Equine Vet. Sci.**, v. 12, p. 349-354, 1992.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R. Growth of small follicles and concentrations of FSH during the equine estrous cycles. **J. Reprod. Fertil.**, London, v. 99, p.105-111, 1993.

GINTHER, O.J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses.** Book II. Equiservices Publishing, Cross Plains, WI, p. 394, 1995.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 60-61, p.61-79, 2000.

GINTHER, O.J. Follicle selection in cattle: relationship among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance. **Biol. Reprod.**, v.65, p.345-350, 2001.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; KOT, K.; MEIRA, C.; BERGFELT, D.R. Associated and independent comparisons between the two largest follicles preceding follicle deviation in cattle. **Biol. Reprod.**, v. 68, p. 524-529, 2002.

GOUDET, G.; BELIN, F.; BEZARD, J.; GERARD, N. Maturation-promoting factor (MFP) and mitogen activated protein Kinase (MAPK) expression in relation to oocyte competence for in vitro maturation in the mare. **Mol. Hum. Reproduction.**, v.4, p.563-570, 1998.

HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animal.** 5^a ed., Philadelphia. Lea & Febiger, 1987, 649p.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal.** Philadelphia: Lea & Febiger, 6. ed.; 1995, 582p.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Functional Anatomy of Reproduction In: **Reproduction in Farms Animals**, 7° ed., p.1- 68, 2000.

HENRY, M.; CORYN, M.; VANDEPLASSCHE, M. Multiple ovulations in the mare. *Zbl. Vet. Med. A. Berlin*, v. 29, p. 170- 184, 1982.

HENRY, M.; FIGUEIREDO, A.E.F.; PALHARES, M.S.; CORNY, M. Clinical and endocrine aspects of the oestrus cycle in donkeys (*Equus asinus*). **J. Reprod. Fertil.**, Suppl. 35, p. 297-303, 1987.

HIRSHFIELD, A.N. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int. Ver. Cytol*, New York, v. 124, p. 43-101, 1991.

HYTTEL, P.; FAIR, T.; CALLESEN, H. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, Los Altos, v. 47, p. 23-32, 1997.

HULSHOF, S.C.J. Bovine preantral follicles and their development in-vitro. 1995, p.108, *Yalelaan – Utrecht af Veterinary Medicine*, Yalelaan, p.108, 1995.

LANDIM-ALVARENGA, F.C. Produção *in vitro* de embriões eqüinos: Avanços e Limitações. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, supl. V. 27, n. 1, p. 54-89, 1999.

MAPLETOFT, R.J.; BO, G.A.; PIERSON, R.A. Recruitment of follicle for superovulation. **Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v.16, p.127-41, 1994.

MCKINNON, A.O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**, ed. Williams & Wilkins, 1993, 1115p.

MEIRA, C.; FERREIRA, J.C.P.; PAPA, F.O.; TORNERO, M.T.T.; BICUDO, S.D. Study of the cycle in Donkeys (*Equus asinus*) using ultrasonography and

plasma progesterone concentrations. **Biol. Reprod. Mono**, v.1, p.403-410, 1995.

MONNIAUX, D.; MONGET, P.; BESNARD, N.; HUET, C.; PISSELET, C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. **Theriogenology**, v.47, p.3-12, 1997.

NAGY, P.; HUSZENICZA, J.J.; KULUSAR, L.S.; REIEZIGEL, J.; ABAVARY, K. Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of postpartum mares under farm conditions. **Theriogenology**, v. 50, p. 1109-1119, 1998.

NAGY, P.; HUSZENICZA, GY.; REICZIGEL, J.; JUHASZ, J.; KULCSAR, M.; ABAVARY, K.; GUILLAUME, D. factors affecting plasma progesterone concentration and the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. **Theriogenology**, v. 61, p. 203- 214, 2004.

NOAKES, D.E; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. W.B. Saunder; 8^o ed.; 2001, 850p.

PICTON, H.M. Activation follicle development: the primordial follicle. **Theriogenology**. Los Altos, v.55, p.193-210, 2001.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Follicular population dynamics during estrous cycle of the mare. **Anim. Reprod. Sci.**, London, v. 14, p. 219-231, 1987.

SUSAN, A.L.; IRVINE, C.H.G. GnRH secretion in the mare. *Animal Reproduction Science*, v. 42, p. 173-180, 1996.

SQUIRES, E.L.; GARCIA, R.H.; GINTHER, O.J.; VOSS, J.L.; SEIDEL, G.E. Comparison of equine pituitary extract and follicle stimulating hormone for superovulating mares. **Theriogenology**, v.26, p.661-670, 1986.

SQUIRES, E.L.; MCKINNON, A.O.; CARNEVALE, E.M.; MORRIS, R.P.; NETT, T.M. Reproductive characteristics of spontaneous single and double ovulating mares and superovulated mares. **J. Reprod. Fertil.**, Suppl. Cochester, v. 35, p.399-403, 1987.

VANDEPLASSCHE, M.; WESSON, J.A.; GINTHER, O.J. Behavioral, follicular and gonadotropin changes during the estrus cycle in donkeys. **Theriogenology**, v. 16, p. 239-249, 1981.

WATSON, E.D.; PEDERSEN, H.G.; THOMSON, S.R.M.; FRASE, H.M. Control of follicular development and luteal function in the mare: Effects of a GnRH antagonist. **Theriogenology**, v. 545, p. 599- 609, 2000.

WATSON, E.D.; THOMASSEN, R.; NIKOLAKOPOULOS, E. Association of uterine edema with follicle waves around the onset of the breeding season in pony mares. **Theriogenology**, p. 1181-1187, 2003.

WEBB, R.; CAMPBELL, B.K.; GRVERICK, H.A.; GONG, J.G.; GUTIERREZ, C.G; ARMSTRONG, D.G. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. **J. Reprod Fertil.** Suppl., Colchester, v. 54, p. 33-49, 1999.

WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; SANGSRITAVONG, S.; SARTORI, R.; GINTHER, O.J. Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v. 83, p.1-10, 2000.