

CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA FOSSA DE OVULAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO PERFIL PROTEICO DO LÍQUIDO FOLICULAR EM ÉGUAS - Resultados parciais

NEVES, Angélica¹; PETRUCCI, Bianca²; CRUZ, Luiz³; RODRIGUES, Rosangela³; FIALA, Sandra⁴

¹Medicina Veterinária- UFPel;

² UFRGS- Laboratório de Reprodução REPPROLAB

³Laboratório de Histologia- Departamento de Morfologia IB – UFPel

⁴Departamento de Morfologia IB – UFPel

apnvet@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

A espécie equina foi considerada por muito tempo como a de menor fertilidade entre as espécies domésticas, o que foi atribuído a características de seleção e problemas relacionados ao manejo reprodutivo (Ginther, 1992). Embora tenha se aprimorado as técnicas para melhorar a reprodução dessa espécie, ainda há muitas lacunas na produção equina.

Com o desenvolvimento e introdução de técnicas bioquímicas, principalmente as eletroforéticas, tornou-se possível a diferenciação das proteínas de líquidos orgânicos, o que poderá ter contribuído na produção de animais superiores. O perfil proteico do líquido folicular da égua foi pouco estudado. É conhecida a atividade das IGFs, ativina A/inibina A. Através de cultura de tecido foi verificado que o FSH estimula a produção de proteínas de ligação ao IGF na égua (Beg e Ginther 2007). Os demais estudos do fluido folicular foram realizados em outras espécies, mas objetivando sempre a observação do estímulo provocado pelo FSH na resposta ovariana.

A ocorrência de ovulação quando dois folículos estão no mesmo ovário, a formação dos folículos anovulatórios hemorrágicos a partir de um único folículo, e os folículos simples que são evacuados lentamente poderiam ser resultado de problemas no momento da ruptura, porque o local da ruptura estava em uma região vascularizada ou próxima dos limites exteriores da fossa de ovulação.

A ovulação da égua ocorre na fossa de ovulação, localizada no bordo ventral ou côncavo do ovário, estrutura esta que diferencia os ovários das éguas das demais espécies domésticas (Getty, 1975). A localização das zonas cortical e medular está invertida. Os folículos e os corpos lúteos estão espalhados no interior da parte central do órgão e em direção à fossa ovulação. Eles estão circundados por tecido conjuntivo denso, ricamente vascularizado o qual corresponde à medula do ovário de outras espécies (Dyce et al., 1996).

Um folículo recentemente ovulado é sentido na palpação como uma depressão na superfície do ovário. Preenche-se com sangue oriundo da ruptura dos vasos e, entre 8 e 14 horas após a ovulação, ocorre a luteinização das células da granulosa (Hughes, 1972).

Nas éguas, a ovulação ocorre após uma constante e lenta elevação na concentração de LH. Ainda com o estímulo de LH, o folículo rompe-se e o ovócito é expelido, sendo captado pelas fimbrias e liberado no oviduto para uma possível

fertilização. Primeiramente, ocorre uma hemorragia após a ruptura folicular, determinando a formação do corpo hemorrágico e posteriormente, as células da granulosa e da teca sofrem luteinização para formar o corpo lúteo. A partir deste momento, inicia-se a fase luteal (Hafez & Hafez, 2000).

Witherspoon et. al. Em 1975 realizou um estudo utilizando técnicas cinematográficas durante a ovulação e também com injeções de tinta da Índia no folículo primordial antes da ovulação, traçando o trajeto do fluido folicular, confirmando a hipótese de que a ovulação se manifesta na fossa ovulatória nas éguas.

O objetivo deste trabalho é de analisar a morfologia e histologia da fossa de ovulação, além de avaliar o perfil eletroforético das proteínas que estão associadas a fatores debilitantes da reprodução equina.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foram coletadas, até o momento, amostras de 108 éguas destinadas ao abate nas cidades de Pelotas e São Gabriel, Rio Grande do Sul. As éguas possuíam condição corporal mínima 3 (Hennecke et al., 1983, modificada por Malschitzky, 1998) e tinham entre 3 e 12 anos de idade.

As éguas foram submetidas à palpação retal e à ultra-sonografia, onde foram considerados a ecotextura do útero, o conteúdo uterino (Curnow, 1991) e a atividade ovariana. Foram utilizadas somente éguas que não apresentavam alterações no exame ginecológico.

Durante a ultrassonografia os ovários das éguas foram medidos e as estruturas encontradas (folículos e corpo lúteo) anotadas e mensuradas, a partir deste momento as éguas foram divididas em grupos, de acordo com as características observadas nos ovários.

Grupo 1: G1 anestro – ovários lisos com ausência de folículos maiores de 10 mm e de corpo lúteo;

Grupo 2: G2 transicional – ovários contendo folículos maiores de 10mm com ausência de corpo lúteo;

Grupo 3: G3 estro – ovários com folículo maior de 25 mm e ausência de corpo lúteo ativo;

Grupo 4: G4 diestro – presença de corpo lúteo ativo.

Após o abate, o trato reprodutivo das éguas era recolhido para coleta das amostras. Foi coletado um fragmento, de cada ovário, correspondente à fossa de ovulação para histologia e imunohistoquímica, com auxílio de uma tesoura. O fragmento foi fixado em solução de formalina 4% por, 48 h, sendo subsequentemente lavado em água, dividido, processado e corado pela técnica hematoxilina e eosina ou imunohistoquímica.

Para eletroforese, os ovários foram dissecados e os folículos medidos. A coleta do líquido folicular foi efetuada com o auxílio de uma seringa e a amostra dos diferentes grupos foi imediatamente colocada em tubo plástico e congelada em nitrogênio líquido para realização de eletroforese bidimensional. As amostras foram posteriormente descongeladas, centrifugadas a 10000 g por 60 minutos à 4^oC e o sobrenadante foi acondicionado em frascos criogênicos em alíquotas de 50µl, mantidas a -70^oC, até sua utilização.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas amostras de 108 éguas, 78 para histologia e imunohistoquímica e 30 para eletroforese bidimensional (realizada no REPROLAB – UFRGS). Um dos aspectos que foi evidenciado até o momento é que a hipótese de que a fossa de ovulação teria diferente coloração em relação ao restante do ovário, foi praticamente descartada. Nos 156 ovários até agora analisados, tal diferença não foi observada.

Nas amostras de ovário processadas para microscopia de luz, pode-se verificar que a fossa de ovulação é revestida por mesotélio, diferente do restante do ovário. As demais amostras ainda estão sendo processadas. Também foram observadas três éguas com hidrossalpinge (3,84%), e uma com hematoma ovariano (1,28%).

4 CONCLUSÃO

A fossa de ovulação, diferente do que se acreditava, possui, nas amostras analisadas, a mesma coloração do restante do ovário. Diversas bandas protéicas já foram observadas na eletroforese bidimensional, porém ainda não foi realizada a sua quantificação.

5 REFERÊNCIAS

CURNOW, E.M., 1991. Ultrasonography of the mare's uterus. *Eq. Vet. Educ.* 3 (4):190-193.

DYCE, K. M., W. O. SACK, AND C. J. G. WENSING,: *Textbook of Veterinary Anatomy* 2nd edn. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1996 528-529.

HENNECKE, D.R., POTTER, G.D., KREIDER, J.L., YEATES, B.F.. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Eq. Vet. J.* 1983. 15 (4) : 371-372.

MALSCHITZKY, E. 1998. **Efeito de diferentes tratamentos pós-cobertura na fertilidade de éguas Puro Sangue de Corrida**. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre

GINTHER, O. J. **Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects**, 2 Ed. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, 1992, 642 pp.

GINTHER OJ, GASTAL EL, GASTAL MO. Spatial relationships between serrated granulosa and vascularity of the preovulatory follicle and developing corpus luteum. *J of Equine Vet. Sci.* 2007; 27: 20 – 27.

DYCE, K. M., W. O. SACK, AND C. J. G. WENSING,: *Text Book of Veterinary Anatomy* 2nd edn. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1996 528-529.

GASTAL EL, GASTAL MO, GINTHER OJ. Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. *Reproduction* 2006; 131: 699–709.

GETTY, R.,: **Sisson and Grossman's the Anatomy of the Domestic Animals 5th edn, Vol. 1**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1975 542-544.

HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. Functional anatomy of reproduction. In: HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animals**. 7^a ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2000. p 1 – 68.

HUGHES, J.P. et al., 1972. Estrous cycle and ovulation in the mare. J. A . V. M. A . ,161: 1367-1374

WITHERSPOON, D. M.: The site of ovulation in the mare. J.Reprode. Fertil. Suppl., 23:329-330, 1975.