

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA GESTAÇÃO DE MINI-PÔNEIS

MARIA CAROLINA HORN BERTA CANIBAL

Porto Alegre, 29 de Agosto de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA GESTAÇÃO DE MINI-PÔNEIS

MARIA CAROLINA HORN BERTA CANIBAL

Autor: M^a Carolina H. B. Canibal

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em
Ciências Veterinárias na área de Reprodução Animal

Orientador: Rodrigo Costa Mattos

Porto Alegre, 29 de Agosto de 2008

Agradecimentos

Primeiramente agradeço ao meu pai Francisco Berta Canibal por ter me ensinado desde criança a admirar e a amar os cavalos, sempre incentivando e vibrando com minha escolha profissional.

À minha mãe Maria Ronety e ao meu irmão Francisco Júnior, agradeço também o apoio, paciência e ajuda.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Costa Mattos e Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory, agradeço a acolhida e a amizade na minha chegada ao Reprolab.

Não posso deixar de agradecer a todos os estagiários, bolsistas, mestrandos e doutorandos do Laboratório Reprolab que no decorrer do projeto com as éguas Mini-pôneis ajudaram de alguma maneira, ou na “lida” diária de palpação e ou nas buscas das cinco éguas roubadas durante o projeto em janeiro de 2007.

Ao Jornal Zero Hora, agradeço pela matéria publicada sobre o roubo das Mini-pôneis, possibilitando a recuperação de todas.

Lógico que tudo não aconteceria se ELE não permitisse: muito obrigado MEU DEUS por conseguir realizar mais um objetivo na minha vida.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA GESTAÇÃO DE MINI-PÔNEIS

Autor : Maria Carolina Horn Berta Canibal

Orientador: Rodrigo Costa Mattos

Colaboradores: O.J. Ginther, E.L. Gastal, M.O. Gastal, R.M. Gregory, G.R. Laurentis

Resumo

Este estudo teve como objetivo caracterizar as modificações que ocorrem no ovário e no útero de Mini-pôneis prenhes e descrever o desenvolvimento normal do embrião e do feto nos estágios iniciais da gestação. Durante duas estações de monta foram utilizadas 13 éguas mini-pôneis, clinicamente e reprodutivamente sadias, não lactantes com idade variando de 3 a 16 anos. A partir do sexto dia pós-ovulação os animais foram examinados diariamente até o 60º dia, por um operador, através de palpação e exame ultra-sonográfico trans retal para verificar o dia de aparecimento da vesícula embrionária. Após a detecção do embrião realizou-se um teste de acompanhamento da mobilidade com acompanhamento ultra-sonográfico por duas horas por dia até a ocorrência da fixação. O diâmetro da vesícula embrionária, surgimento do embrião, visualização do cordão umbilical, da alantóide, e batimentos cardíacos foram monitorados. Da mesma forma, verificou-se o tônus uterino, o desenvolvimento dos dois maiores folículos e da área e do diâmetro do corpo lúteo. Conclui-se que a égua Mini-pônei apresenta algumas diferenças importantes nos eventos relacionados à gestação que outros eqüídeos de maior porte. Entre eles a maior demora na detecção da vesícula embrionária, uma curva de crescimento da vesícula embrionária mais lenta após os 25 dias de gestação, um maior índice de fixação da vesícula embrionária no corpo uterino, uma detecção mais tardia dos batimentos cardíacos e da alantóide, uma segunda onda folicular após os 48 dias, provavelmente responsável pela formação dos futuros corpos lúteo acessórios.

Palavras-chave: Mini-pôneis, gestação, embrião, feto, desenvolvimento

PHYSIOLOGICAL ASPECTS IN PREGNANCY THE MINI-HORSE

Author: Maria Carolina Horn Berta Canibal

Adviser: Rodrigo Costa Mattos

Abstract

This study had the objective of showing the changes that happen in the ovary and in the uterus of pregnant Mini-horses and describe the normal development of the embryo and fetus during the beginning of the pregnancy. During the period of two breeding seasons, 13 Mini-horses used, they were clinically and reproductivwly healthy, no lactants with ages varying between 3 and 16 years old. After the sith day post ovulation the mares were checked every day to verify the appearance of the embryo vesicule. After detection the pregnancy, a mobility test of the embryo with an ultrasound machine was done, during two hours per day until the day of the fixation. The embryo vesicule diameter, appearance of the embryo, observation of the umbilical cord, of the allantoic, and heart beat were checked. The tonus uterine, development of the two biggest follicules and area and corpus luteos diameter were checked, as well. The conclusion is that the Mini-horse mare has some important differences related to the pregnancy comparing to other horses. One of the differences would be a longer period of the time to detection the embryo vesicule, a slower embryo vesicule growing curve after the 25 day pregnancy, a higher index of embryo vesicule fixing in the uterus body, a late detection of the heart beats and allantoic, a second follicular wave after 48 days, that is probably responsible for the development of accessories corpus luteos in the future.

Key-words: Mini-horses, pregnancy, embryo, fetus, development.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representação gráfica dos nove segmentos uterinos – corno direito anterior (DA), corno direito médio (DM), corno direito posterior (DP), corno esquerdo anterior (EA), corno esquerdo médio (EM), corno esquerdo posterior (CP)..... 24
- Figura 2. Percentual médio de éguas Mini-pôneis distribuído conforme a primeira detecção da vesícula embrionária por ultra-sonografia e por palpação retal..... 27
- Figura 3. Localização da vesícula embrionária no útero antes da fixação em 13 éguas Mini-pôneis. Os valores são expressos pelo número de vezes (%) em que o embrião foi encontrado em cada segmento uterino após exames a cada 24 horas..... 27
- Figura 4. Percentual médio de éguas Mini-pôneis distribuído conforme o dia da fixação da vesícula embrionária..... 28
- Figura 5. Relação temporal entre o diâmetro da vesícula embrionária, o tônus uterino (1 a 3) e o dia da fixação em 13 éguas Mini-pôneis..... 29
- Figura 6. Relação temporal entre o diâmetro uterino, o tônus uterino (1 a 3) e o dia da fixação em 13 éguas Mini-pôneis..... 29
- Figura 7. Percentual médio de éguas Mini-pôneis distribuído conforme a primeira detecção do alantóide..... 30
- Figura 8. Percentual da vesícula embrionária constituída pelo saco vitelino e pelo saco alantóide durante os primeiros 60 dias de gestação..... 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Primeiro dia da detecção de diversas características do concepto de 13 éguas Mini-pôneis examinadas diariamente entre o 10° e 60° dia pós-ovulação.....	26
---	----

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	09
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1 Ciclo Estral.....	11
2.2 Movimento Embrionário.....	12
2.3 Fixação da Vesícula Embrionária.....	13
2.4 Placenta.....	14
2.5 Visualização da Vesícula Embrionária.....	14
2.5.1 Dia 9 aos 15.....	15
2.5.2 Dia 17 aos 19.....	15
2.5.3 Dia 20 aos 22.....	16
2.5.4 Dia 24 aos 26.....	16
2.5.5 Dia 28 aos 33.....	17
2.5.6 Dia 35 aos 38.....	17
2.5.7 Dia 40 aos 60.....	18
3 ARTIGO.....	19
4 CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo a criação de Mini-pôneis tem sido popularizada, com um ótimo campo de comércio. Os Mini-Pôneis são eqüinos de pequeno porte. A definição das diversas raças de pôneis ocorreu mais recentemente, pela ação selecionadora do homem e os novos ambientes de criação disponíveis desde os primórdios da domesticação dos cavalos.

Existem muitas raças de pôneis espalhadas por vários continentes. Na América do Sul, além dos pôneis argentinos, uruguaios e paraguaios destacam-se os pôneis brasileiros como as raças Piquira e Brasileira. No Rio Grande do Sul destaca-se a raça Brasileira originada do cruzamento da raça Shetland da Escócia e da raça Falabella da Argentina.

Muitos criadores destinam a criação de pônei brasileiro à iniciação de crianças na equitação, programas de terapia ou tração leve.

Mini-pônei é um pônei com altura de cernelha menor que 100 cm. É um eqüideo eumétrico, ágil, de bom temperamento para o serviço, dócil, com proporções equilibradas entre a altura e o comprimento do corpo, tendo boas angulações que favorecem movimentos ao passo, ao trote e ao galope.

Poucos estudos têm sido realizados com éguas Mini-pôneis e os poucos artigos existentes abordam principalmente sobre características seminais (PACCAMONTI et al, 1999). Recentemente foram publicados resultados referentes à dinâmica folicular e endocrinologia do ciclo estral de éguas mini-pôneis, considerando-as um ótimo modelo para estudos de foliculogêneses comparativos com outras espécies (GASTAL et al, 2008, GINTHER et al, 2008).

A gestação inicia com a fecundação do oócito e finaliza com o parto, consiste em um período de desenvolvimento e crescimento fetal até um estado em que o indivíduo se encontra maduro o suficiente para sobreviver em um ambiente extra-uterino (ROSSDALE e RICKETTS, 1979).

O início da gestação em qualquer espécie, e em particular na eqüina, é marcado por vários acontecimentos. Durante esse período ocorrem diversas mudanças na função e morfologia uterina, incluindo mudanças na contratilidade, tônus e diâmetro. Esses eventos uterinos são temporariamente associados com mudanças no diâmetro, forma e mobilidade do concepto (ALLEN, 1994; GINTHER, 1995)

Este estudo teve como objetivo o conhecimento da fisiologia ovariana, uterina e desenvolvimento embrionário e fetal das éguas Mini-pôneis gestante.

A hipótese sugerida é que as características fisiológicas da gestação das éguas Mini-pôneis, ao exame clínico e observações ultra-sonográficas sejam semelhantes àquelas de éguas de maior porte.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciclo Estral

O ciclo estral das éguas é dividido em duas fases: estro, caracterizado pelo crescimento folicular, maior secreção de estrógeno e receptividade sexual, e diestro, que inicia logo após a ovulação, onde a égua não mais aceita o garanhão, há a formação do corpo lúteo e maior secreção de progesterona (HUGHES et al, 1972).

No estro, existe um aumento gradual do diâmetro máximo dos folículos, preparando o folículo para a ovulação sob uma seqüência de eventos endócrinos, com aumento nas concentrações de FSH (hormônio folículo estimulante) (GINTHER et al, 1998).

O LH é responsável pela ocorrência da ovulação e conseqüente formação do corpo lúteo. O corpo lúteo (CL) secreta progesterona, essencial para o início e manutenção da gestação. Sua concentração aumenta rapidamente após ovulação, chegando ao ápice no dia seis e atua de forma sinérgica com o estrógeno existente, provocando junções adicionais no endométrio e miométrio preparando um ambiente favorável ao desenvolvimento do embrião (McDONALD, 1981; ARRUDA et al, 2001). Em casos de não prenhes o corpo lúteo (CL) continua a produzir progesterona até aproximadamente 14 a 15 dias pós-ovulação, regredindo após o útero secretar prostaglandina (SQUIRES, 1993).

O corpo lúteo (CL) dificilmente é encontrado na palpação, porém pode ser visualizado ultra-sonograficamente, como uma área do ovário tipicamente ecogênica, de forma irregular (MOURA e MERK, 1996).

No momento da cobertura ou da inseminação artificial, o sêmen é depositado no trato genital da égua, sendo que um pequeno número de espermatozóides férteis e maduros é transportado até os ovidutos (KATILA, 1997).

As contrações musculares do trato reprodutivo, a corrente de fluidos, os movimentos ciliares e a atividade flagelar dos espermatozóides constituem os mecanismos primários do transporte espermático (HUNTER, 1981).

Após a cobertura, o útero torna-se um ambiente hostil para os espermatozóides, devido ao aparecimento de uma reação inflamatória contra as bactérias e o sêmen, sendo necessário que o transporte espermático no útero seja rápido (TROEDSSON et al, 1998). Após a ovulação, o óvulo permanece fértil durante seis horas esperando a penetração do espermatozóide. A fecundação ocorre próxima ao oviduto e o blastocisto

desce até o útero aproximadamente cinco dias pós-ovulação, em um estágio de maturidade que lhe permite a secreção de $\text{PGF}^2\alpha$. Chamando-se então blastocisto, revestido por uma superfície externa chamada trofoblasto, que consiste em células que absorvem secreções uterinas que nutrem o embrião através do ectoderma do saco vitelino (ROSSDALE e RICKETTS, 1979; ALLEN, 2001).

O útero atua como uma incubadora, proporcionando um meio quente, úmido e estéril para o crescimento do embrião (McDONALD, 1981).

2.2 Movimento Embrionário

O embrião eqüino apresenta uma intensa mobilidade desde a primeira detecção, que geralmente ocorre entre os dias nove e 11, até o 15º dia após a ovulação. Denomina-se reconhecimento materno da gestação o evento caracterizado pela migração da vesícula. É um processo fisiológico desenvolvido por sinais da presença do concepto no organismo materno. Ocorre em éguas a partir do dia 11-13 pós-ovulação, antes do período de secreção endometrial de $\text{PGF}^2\alpha$ e luteólise. O reconhecimento envolve vários sinais produzidos pelo embrião incluindo uma ação luteoprotéica, luteotrófica, anti luteínica, que indicam uma redução nas concentrações de $\text{PGF}^2\alpha$ na circulação do lúmen intra-uterino comparado com concentrações de éguas em ciclo normais (ABABNEH et al, 2000).

A migração do concepto ocorre para frente e para trás entre os cornos e é essencial para inibir a luteólise (GINTHER, 1992a; HAFEZ, 2007). A migração parece ser modulada por contrações peristálticas do miométrio, estimuladas pelo desenvolvimento do concepto (HAFEZ e HAFEZ, 2007).

O tempo de permanência em cada segmento do útero e a direção do movimento é variável segundo a idade gestacional (GINTHER, 1995, FLOOD, 1993; PYCOCK, 2007). A vesícula pode mover-se da parte caudal do corpo uterino para o ápice de ambos os cornos durante o movimento embrionário. Inicialmente, o embrião passa 60% do tempo no corpo do útero e atinge seu máximo no dia 11 a 14, ficando a maior parte do tempo nos cornos uterinos (GINTHER, 1995). O movimento da vesícula freqüentemente ocorre nos cornos do útero. Exames ultra-sonográficos registram de sete até 20 deslocamentos da vesícula de um corno para outro em um período de 24 horas

(GINTHER, 1995; MOURA & MERKT, 1996; NEWCOMBE, 2000). O movimento que a vesícula faz em cada segmento uterino durante duas horas varia. Muitas vezes a vesícula passa direto de um corno para outro e outras, passa por cada parte do corpo uterino. É observado também que a vesícula, durante a fase de mobilidade, tem uma alteração em sua forma, podendo estar expandida ou contraída, o que pode ocorrer muitas vezes, pelo próprio transdutor pressionando o útero, ou por movimentos intestinais (GINTHER, 1995). Até a fixação, em experimento, a vesícula foi detectada no corno esquerdo 49% das vezes, no direito 42% e no corpo do útero 9 % (GASTAL et al, 1993).

2.3 Fixação da vesícula embrionária

Fixação é o termo usado para caracterizar a perda total da mobilidade da vesícula embrionária (GINTHER, 1995).

O aumento do diâmetro da vesícula, do tônus uterino e do espessamento da parede uterina induzida pela produção de estrogênio pelo concepto promove a fixação da vesícula no lúmen uterino, aproximadamente no 16^o dia após a ovulação (GINTHER, 1983). Entretanto, concentrações ótimas de progesterona e/ou o pequeno diâmetro da vesícula podem levar a uma mobilidade continuada da vesícula e possível perda desta em alguns casos (HAFEZ e HAFEZ, 2007).

A maioria das éguas tem uma queda da mobilidade do concepto por volta dos dias 16 e 18 fixando-se em um dos cornos, e isso se deve claramente ao aumento significativo do diâmetro do concepto (GINTHER, 1995; STOUT e ALLEN, 2001). O diâmetro da vesícula aumenta de dois a três mm por dia até a fixação. Quando a vesícula não pode mais migrar e encontra-se fixa dentro do corno, contrações do miométrio continuam a causar sua rotação, tanto que o embrião orienta-se para a região ventral (HAFEZ e HAFEZ, 1997).

Na maioria das vezes a fixação ocorre imediatamente após a bifurcação uterina em um dos cornos uterinos, raramente ocorrendo na parte distal do corno (GINTHER 1986; NEWCOMBE, 2000 e SQUIRES et al, 1988).

Em experimento realizado, 64% das fixações ocorreram no corno direito e 36% no corno esquerdo (DERIVAUX e ECTORS, 1984). Já em éguas no pós-parto tende a ocorrer no corno não gravídico previamente (PYCOCK, 2007).

No dia da fixação, Ginther (1986), não encontrou diferença no diâmetro da vesícula entre éguas e pôneis e GASTAL et al, (1993) cita que em um estudo, as vesículas de jumentas fixaram mais tarde do que em pônei. Esclarecer qual estudo

2.4 Placenta

Uma característica única no desenvolvimento inicial de todos os mamíferos é a passagem de nutrientes do organismo materno através da placenta. Placentação é a fusão de membranas fetais com o endométrio, que permite trocas fisiológicas entre mãe e o feto, como vitaminas, minerais, aminoácidos e açúcares (JAINUDEEN, 2004).

No início da gestação, existem membranas extra-embrionárias (saco vitelino, âmnion, alantóide e córion), que participam da formação da placenta, que no caso dos eqüinos classificam-se como difusa e microcotiledonária (tipo de vilosidade) e epiteliocorial (barreira materno fetal) (JAINUDEEN, 2004).

Córion é a envoltura mais externa, formando um saco fechado e toda sua superfície é revestida de vilosidades (DERIVAUX e ECTORS, 1984).

O âmnion deriva do ectoderma, e é a camada mais interna presente em todas as espécies de mamíferos a partir do dia 17 da gestação sendo completo no dia 21 (ROSSDALE e RICKETTS, 1979; McDONALD, 1981). É extremamente ligado ao embrião até o dia 56 de prenhes quando se separa devido a grande quantidade de líquido presente. A membrana amniótica pode ser observada no exame ultra-sonográfico como uma estrutura fina hiperecótica flutuando com os líquidos fetais (TROEDSSON e SAGE, 2001).

2.5 Visualização da Vesícula Embrionária

A ultra-sonografia tem sido usada na medicina veterinária desde a década de 80, aumentando a eficácia dos exames clínicos, possibilitando detectar vesículas embrionárias precocemente (PALMER e DRIANCOURT, 1980). O primeiro relato da

utilização dessa técnica em mamíferos foi no diagnóstico de gestação em ovinos. Com o transdutor no assoalho do reto, o diagnóstico precoce de gestação nos grandes animais é realizado com a observação da vesícula embrionária no útero. Nos eqüinos, é importante considerar a anatomia da espécie, onde os cornos uterinos estão dispostos em “V”. É importante o conhecimento do profissional que está realizando o exame, para poder diferenciar uma vesícula embrionária de condições patológicas como cistos endometriais (KÄHN,1994).

2.5.1 Dia 9 aos 15

Com o auxílio da ultra-sonografia, a vesícula embrionária pode ser detectada a partir do nono dia pós-ovulação (GINTHER, 1995). Observa-se uma estrutura preta anecóica, com sua borda ventral e dorsal bem definida. O embrião nesses dias ainda não é visível (BURNS e LAYTON, 1986). A eficácia da detecção com 14 ou 15 dias é de 99% podendo a vesícula embrionária de forma esférica medir em torno de 17 a 22 mm (NEELY, 1983; SQUIRES et al, 1988).

2.5.2 Dia 17 aos 19

No dia 17 pós-ovulação o útero da égua torna-se tenso como um tônus normal de diestro devido à produção hormonal do concepto e do corpo lúteo, tendo uma forma tubular com uma boa distinção da bifurcação dos cornos. Tanto o corno gravídico como o não-gravídico tornam-se firmes (NEELY, 1983; ANDRADE, 1983). Já manualmente é possível sentir a partir do dia 19 uma assimetria de cornos, medindo a vesícula de 25 a 35 mm (NEELY, 1983). A vesícula embrionária adquire uma forma de ovóide a irregular a partir do dia 18 pós-ovulação. Essa forma irregular é normal, não sendo indicativa de perda embrionária. A aparência pode ser confundida com coleção intraluminal de fluído uterino, principalmente porque ainda não é possível a visualização do embrião nessa fase (PYCOCK, 2007).

2.5.3 Dia 20 aos 22

O aparecimento do embrião dentro da vesícula embrionária é observado nessa fase localizando-se na base (ou porção ventral) da vesícula, com formato esférico medindo aproximadamente 2,6 cm de diâmetro (GINTHER, 1995; SQUIRES et al, 1988). Por volta do dia 21, o alantóide começa a surgir, formando um cálice sobre o âmnio e o embrião (GINTHER, 1995 e NEELY, 1983).

Os ovários já são caracterizados com presença de folículos, e posteriormente, há o desenvolvimento extensivo multifolicular, como consequência da ação de gonadotrofinas, como o FSH (hormônio folículo estimulante) (ALLEN, 1994; HEIDI e WALTER, 2000).

2.5.4 Dia 24 aos 26

Até o dia 24, o crescimento da vesícula atinge seu *plateau*, quando as várias camadas das futuras membranas fetais são formadas e quando o saco vitelino mantém o suporte nutricional (NEELLY, 1983; SQUIRES et al, 1988). Entre esses dias, a parede uterina e a cérvix estão bem contráteis e um exame vaginal revela uma discreta hiperemia (ROBERTS, 1986). Durante toda a prenhes a cérvice está bem fechada e sua superfície está com uma coloração rosada pálida coberta com uma capa protetora muco viscoso que forma um tampão protetor (ROSSDALE e RICKETTS, 1979). No dia 25 de gestação, a vesícula torna-se esférica medindo de 30 a 60 mm, e o corno gravídico apresenta uma tubularidade e tônus mais pronunciado que o corno não gravídico e, pode-se ainda observar atividade folicular nos ovários (NEELY, 1983).

Pode ser observada a pulsação do coração do embrião (150 a 190 batimentos por minuto que aumentam no terceiro mês de gestação e diminuem gradualmente até o sexto mês chegando a 130 batimentos por minuto) (TROEDSSON e SAGE, 2001) e a passagem do sangue no seu sistema circulatório (GINTHER, 1995 e NEELY, 1983).

A união do alantóide e córion nos dias 25 a 26 inicia a formação da placenta alantocoriônica (GINTHER, 1995 e NEELY, 1983). Nesse estágio, a coroa coriônica, com importantes células, de aproximadamente um mm de largura, acerca o concepto, que mais tarde irão originar os cálices endometriais.

A partir daí, através da palpação retal, o desenvolvimento do concepto já pode ser identificado como um aumento de volume ventral (PYCOCK, 2007).

2.5.5 Dia 28 aos 33

Na palpação retal, o corno gravídico encontra-se tenso, rígido e contrasta com a flacidez do corpo uterino e corno não gravídico (DERIVAUX e ECTORS, 1984).

Na fase entre o dia 28 a 30, o saco alantóide ocupa aproximadamente metade do volume do concepto, e o crescimento do saco alantóide, juntamente com a regressão do saco vitelino, mantém o embrião na parte ventral da vesícula (NEELY, 1983). Aos 30 dias, a vesícula torna-se alongada, numa formação oval (ROBERTS, 1986), e o embrião começa a se transportar mais dorsalmente em relação à vesícula (GINTHER, 1995; NEWCOMBE, 2000; SQUIRES, et al 1988). Com a estabilidade da placenta alantocoriônica, o saco vitelino começa a regredir a partir do dia 35 (NEELY, 1983).

2.5.6 Dia 35 aos 38

Aos 36 dias, a vesícula embrionária apresenta-se esférica e achatada, com diâmetro aproximado de oito cm. O saco vitelino continua a retroceder e o embrião se movimenta para o pólo oposto (GINTHER, 1995; NEWCOMBE, 2000). O alantocórion está perto de dominar a placenta, mas o saco vitelino contém uma discreta circulação sanguínea. Nesta fase, o embrião apresenta um comprimento de 15 mm (GINTHER, 1995).

Durante esse período (35 - 38 dias), o comprimento do embrião da cabeça à garupa é de seis mm aproximadamente. A partir daí a vesícula torna-se cada vez mais irregular (SQUIRES et al, 1988).

As células da coroa coriônica, ao redor dos 38 dias, invadem o endométrio e dão origem aos cálices endometriais, que irão produzir eCG, tornando-se macroscopicamente visíveis no dia 40 (ROSSDALE e RICKETTS, 1979; DERIVAUX e ECTORS, 1984; GINTHER, 1995 e PYCOCK, 2007). Os cálices endometriais são característicos da placenta eqüina, e a produção do eCG (pmsg) promove a luteinização

dos folículos e mantém os corpos lúteos secundários em funcionamento (JAINUDEEN, 2004).

A maioria dos corpos lúteos secundários (em média 30%) resulta de ovulações e o restante, de folículos anovulatórios luteinizados (GINTHER, 1986).

O número de corpos lúteos secundário varia entre éguas e sua função é contribuir para o aumento da concentração de progesterona em conjunto com o CL primário (SQUIRES et al, 1979).

2.5.7 Dia 40 aos 60

A partir do 40° de gestação o feto (após 40 dias o embrião é denominado de feto) e o âmnion foram movidos para o pólo oposto substituindo o saco vitelino (totalmente degenerado) (SQUIRES et al, 1988; PYCOCK, 2007), e a placenta alantocoriônica está perto de estar completa (GINTHER, 1995).

As membranas que separam o saco alantóide e o saco vitelino se fundem quando o feto atinge o pólo dorsal no 40° dia, formando o cordão umbilical, que normalmente vai de 50 a 100 cm de comprimento (GINTHER, 1995; TROEDSSON e SAGE, 2001). O cordão umbilical contém artéria, veia e o úraco. Está dividido em uma porção amniótica e outra alantóidea. O cordão se encontra trançado e se une à membrana corioalantóidea próxima aos cornos e ao corpo do útero. Os vasos estão rodeados por uma veia que se ramifica radialmente sobre a superfície interna da placenta (ROSSDALE e RICKETTS, 1979). Após o cordão umbilical ficar mais longo, o saco vitelino regressa tornando-se unido ao mesmo e o feto desce novamente para a base do saco alantóico. Nesta fase, a forma da vesícula é oval, medindo aproximadamente 15 - 25 cm (GINTHER, 1995).

Nos 45 dias a dilatação presente durante a palpação é mais oval do que esférica (DERIVAUX e ECTORS, 1984).

A partir do dia 50 aos 80 de gestação a placenta começa a assumir a produção de progesterona (GINTHER, 1992b, SQUIRES e GINTHER, 1975 e DERIVAUX e ECTORS, 1984).

Com o avanço da gestação, o diâmetro do concepto excede a imagem do ultrassom, e por exame retal o feto é facilmente palpado (PYCOCK, 2007).

3 ARTIGO (a ser publicado)

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA GESTAÇÃO DE MINI-PÔNEIS

Autor : Maria Carolina Horn Berta Canibal

Orientador: Rodrigo Costa Mattos

Colaboradores: O.J. Ginther, E.L. Gastal, M.O Gastal, R.M. Gregory, G.R. Laurentis

Resumo

Este estudo teve como objetivo caracterizar as modificações que ocorrem no ovário e no útero de Mini-pôneis prenhes e descrever o desenvolvimento normal do embrião e do feto nos estágios iniciais da gestação. Durante duas estações de monta foram utilizadas 13 éguas mini-pôneis, clinicamente e reprodutivamente sadias, não lactantes com idade variando de 3 a 16 anos. A partir do sexto dia pós-ovulação os animais foram examinados diariamente até o 60º dia, por um operador, através de palpação e exame ultra-sonográfico trans retal para verificar o dia de aparecimento da vesícula embrionária. Após a detecção do embrião realizou-se um teste de acompanhamento da mobilidade com acompanhamento ultra-sonográfico por duas horas por dia até a ocorrência da fixação. O diâmetro da vesícula embrionária, surgimento do embrião, visualização do cordão umbilical, da alantóide, e batimentos cardíacos foram monitorados. Da mesma forma, verificou-se o tônus uterino, o desenvolvimento dos dois maiores folículos e da área e do diâmetro do corpo lúteo. Conclui-se que a égua Mini-pônei apresenta algumas diferenças importantes nos eventos relacionados à gestação que outros eqüídeos de maior porte. Entre eles a maior demora na detecção da vesícula embrionária, uma curva de crescimento da vesícula embrionária mais lenta após os 25 dias de gestação, um maior índice de fixação da vesícula embrionária no corpo uterino, uma detecção mais tardia dos batimentos cardíacos e da alantóide, uma segunda onda folicular após os 48 dias, provavelmente responsável pela formação dos futuros corpos lúteo acessórios.

Palavras-chave: Mini-pôneis, gestação, embrião, feto, desenvolvimento

Abstract

This study had the objective of showing the changes that happen in the ovary and in the uterus of pregnant Mini-horses and describe the normal development of the embryo and fetus during the beginning of the pregnancy. During the period of two breeding seasons, 13 Mini-horses used, they were clinically and reproductivwly healthy, no lactants with ages varying between 3 and 16 years old. After the sith day post ovulation the mares were checked every day to verify the appearance of the embryo vesicule. After detection the pregnancy, a mobility test of the embryo with an ultrasound machine was done, during two hours per day until the day of the fixation. The embryo vesicule diameter, appearance of the embryo, observation of the umbilical cord, of the allantoic, and heart beat were checked. The tonus uterine, development of the two biggest follicules and area and corpus luteos diameter were checked, as well. The conclusion is that the Mini-horse mare has some important differences related to the pregnancy comparing to other horses. One of the differences would be a longer period of the time to detection the embryo vesicule, a slower embryo vesicule growing curve after the 25 day pregnancy, a higher index of embryo vesicule fixing in the uterus body, a late detection of the heart beats and allantoic, a second follicular wave after 48 days, that is probably responsible for the development of accessories corpus luteos in the future.

Key-words: Mini-horses, pregnancy, embryo, fetus, development.

Introdução

O interesse pelos cavalos Mini-pôneis tem aumentado nos últimos 10 anos. A indústria de cavalos Miniatura registrou mais de 100.000 produtos no mundo (FRANKENEY, 2003). Estes cavalos são utilizados para recreação (ROGERS et al, 2006), como guia para cegos (The Guide Horse Foundation 2004), programas de terapia e iniciação de crianças na equitação. A altura dos cavalos Miniatura deve ser inferior a 100 cm, sendo um equídeo eumétrico, ágil, de bom temperamento para o serviço, dócil, com proporções equilibradas entre a altura e o comprimento do corpo, tendo boas angulações que favorecem movimentos ao passo, ao trote e ao galope. Estes animais são chamados de cavalos Miniatura, Mini-pôneis ou simplesmente de pôneis (por exemplo, a Raça Pônei Brasileiro) baseado no fenótipo e na criação em várias partes do mundo (GASTAL et al, 2008).

Os cavalos Miniatura não podem ser considerados uma versão pequena das grandes raças, devido a anos de seleção de criação e às demandas fisiológicas e metabólicas únicas (FRANKENEY, 2003). Entretanto, apesar da importância numérica, econômica e social o conhecimento dos padrões reprodutivo dos cavalos Miniatura é escasso e fragmentário (GASTAL et al, 2008). As orientações seguidas na avaliação reprodutiva de éguas Miniatura é originada da observada de grandes pôneis e em cavalos (PACCAMONTI et al, 1999). Estudos em Mini-pôneis apresentariam importância fundamental e prática na formulação e no teste de hipóteses e no diagnóstico clínico dos eventos reprodutivos (GASTAL et al, 2008). Embora a existência de alguns poucos relatos clínicos em éguas Miniatura (JUDD, 1994; TIBARY, 2004), estudos científicos detalhados foram somente publicados em 2008 em temas relacionados à dinâmica folicular, luteal e endometrial (GASTAL et al, 2008) e na endocrinologia do ciclo estral (GINTHER et al, 2008).

O tamanho físico é o principal obstáculo na realização de estudos reprodutivos e diagnósticos nas éguas Miniatura. Operadores com mão e antebraço finos e pequenos e com experiência em palpação podem examinar retalmente e ultra-sonograficamente a maioria das éguas Miniatura em idade reprodutiva (MARCELLA, 1992). A palpação retal pode ser realizada em torno de 80% das éguas Miniatura, admitindo que o tamanho da mão e do antebraço seja pequeno (JUDD, 1994). Em éguas muito pequenas para serem palpadadas retalmente, devido a uma incompatibilidade entre o braço do operador e o espaço no canal pélvico, a ultra-sonografia pode ser usada com uma extensão para o

transdutor e introduzindo-a no reto das éguas Miniatura (CAMPBELL, 1992; JUDD, 1994) e de Mini-burras (PURDY, 2005).

O desconhecimento no Mini-pônei da atividade ovariana na égua gestante, das modificações uterinas e do desenvolvimento embrionário e fetal motivou a realização do presente trabalho. Como hipótese sugeriu-se que as características fisiológicas da gestação das éguas Mini-pôneis, ao exame clínico e observações ultra-sonográficas seja semelhante àquelas de éguas de maior porte.

Para tanto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar as modificações que ocorrem no ovário e no útero de Mini-pôneis prenhes e descrever o desenvolvimento normal do embrião e do feto nos estágios iniciais da gestação.

Material e Métodos

Animais Experimentais

Foram acompanhados os ciclos estrais de 13 éguas mini-pôneis não lactantes e cíclicas, sendo três delas na temporada de monta do ano de 2006 e o restante na temporada de monta do ano de 2007.

O presente estudo foi realizado no Reprolab (Laboratório de Reprodução Animal) localizado na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil (30 04' S, 51 07' W).

As éguas tinham de 3 a 16 anos (baseado nas características dentárias) com altura máxima de 90 cm e peso vivo médio de 117 kg. Foram cuidadosamente selecionadas de acordo com sua docilidade e submetidas a exame clínico geral, principalmente reprodutivo, incluindo exame da conformação perineal, exame retal, ultra-sonográfico e vaginal, sendo éguas cíclicas e aptas à reprodução. Todas pertencentes à raça pônei brasileira, originadas do cruzamento de animais das raças Shetland e Fallabela.

Todos os animais foram vermifugados quando chegaram ao local do experimento e a cada 45 dias. As éguas eram mantidas a campo e suplementadas com concentrado e feno de alfafa, duas vezes por dia, e água à vontade.

Delineamento

As éguas foram avaliadas diariamente através de palpação trans-retal e ultrasonográfica (Aloka 500 D) com transdutor linear de cinco MHz, por um operador de mãos pequenas e experiência em palpação.

Após o acompanhamento do primeiro ciclo reprodutivo de cada égua na estação de monta, foi administrado PGF2 α para promover a regressão do corpo lúteo (CL). O crescimento folicular de cada égua foi controlado diariamente. Quando o folículo dominante atingia diâmetro superior a 32 mm e o útero apresentava-se à ultrasonografia edemaciado as éguas eram inseminadas. A coleta de sêmen era feita no local com vagina artificial modelo Hannover. A inseminação era repetida após 48 horas, caso a ovulação não ocorresse. Foi utilizado sêmen de um reprodutor.

Seis dias após a ovulação (Dia 0) as éguas eram examinadas diariamente por ultrasonografia. Verificaram-se os ovários e suas estruturas e o útero e seu conteúdo. Os exames continuaram até o 60º dia de gestação nas éguas prenhes e até o 15º dia nas éguas que não emprenharam sendo estas éguas novamente cobertas.

Ultra-sonografia dos folículos

Foram medidos os dois maiores folículos por égua, independente do ovário (esquerdo ou direito), realizando-se a anotação na ficha de sua localização e a que ovário pertencia. Foram medidas a maior altura e a maior largura do antro folicular.

Ultra-sonografia do Corpo Lúteo (CL)

Foram medidos o diâmetro e a área do CL primário. Após o 30º dia se fizeram anotações de possíveis CL acessórios e de folículos hemorrágicos anovulatórios. Na medição do diâmetro do CL levou-se em consideração a maior altura e a maior largura. A área do CL foi medida utilizando o medidor de área do ultra-som.

Ultra-sonografia do útero

Foram determinados através de ultrasonografia transretal a contratilidade uterina, ecotextura endometrial e diâmetro do corno uterino. A contratilidade uterina foi classificada em escore um (flácido, durante o estro) a três (hipertônico, durante gestação). O diâmetro dos cornos uterinos foi verificado observando-se um corte

transversal na porção média de cada corno. A imagem selecionada apresentava-se livre de artefatos com o menor número possível de reflexões e refrações ao lado da imagem congelada. A altura e a largura foram medidas e a média calculada e utilizado como valor único para cada dia.

Diâmetro da Vesícula Embrionária (VE)

O maior diâmetro da vesícula foi medido. O ponto de medida foi posicionado sobre a reflexão especular. As reflexões especulares indicam que o campo do ultra-som encontra-se perpendicular à superfície da vesícula e que a área do corte é a máxima. Quando a vesícula se tornou irregular a medida utilizada foi à média da maior altura e maior largura.

Localização da Vesícula Embrionária (VE)

A localização da VE em relação ao útero foi verificada diariamente. Para tanto, cada corno uterino e o corpo do útero foram divididos em três segmentos proporcionais, (Figura 1). O posicionamento da vesícula foi atribuído a um dos nove segmentos uterinos: corno direito anterior (DA), corno direito médio (DM), corno direito posterior (DP), corno esquerdo anterior (EA), corno esquerdo médio (EM), corno esquerdo posterior (EP), corpo uterino anterior (CA), corpo uterino médio (CM), corpo uterino posterior (CP).

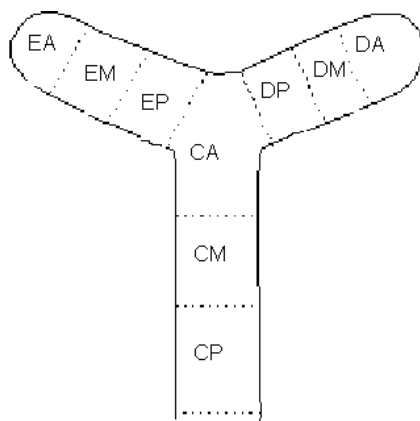


Figura 1. Representação gráfica dos nove segmentos uterinos - corno direito anterior (DA), corno direito médio (DM), corno direito posterior (DP), corno esquerdo anterior (EA), corno esquerdo médio (EM), corno esquerdo posterior (EP), corpo uterino anterior (CA), corpo uterino médio (CM), corpo uterino posterior (CP).

Fase de mobilidade e fixação da Vesícula Embrionária (VE)

Após a detecção da VE as éguas foram submetidas diariamente a um teste de mobilidade (exames a cada 10 minutos) durante 2 horas. Cada movimento realizado pela vesícula durante o teste de mobilidade foi anotado nas fichas de campo. A ausência de movimentos durante 2 horas foi definida como dia da fixação. A fixação foi confirmada nos dias subsequentes pela presença constante da vesícula no mesmo segmento uterino.

Detecção do embrião

Com o acompanhamento do desenvolvimento da VE foi observada a primeira detecção do embrião e acompanhado seu crescimento diário através das medidas crown-rump (ocipital até a primeira coccígea) e a largura (distância da parede dorsal à abdominal). Da mesma forma foram verificados o dia de aparecimento dos batimentos cardíacos e do cordão umbilical e a proporção entre o saco vitelino e o saco alantóico.

Análise estatística

Os dados de diâmetro de vesícula, crown-rump e comprimento do embrião foram submetidos a uma análise de regressão linear do programa Graph Pad in Statistics. Utilizou-se a análise de variância para verificação das variações das curvas de crescimento de vesículas embrionárias, local de fixação da vesícula embrionária, diâmetro dos cornos gravídicos e não gravídicos, diâmetro folicular e diâmetro e área de corpos lúteo. Para diferenciar as médias utilizou-se o teste T com nível de significância de 0,05%.

Resultados

Das 21 éguas Mini-pôneis trabalhadas 13 emprenharam (62%). A média e o erro padrão de dias após a ovulação de diversas características do conceito das éguas gestantes encontram-se expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Primeiro dia da detecção de diversas características do conceito de 13 éguas mini-pôneis examinadas diariamente entre o 10º e 60º dia pós-ovulação.

	Nº. de Mini- pôneis	Primeiro dia de detecção	
		Média ± EP	Variação
- Detecção da vesícula embrionária	13		
US		11,5 ± 0,4	10–13
Palpação retal		17,2 ± 0,4	14–19
- Período de mobilidade da vesícula	13		10-13
-Fixação	13	15,8 ± 0,4	14–19
- Detecção do embrião	13	20,5 ± 0,4	17–22
- Detecção do alantóide	13	26,5 ± 0,4	24–29
- Detecção do batimento cardíaco	13	26,3 ± 1,0	22–33
- Detecção do cordão umbilical	13	41,0 ± 0,5	39–46

A vesícula embrionária foi detectada pela primeira vez ao ultra-som aos 10, 11 e 13 dias em 4 (30,8%), 4 (30,8%) e 5 (38,5%) das éguas respectivamente. Entretanto, a primeira detecção de prenhez por palpação retal ocorreu aos 14, 15, 16, 17, 18 e 19 dias em 1 (7,7%), 1 (7,7%), 1 (7,7%), 3 (23,1%), 5 (38,5%) e 2 (15,4%) das éguas respectivamente (Figura 2). O diâmetro médio ± erro padrão das vesículas embrionárias no dia da primeira detecção por ultra-sonografia foi de 5,9 ± 0,6 mm (variação 2,5 a 10,5 mm) e por meio da palpação retal foi de 22,8 ± 1,1 mm (variação 15 a 27 mm).

Após a detecção da vesícula embrionária observou-se um período de intensa mobilidade da mesma que diminuiu gradativamente até o dia da fixação. A vesícula embrionária na fase de mobilidade percorreu desde a porção medial do corpo uterino até a porção anterior dos cornos esquerdo e direito (Figura 3) Até sua imobilização a vesícula foi detectada no corno esquerdo, corno direito e corpo do útero 17%, 58% e 25% das vezes respectivamente.

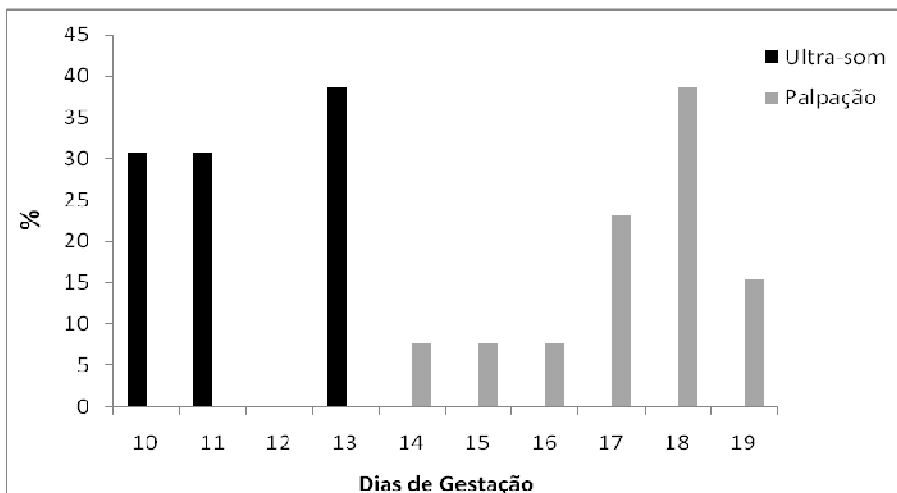


Figura 2. Percentual médio de éguas Mini-pôneis distribuído conforme a primeira detecção da vesícula embrionária por ultra-sonografia e por palpação retal.

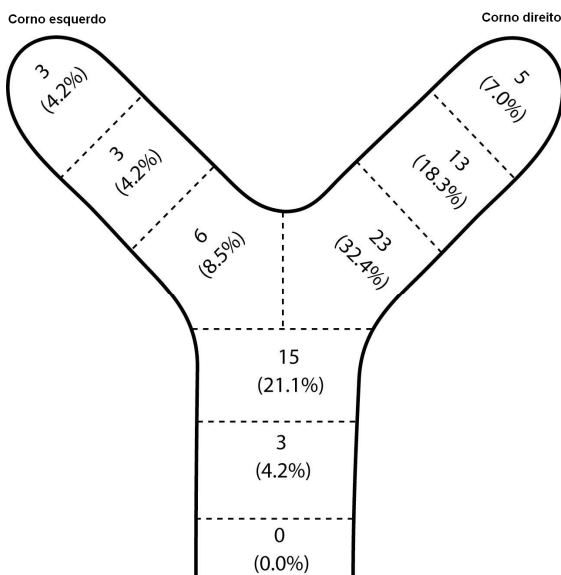


Figura 3. Localização da vesícula embrionária no útero antes da fixação em 13 éguas Mini-pôneis. Os valores são expressos pelo número de vezes (%) em que o embrião foi encontrado em cada segmento uterino após exames a cada 24 horas.

A fixação ocorreu em média no dia $15,8 \pm 0,4$ com variação entre o 14º dia e o 19º dia pós-ovulação (Figura 4). O diâmetro médio da vesícula no dia da fixação foi de $21,4 \pm 1,2$ mm variando entre 15 e 27,5 mm. As vesículas embrionárias fixaram-se em 8 Mini-pôneis no corno direito (61,5%), em 1 égua no corno esquerdo (7,7%) e em 4 no

corpo uterino (30,8%). Em todos os casos de fixação no corpo uterino esta ocorreu na região anterior, próximo à bifurcação. Com exceção de uma vesícula que se fixou no corno direito medial, a fixação das vesículas nos cornos ocorreu na região posterior. Não se observou relação entre o lado da ovulação e o lado da fixação ($P = 0,35$)

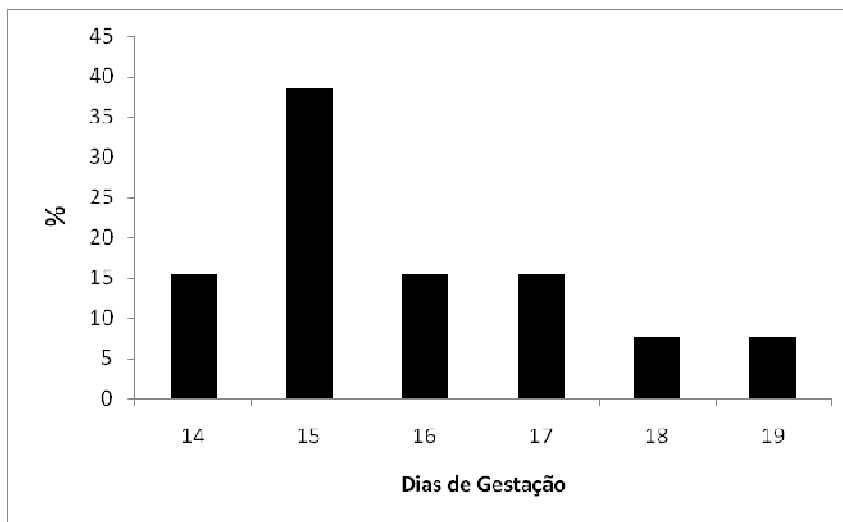


Figura 4. Percentual médio de éguas Mini-pôneis distribuído conforme o dia da fixação da vesícula embrionária.

Os diâmetros médios da vesícula embrionária durante os primeiros 60 dias de gestação estão expressos na Figura 5. O dia da fixação coincidiu com o dia anterior ao útero atingir seu maior tônus e a taxa de crescimento da vesícula embrionária foi de 3,1 mm/dia. Desde o dia 16 até o dia 25 o crescimento da vesícula foi de 0,37 mm/dia. A partir do dia 26 o crescimento diário da vesícula aumentou para 1,06 mm/dia. Entre os dias 6 a 60 de gestação o diâmetro dos cornos uterinos gravídicos variou entre 17,3 mm e 22,2 mm e os não gravídicos entre 18 mm e 21,9 mm, não se observando diferença entre os mesmos ($P < 0,05$). O diâmetro médio dos cornos uterinos dos Mini-pôneis está expresso na Figura 6.

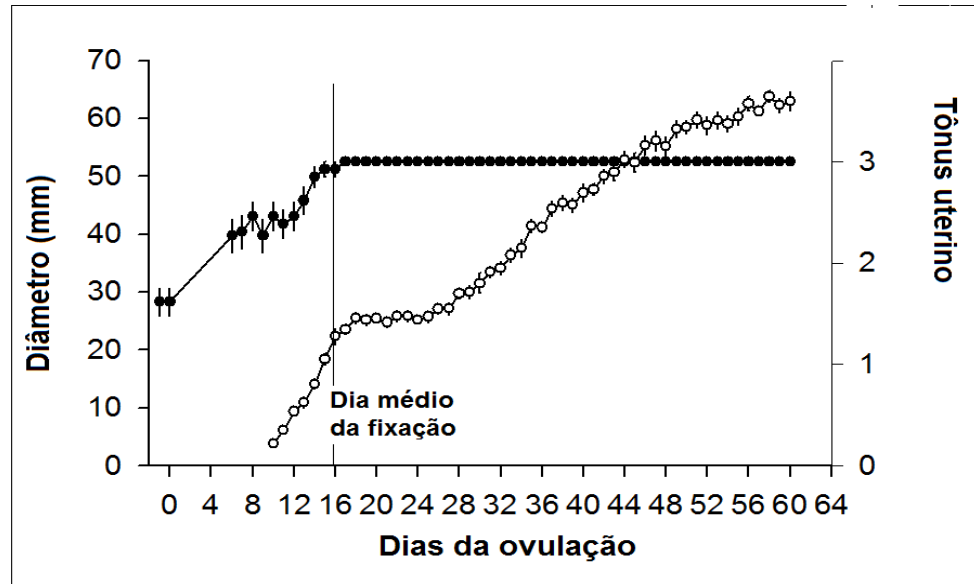


Figura 5. Relação temporal entre o diâmetro da vesícula embrionária, o tônus uterino (1 a 3) e o dia da fixação em 13 éguas Mini-pôneis.

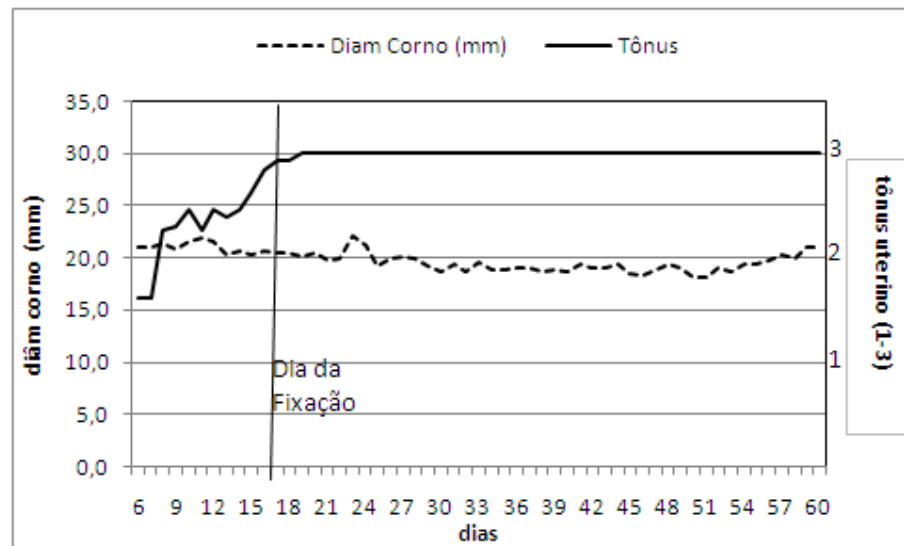


Figura 6. Relação temporal entre o diâmetro uterino, o tônus uterino (1 a 3) e o dia da fixação em 13 éguas Mini-pôneis.

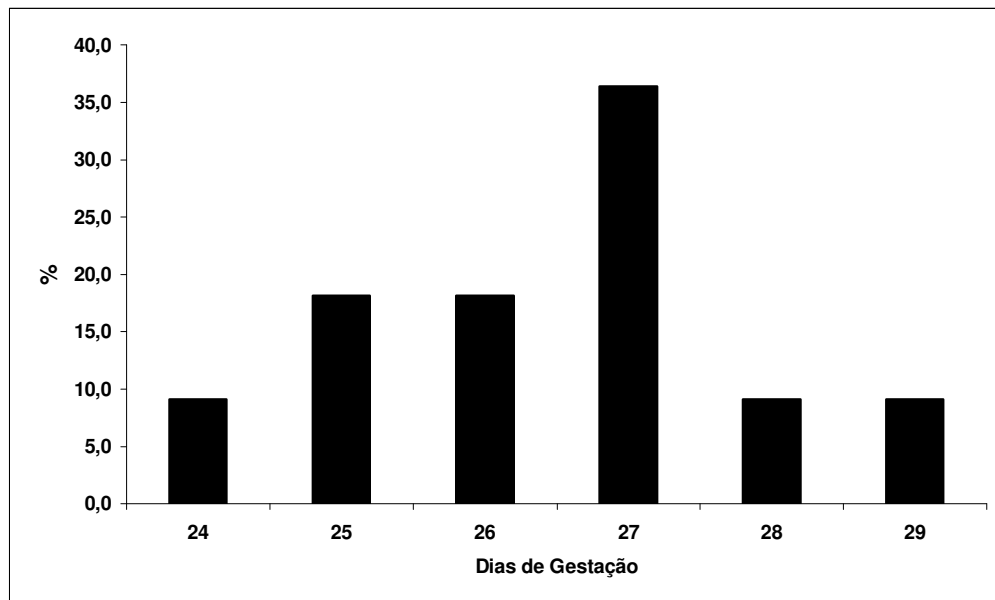


Figura 7. Percentual médio de éguas Mini-pôneis distribuído conforme a primeira detecção do alantóide.

O alantóide foi detectado em média no dia $26,5 \pm 0,4$, variando do dia 24 ao dia 29 (Figura 7). Nos dias 30, 33 e 35 o saco alantóide ocupava 28,3%, 53,8% e 72,7% respectivamente da vesícula embrionária (Figura 8).

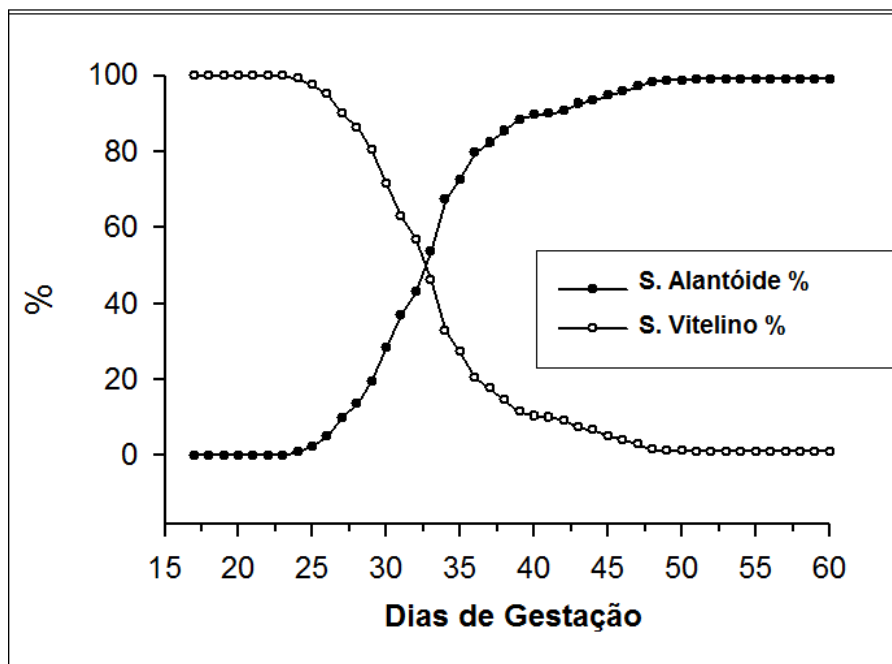


Figura 8. Percentual da vesícula embrionária constituída pelo saco vitelino e pelo saco alantóide durante os primeiros 60 dias de gestação.

O embrião foi identificado no pólo ventral da vesícula embrionária nos dias 17, 18, 19, 20, 21 e 22 em 1 (7,7%), 1 (7,7%), 1 (7,7%), 2 (15,4%), 4 (30,8%) e 4 (30,8%) Mini-Pôneis respectivamente. A média do comprimento do “crown-rump” e da largura do embrião/feto até o dia 60 encontra-se na Figura 8. O crescimento se deu de forma linear (para o “crown-rump”: $y = -11,002 + 0,7907 x$, sendo x dias de gestação e y o comprimento, $R^2 = 0,9571$ e para a largura: $y = -4,702 + 0,4844 x$, $R^2 = 0,9760$). Os batimentos cardíacos foram detectados pela primeira vez nos dias 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 31 e 33 em 2 (16,7%), 1 (8,3%), 2 (16,7%), 1 (8,3%), 1 (8,3%), 1 (8,3%), 2 (16,7%), 1 (8,3%) e 1 (8,3%), dos conceptos respectivamente.

O cordão umbilical foi visualizado pela primeira vez nos dias 39, 40, 41, 42 e 46 em 2 (15,4%), 5 (38,5%), 1 (7,7%), 4 (30,8%) e 1 (7,7%) das gestações respectivamente.

O Corpo Lúteo apresentou seu menor diâmetro nos dias 19 e 24 ($16,5 \pm 0,8$ mm e $16,3 \pm 0,6$ mm) pós-ovulação e seu maior diâmetro no dia 38 ($21,6 \pm 0,7$ mm) ($P < 0,01$). A área do corpo lúteo foi em média de $2,6 \pm 0,2$ mm² no 6° dia pós-ovulação e de $2,8 \pm 0,2$ mm² no 60° dia.. A idade gestacional, não influenciou na área do corpo lúteo primário ($P = 0,48$). Quatro Mini-pôneis formaram CL acessório nos dias 47, 48, 49 e 50 com área que variaram de $2,1 \pm 0,2$ mm² e $3,1 \pm 0,7$ mm² respectivamente. A área do CL entre o 6° e o 14° dia pós-ovulação das Mini-pôneis não se diferenciou ($P < 0,05$) entre as prenhes e as que não conceberam.

O maior folículo apresentou crescimento contínuo de 0,8 mm/dia entre o 6° dia e o 15° dia pós-ovulação. A partir do 15° dia o maior folículo manteve seu diâmetro estável até o 42° dia, quando iniciou um processo de diminuição até o 52° dia numa taxa negativa de 0,72 mm/dia. Do 52° dia em diante o maior folículo apresentou crescimento constante até o 60° dia na taxa de 0,8 mm/dia. O segundo maior folículo apresentou comportamento similar ao do maior folículo, mantendo-se em torno de 2 a 4 mm menor. Quando comparados os maiores folículos das éguas Mini-pôneis que gestaram com aquelas que falharam, entre os dias 6 e 15 pós-ovulação, verificou-se que até o 12° dia não se observaram diferenças entre os grupos. Entretanto, a partir do 13° dia o maior folículo das éguas não prenhes apresentou diâmetro significativamente maior que o das éguas prenhes ($P < 0,05$).

Discussão

A vesícula embrionária nas Mini-pôneis foi detectada por exame US no presente experimento em média no dia $11,5 \pm 0,4$ (variação de 10 a 13 dias). Em cavalos ($n = 19$) (Quarto de Milha fundamentalmente) e em pôneis ($n = 57$) Ginther (1995) observou a primeira detecção em média no dia $10,3 \pm 0,2$ (variação de 9 a 12 dias) e no dia $10,2 \pm 0,9$ dias (variação de 9 a 13 dias) respectivamente. Estes resultados demonstram que nas Mini-pôneis nunca se conseguiu realizar o primeiro diagnóstico no 9 dia pós-ovulação. No presente estudo 61,6% das Mini-pôneis gestantes foram detectadas até 11 dias pós-ovulação, resultado este inferior aos 98% observado por Ginther (1995) em éguas e pôneis. Quando se comparam os diâmetros das vesículas no 10º dia pós-ovulação observadas em cavalos ($3,9 \pm 0,3$) e pôneis ($3,9 \pm 0,2$) por Ginther (1995) com as Mini-Pôneis ($3,8 \pm 0,4$) verifica-se que os tamanhos nesta idade gestacional são praticamente idênticos. Entretanto, a variação de diâmetros na Mini-pônei, no 10º dia de gestação, foi muito grande, variando de 2,5 mm a 4 mm. Da mesma forma, o diâmetro da vesícula das Mini-pônei nos dias 11 (6,3 mm) e 13 (7,3 mm) pós-ovulação foram bem maiores dos observados em pôneis no dia 11 e 13 (4,6 e 5,0 mm) e éguas no dia 11 (4,8 mm). Isto provavelmente indica que o crescimento da vesícula embrionária da Mini-pônei apresenta nos primeiros dias de gestação uma curva de crescimento diferente daquela observada em pôneis e cavalos.

O dia do primeiro diagnóstico de gestação por palpação retal nas Mini-pônei foi semelhante ao relatado para éguas (GINTHER, 1983b) e jumentas (GASTAL et al, 1993).

Uma intensa mobilidade da vesícula embrionária foi observada nas Mini-pônei a partir do dia 10 pós-ovulação diminuindo gradativamente até o dia da fixação. Esta característica foi semelhante à relatada em cavalos e pôneis (BESSENT e GINTHER, 1988) e em jumentas (GASTAL et al, 1993). Ao contrário das observações de Bessent e Ginther, 1988 para pôneis e jumentas e os de Gastal et al (1993) para jumentas em que a vesícula embrionária percorreu todos os segmentos uterinos nas Mini-pônei não se verificou a presença embrionária no corpo uterino posterior. Por outro lado, observou-se que as vesículas das Mini-pôneis foram observadas preponderantemente no corno direito, da mesma forma com verificado por Gastal et al (1993) em jumentas, entretanto, na Mini-pônei o segundo sitio de maior visualização da vesícula embrionária foi o corpo uterino o que não coincide com o observado em jumentas que foi o corno esquerdo.

A fixação da vesícula embrionária na Mini-pônei ocorreu pouco antes do útero apresentar sua maior contratilidade e foi semelhante ao observado em jumentas por Gastal et al (1993), tanto no tamanho (21,4 mm) como no número de dias após a ovulação (15,8). O diâmetro uterino não influenciou no dia da fixação. Quando comparados com os dados relatados com pôneis (BESSENT e GINTHER, 1988), observa-se que as Mini-pôneis fixaram a vesícula embrionária um dia depois, porém, o diâmetro nas pôneis (18,3 mm) foi menor do que o observado nas Mini-pôneis.

Ao contrário do observado por Ginther (1995) em éguas e pôneis e por Gastal et al (1993) em jumentas, somente 61,5% das vesículas fixou-se na porção caudal de um dos cornos uterinos. Em 30, 8% dos casos a fixação ocorreu no corpo uterino e em 7,7% na região medial do corno. Este alto percentual de fixação no corpo uterino não coincide com a teoria da fixação das vesículas postulada por Ginther (1995) e deverá ser observada em maior número de gestações de Mini-pôneis.

O crescimento do diâmetro da vesícula embrionária foi linear a uma taxa de 3,1 mm/dia até o 16º dia, valor similar ao observado em éguas (GINTHER 1983a) e em jumentas (GASTAL et al 1993). Após este crescimento acelerado, verificou-se, da mesma forma que em éguas, uma parada entre os dias 17 e 24 no crescimento do diâmetro, devido provavelmente ao aumento do tônus uterino (PALMER e DRIANCOURT, 1980). Após o dia 25 o diâmetro da vesícula embrionária da égua Mini-pônei inicia uma nova fase de crescimento acelerado, entretanto, muito mais lento na Mini-pônei (1,06 mm/dia) quando comparada ao observado em éguas- 1,8 mm/dia (GINTHER, 1995) e ao de jumentas- 2 mm/dia- (GASTAL et al, 1993).

A detecção do embrião foi verificada em média no dia 20,5 na égua Mini-pônei. Estes valores são semelhantes aos observados em éguas (GINTHER, 1983a, 1986) e em jumentas (GASTAL et al, 1993). Entretanto, observou-se uma grande amplitude na detecção do embrião na Mini-pônei, variando desde os 17 aos 22 dias pós-ovulação. Os batimentos cardíacos observados na égua em média entre os dias 19 a 22 (GINTHER, 1995) e na jumenta entre os dias 20 a 25, foram observados mais tardiamente na égua Mini-pônei – 22 a 33 dias. Na égua e na jumenta o aparecimento dos batimentos cardíacos ocorre durante o platô de crescimento dos dias 17 a 24. O aparecimento dos batimentos, entre outros dados, serve para diferenciar a idade gestacional nos dias em que a vesícula embrionária para de aumentar (GINTHER, 1986). Porém, na maioria das

Mini-pôneis o aparecimento dos batimentos cardíacos só ocorre após a retomada do crescimento do diâmetro na vesícula embrionária, no dia 25.

No presente estudo o alantóide foi visualizado em média no dia $26,5 \pm 0,4$ como uma área não ecogênica bem definida, localizada sob o embrião. O aparecimento do saco alantóide ocorreu mais tardiamente que nas éguas (GINTHER, 1995) e nas jumentas (GASTAL et al, 1993) e coincidiu com o aparecimento dos batimentos cardíacos. Provavelmente as menores dimensões da vesícula embrionária e as dificuldades de espaço na palpação das Mini-pôneis tenham influenciado nestes resultados.

Nas éguas mini-pôneis o cordão umbilical foi detectado em média dia $41 \pm 0,5$, valores semelhantes aos observados em éguas (GINTHER 1995) e jumentas (GASTAL et al, 1993).

O crescimento folicular da Mini-pônei aparentemente difere daquele observado em éguas. Enquanto na égua de maior porte os folículos apresentam crescimento até o dia 40, quando há formação dos primeiros corpos lúteos secundários, com posterior diminuição do diâmetro folicular, no Mini-pônei observa-se que o crescimento folicular atinge um máximo no dia 40, diminui o diâmetro até o dia 48-50 inicia uma nova onda de crescimento folicular. Provavelmente esta segunda onda seja a responsável pelo início da formação dos corpos lúteos secundários. No presente trabalho somente 31% das Mini-pôneis formaram corpo lúteo acessório, todas após o dia 47 pós-ovulação.

Conclui-se que a égua Mini-pônei apresenta algumas diferenças importantes nos eventos relacionados à gestação que outros equídeos de maior porte. Entre eles a maior demora na detecção da vesícula embrionária, uma curva de crescimento da vesícula embrionária mais lenta após os 25 dias de gestação, um maior índice de fixação da vesícula embrionária no corpo uterino, uma detecção mais tardia dos batimentos cardíacos e da alantóide, uma segunda onda folicular após os 48 dias, provavelmente responsável pela formação dos futuros corpos lúteo acessórios.

4 CONCLUSÕES

Conclui-se que a égua Mini-pônei apresenta algumas diferenças importantes nos eventos relacionados à gestação comparando a outros eqüídeos de maior porte. Entre eles a maior demora na detecção da vesícula embrionária, uma curva de crescimento da vesícula embrionária mais lenta após os 25 dias de gestação, um maior índice de fixação da vesícula embrionária no corpo uterino, uma detecção mais tardia dos batimentos cardíacos e da alantóide, uma segunda onda folicular após os 48 dias, provavelmente responsável pela formação dos futuros corpos lúteo acessórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAHNEH, M. M. **et al.** Partial characterization of an equine conceptus prostaglandin inhibitory factor. **Equine Reproduction VII Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 56, p. 607-613, 2000.

ALLEN, W. E. **Fertilidade e obstetrícia equina**. 1994.

ALLEN, W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. **J. Reprod. And Fert.**, v. 121, p. 513-527, 2001.

ANDRADE, L. S. **Fisiologia e manejo da reprodução eqüina**. 1983, p. 388.

ARRUDA, R. P.; VISINTIN, J. A.; FLEURY, J. J.; GARCIA, A. R.; MADUREIRA, E. H.; CELEGHINI, E. C. C.; NEVES NETO, J. R. Existem relações entre o 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.**, São Paulo, v.38, n.5, p. 233-239, 2001.

BESSENT, C.; GINTHER, O. J. Comparison of early conceptus mobility between mares and jennies. **Theriogenology**, v. 29, n. 4, p. 913-920, 1988.

BURN, S. J.; LAYTON, G. E. Ultrasound: an aid for pregnancy detection in the mare. In: MORROW, D. A. **Current therapy in thriogenology 2**, 1986, p. 679-684.

CAMPBELL, M. E. Select aspects of miniature horse reproduction. **Theriogenology**, v. , p. 89-96, 1992.

DERIVAUX, J.; ECTORS, F. **Fisiopatología de la gestación y obstetricia veterinaria**. 1984, p. 275.

FLOOD, P. F. Fertilization, early development, and the establishment of the placenta. In: McKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine reproduction**. London, 1993, p. 473-485.

FRANKENY, R. L. **Miniature horses, a veterinary guide for owners and breeders**. North Pomfret, Vermont: **Trafalgar Square Publishing**, 2003.

GASTAL, E. L.; SANTOS, G. F.; HENRY, M.; PIEDADE, H. M. Embryonic and early foetal development in donkeys. **Equine Vet. J.**, v. 15, p. 10-13, 1993.

GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L.; KOT, K.; GINTHER, O. J. Factors related to the time of fixation of the conceptus in mares. **Theriogenology**, v. 46, n. 7, p. 1171-1180, 1996.

GASTAL, E. L.; NEVES, A. P.; MATTOS, R. C.; PETRUCCI, B. P. L.; GASTAL, M. O.; GINTHER, O. J. Miniature ponies 1: follicular, luteal, and endometrial dynamics during the oestrous cycle. **Reprod. Fertil. Dev.**, v. 20, p. 376-385, 2008.

GINTHER, O.J. Fixation and orientation of the early equine conceptus. **Theriogenology**, v. 19, p. 613-623, 1983a.

GINTHER, O. J. Mobility of the early equine conceptus. **Theriogenology**, v. 19, n. 4, p. 603-611, 1983b.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and reproductive events in mare**. Wisconsin: Equiservices, 1986, p. 378.

GINTHER, O. J. **Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects**. 2 ed, Wisconsin: Equiservices, 1992a, p. 642.

GINTHER, O. J. **Reproductive Biology of the Mare**. 2 ed., Wisconsin: Equiservices, 1992b, p. 439.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: Horses. Book 2**. Wisconsin: Equiservices, 1995, p. 394.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; KULICK, L. J.; KOT, K. Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular-wave development in cattle. **Theriogenology**, v. 50, p. 507-519, 1998.

GINTHER, O. J.; JACOB, J. C.; GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A. Development of one versus multiple ovulatory follicles and associated systemic hormone concentrations in mares. **Reprod. Dom. Anim.** 2008. (in press).

GRIFFIN, P. G.; GINTHER, O.J. Uterine contractile activity in mares during the estrus cycle and early pregnancy. **Theriogenology**, v. 34, n. 1, p. 47-56, 1990.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Fertilização e Clivagem. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7 ed. São Paulo: Manole, 2007, p. 111-126.

HEIDI, M. I.; WALTER, R. T. Doenças do trato reprodutivo. In: STEPHEN, M. R.; WARWICK, M. B. **Medicina interna eqüina**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000. cap. 15 p.655 –691.

HOLTAN, D. W.; HOUGHTON, E.; SILVER, M.; FOWDEN, A. L.; OUSEY, J.; POSSDALE, P. D. Plasma pregestagens in the mares, fetus and newborn foal. **J. Reproduction .Fertil. Suppl.**, v. 44, p. 517-528, 1991.

HUGHES, J. P.; STABENFELDT, G. H.; EVANS, J. W. Estrous cycle and ovulation in the mare. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 161, n. 11, p. 1367-1374, 1972.

HUNTER, R.H.F. Sperm transport and reservoirs in the pigs oviduct in relation to the time of ovulation. **J. Reprod. Fertil.**, v. 63, p. 109-117, 1981.

- JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7 ed. São Paulo: Manole, 2004, p. 141-155.
- JUDD, R. C. A practitioner's approach to reproductive problem in miniature mares. **Equine Pract.**, v. 16, p. 9-14, 1994.
- KÄHN, W. In: **Veterinary reproductive ultrasonography**, Mosby-Wolfe, London, 1994, p. 256.
- KATILA, T. Interactions of the uterus and sêmen. **Pferdeheikunde**, v. 13, n. 5, p. 508 – 511, 1997.
- MARCELLA, K. L. General care of miniature horses. **Equine Pract.**, v. 14, p. 25-28, 1992.
- McDONALD, L. E. **Reproduccion y endocrinologia veterinarias**. 2 ed. Interamerica.1981, p. 466.
- MOURA, J. C.; MERKT, H. **Ultra-sonografia na reprodução eqüina**. 2 ed. Salvador: Universitária Americana, 1996, p. 162.
- NEELY, D. P. Equine gestation. In: NEELY, D. P.; LIU, I. K.; HILLMAN, R. B. **Equine reproduction**. Montevideo: Hemisferio sur, 1983, p. 57-70.
- NEWCOMBE, J. R. Embryonic loss and abnormalities of early pregnancy. **Eq. Vet. Educ.**, v. 12, n. 2, p. 57-112, 2000.
- PACCAMONTI, D. L.; BUITEN, A. V.; PARLEVLIET, J. N.; COLENBRANDER, B. Reproductive parameters of miniature stallions. **Theriogenology**, v. 51, p. 1343-1349, 1999.
- PALMER, E.; DRIACOURT, M. A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v. 13, p. 202-216, 1980.
- PURDY, S. R. Ultrasound examination of the reproductive tract in female Miniature donkeys. **IVIS**, 2005. Disponível em: < <http://ivis.org> >. Acesso em: 25 jul. 2008.
- PYCOCK, J. F. The pregnant mare: diagnosis and management. In: SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; McKINNON, A. **Current Therapy in Equine Reproduction**. 5 ed, Missouri: Saunders, 2007, p. 335-342.
- ROBERTS, S.J. Gestation and pregnancy diagnosis in the mare. In: MORROW, D. A. **Current therapy in theriogenology 2**, 1986, p. 670-678.
- ROGERS, C. W.; GEE, E. K.; HANGOOR, E.; FIRTH, E. C. Preliminary survey of congenital and reproductive disorders in the New Zealand Miniature horse population. **Proc. of the NZ Soc. Of Anim. Prod.**, v. 66, p. 274-278, 2006.

ROSSDALE, P. D.; RICKETTS, S. W. **Medicina práctica en el haras**. Buenos Aires: Hemisferio sur, 1979, p. 464.

SQUIRES, E. L.; STEVENS W. B.; PICKETT, B. W.; NETT, T. M.. Role of pregnancy mare serum gonodotropin in luteal function for pregnancy mares. **Am. J. Vet.**, v. 40, p. 889-891, 1979.

SQUIRES, E. L.; MCKINNON, A. O.; SHIDELER, R. K. Use of ultrasonography in reproductive management of mares. **Theriogenology**, v. 29, n. 01, 1988. procurar página

STOUT, T. A.; ALLEN, W. R. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. **J. Reprod. And Fert.**, v. 121, p. 771-775, 2001.

THE GUIDE HORSE FOUNDATION. **The guide horse foundation**, 2005. Disponível em: < <http://www.guidehorse.org> >. Acesso em: 22 jun. 2008.

TIBARY, A. Reproductive patterns in donkeys and Miniature horses. **Proceedings of the North American Veterinary Conference, Large Animal**. v. 18, p. 231-233, 2004.

TROEDSSON, M. H. T., LIU, I.K.M., CRABO, B.G. Sperm transport and survival in the mare. **Theriogenology**. v. 49, p.905-915, 1998.

TROEDSSON, M; SAGE, A. M. Evaluación del feto y de la placenta en la yegua. In: BALL, B. A. **Recent advances in equine reproduction**. IVIS, 2001.