

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**DISSERTAÇÃO**

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DE VACAS COM ENCEFALOPATIA**  
**HEREDITÁRIA (DOENÇA DE ECOPORANGA)**

**RITA DE CASSIA GOMES PEREIRA**

**2011**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DE VACAS COM ENCEFALOPATIA  
HEREDITÁRIA (DOENÇA DE ECOPORANGA)**

**RITA DE CASSIA GOMES PEREIRA**

*Sob Orientação do Professor*

**Paulo Fernando de Vargas Peixoto**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2011

636.2089680427

P436a

T

Pereira, Rita de Cassia Gomes, 1985-

Aspectos reprodutivos de vacas com encefalopatia hereditária (doença de Ecopora) / Rita de Cassia Gomes Pereira - 2011.

77 f. : il.

Orientador: Paulo Fernando de Vargas Peixoto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 51-62.

1. Vaca - Reprodução - Teses. 2. Bovino - Sistema nervoso - Doenças - Teses. 3. Sistema nervoso - Anomalias e deformidades - Teses. 4. Influências pré-natais - Teses. I. Peixoto, Paulo Fernando de Vargas, 1961-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**RITA DE CASSIA GOMES PEREIRA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Patologia Animal.

**DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 03/02/2011.**

---

**Paulo Fernando de Vargas Peixoto, Dr. UFRRJ**  
**(Orientador)**

---

**Alessandra de Almeida Ramos, Dra. FIOCRUZ**

---

**Isabella de Moura Folhadella Pires, Dra. FIOCRUZ**

*Dedico esta obra à Deus e aos meus pais, que estiveram comigo em todos os momentos me dando forças para superar os obstáculos. Muito obrigada pela vitória que hoje alcançamos!*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus por sempre guiar meus passos.*

*Aos meus pais Marli Gomes Pereira e Amauri Moraes Pereira, obrigada pelo amor, apoio, carinho, cuidado e incentivo ao longo dos anos. Sem vocês jamais teria conseguido chegar até aqui!*

*Aos meus irmãos Luiz Henrique Gomes Pereira & Fábio Gomes Pereira por todo amor, amizade, atenção e incentivo.*

*Ao meu namorado e amigo Jhonnatha Paulo Oliveira pelo amor, atenção, carinho, incentivo, cuidado e preocupação.*

*A professora Vera Lucia Teixeira de Jesus e ao professor José Eugênio Três pela amizade, apoio, atenção e incentivos, que não param por aqui. Muito obrigada por tudo!*

*Ao professor Paulo Vargas Peixoto por todo apoio prestado na execução deste trabalho. Obrigada pela oportunidade e pelos ensinamentos que levarei comigo para sempre.*

*Ao professor Júlio Cesar Ferraz Jacob pela atenção, ajuda e apoio na execução deste trabalho e ao Prof. Marco Roberto Bourg Mello pela ajuda inicial deste trabalho.*

*Ao meu grande amigo, Orozimbo (Zico) pelo carinho, apoio, ajuda e por me fazer sentir da sua família. Obrigada por tudo!*

*Aos funcionários do Setor de Reprodução Animal, meus amigos, José Xavier, Romildo (Peixeira) e Reneu pelo apoio, ajuda e em especial pela torcida constante.*

*Ao Dr. Walter Leira e família pela ajuda, atenção e pela amizade.*

*Aos amigos que me afastei para conseguir cumprir esta etapa e aos que conquistei durante esse período, Caroline Spitz, Hélène Resende, Liana Balthazar e Saulo muito obrigada pela ajuda, compreensão, torcida e por estarem sempre presentes.*

*A CAPES/Reuni pelo auxílio financeiro concedido através da bolsa de estudos.*

*Ao Dr. Robert H. Douglas e à Dra. Beatriz Bringel, do BET Labs, pelas sugestões valiosas e a realização da dosagem hormonal.*

*A Dra. Maristela Pituco, do Instituto de Biológico de São Paulo, pelo auxílio nos exames.*

*“Essa dissertação representa uma grande vitória para mim, é o fim da metade do caminho, é o fim de algo que não terminará aqui. Foi resultado de muito trabalho e dias difíceis, que não começaram apenas dois anos atrás. Essa vitória não é só minha, é de todas as pessoas que citei e também daquelas que não citei. Sem todas essas pessoas isso não seria possível, não seria eu”.*

## RESUMO

PEREIRA, Rita de Cassia Gomes. **Aspectos reprodutivos de vacas com encefalopatia hereditária (Doença de Ecoporanga)**. 2011. 77p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

No intuito de maximizar a capacidade reprodutiva, promover superovulações e futuros cruzamentos consanguíneos, com o objetivo de verificar como se efetua a passagem/transmissão do(s) gen(es) defeituosos de animais afetados por uma enfermidade neurológica hereditária (DE) que ocorreu no Município de Ecoporanga, Nordeste do Estado do Espírito Santo, foram avaliados o comportamento sexual, a dinâmica folicular, os parâmetros hormonais e a citologia vaginal de três vacas afetadas pela doença e uma descendente direta. Essa condição, descrita inicialmente como Encefalopatia Atrófico-Hipoplásica Multissistêmica, ocorreu exclusivamente em fêmeas, todas descendentes diretas ou netas de um único touro que sofreu mutação. Essa primeira fase do estudo teve por finalidade dar base a estudos sobre a transmissão genética, com vistas a estabelecer futuramente, se a DE pode servir de modelo para investigações relativas à Síndrome de Rett, enfermidade neurológica hereditária de humanos que afeta quase que exclusivamente meninas nos primeiros anos de vida. Detectaram-se modificações no comportamento sexual, sobretudo no estro, bem como resposta reprodutiva satisfatória quanto à aplicação da prostaglandina. Há alguma possibilidade de animais afetados de forma mais branda pela DE cruzarem e, por conseqüência, passarem o gene mutante.

**Palavras-chave:** Doença Ecoporanga, comportamento sexual, dinâmica folicular.

## ABSTRACT

PEREIRA, Rita de Cassia Gomes. **Reproductive profile of cows with a bovine atrophic, hypoplastic encephalopathy hereditary multisystemic of the bovine.** Seropédica: UFRRJ, 2011. 77p. (Dissertation, Master Science in Medicine Veterinary). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Three cows were diagnosed with a hereditary neurological disease in the city of Ecoporanga, Northeast of Espírito Santo state, Brazil. The sexual behavior, follicular dynamics, hormonal and vaginal cytology profiles of these three cows and one direct descendant were evaluated with the aim of maximizing the reproductive capacity and promoting superovulation for future inbreeding in order to assess how the inheritance of defected gene(s) occurs. This disease, initially described as multisystemic atrophic-hypoplastic encephalopathy, was observed exclusively in females which were all direct descendants or granddaughters of a single bull in which a mutation occurred. This first phase of the study aimed to provide a basis for other studies on genetic inheritance and establish if this disease can serve as an experimental model of Rett Syndrome, a hereditary neurological disease in humans which affects almost exclusively girls in their first years of life. Sexual behavior changes were detected, especially in estrus, as well as satisfactory reproductive response to administration of prostaglandin. There is a possibility that animals mildly affected by this neurological disease can breed and, consequently, pass on the mutant gene.

**Key words:** hereditary encephalopathy, comportment, follicular dynamic.



## LISTA DE FIGURAS

		<b>Página</b>
<b>Figura 1</b>	Heredograma dos Animais 1 e 3	18
<b>Figura 2</b>	Heredograma dos Animais 2 e 4	19
<b>Figura 3</b>	Animal 1, dia 18/11/2009 (12:00), sem sinais de cio	31
<b>Figura 4</b>	Animal 1, dia 18/11/2009 (17:00), com sinais de cio, patas posteriores mais abertas.	31
<b>Figura 5</b>	Animal 1, dia 19/11/2009 (8:30), com as patas mais abertas, cauda elevada e lateralizada	32
<b>Figura 6</b>	Animal 1, dia 19/11/2009 (11:00), sem sinais de cio	32
<b>Figura 7</b>	Animal 3, patas posteriores mais abertas e cauda elevada e lateralizada, características de cio	33
<b>Figura 8</b>	Animal 3, final de cio com cauda erguida e com as patas posteriores normais	33
<b>Figura 9</b>	Dia 11/01/10, imagem ultrassonográfica do cisto luteínico, do Animal 1	34
<b>Figura10</b>	Visualização da cabeça fetal com 70 dias de gestação, do Animal 1	42
<b>Figura 11</b>	Animal 3 - Imagem ultrassonográfica do embrião com 59 dias de gestação	42
<b>Figura 12</b>	Foto do natimorto oriundo de uma parto distócico do Animal 2	43
<b>Figura 13</b>	Animal 3 – Imagem da vaca e da bezerra pós-parto	43
<b>Figura 14</b>	Animal 5 e o bezerro logo após o parto	44
<b>Figura 15</b>	Animal 6 e seu bezerro logo após o parto	44
<b>Figura 16</b>	Agenesia de anéis cervicais do Animal 1	45

## LISTA DE TABELAS

		<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b>	Relação dos animais que participaram dos períodos de observação	19
<b>Tabela 2</b>	Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 1	26
<b>Tabela 3</b>	Valores hormonais do Animal 1	26
<b>Tabela 4</b>	Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 2	27
<b>Tabela 5</b>	Valores hormonais do Animal 2	27
<b>Tabela 6</b>	Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 3	28
<b>Tabela 7</b>	Valores hormonais do Animal 3	28
<b>Tabela 8</b>	Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 4.	28
<b>Tabela 9</b>	Valores hormonais do Animal 4.	29
<b>Tabela 10</b>	Resultados sorológicos das doenças que causam transtornos reprodutivos e neurológicos em neonatos e bezerros, na primeira fase de observação	29
<b>Tabela 11</b>	Comportamento sexual no segundo período de observação	30
<b>Tabela 12</b>	Intervalo interovulatório, número de ondas de crescimento folicular, tamanhos dos folículos ovulatórios e dos corpos lúteos	34
<b>Tabela 13</b>	Tamanhos dos folículos dominantes e subordinados	35
<b>Tabela 14</b>	Características foliculares	36
<b>Tabela 15</b>	Dosagem de progesterona sanguínea	37
<b>Tabela 16</b>	Dosagem de estrógenos sanguíneos	37
<b>Tabela 17</b>	Dosagem de progesterona sanguínea, no segundo ciclo estral observado	38
<b>Tabela 18</b>	Dosagem de estrógenos sanguíneos, no segundo ciclo estral observado	38
<b>Tabela 19</b>	Resposta a prostaglandina e sinais de cobertura	39
<b>Tabela 20</b>	Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal, durante o segundo período de observação, com e sem administração de Prostaglandina	41
<b>Tabela 21</b>	Sinais de cobertura e diagnóstico de gestação	41
<b>Tabela 22</b>	Dados referentes as doenças que compõem o diagnóstico diferencial com DE	46

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>2</b>
2.1 Doença de Ecoporanga (DE)	2
2.2 Síndrome de Rett (SR)	2
2.2.1 Manifestações clínicas da SR	3
2.2.2 Aspectos genéticos da SR	4
2.2.3 Patogenia da SR	4
2.3 Principais Enfermidades que Causam Malformações no SNC de Bovinos	4
2.3.1 Doenças virais	4
2.3.1.1 Diarréia Viral Bovina	5
2.3.1.2 Língua Azul	6
2.3.1.3 Doença de Akabane	6
2.3.1.4 Febre do Vale Rift e a Doença Wesselsbron	7
2.3.2 Doenças nutricionais	7
2.3.2.1 Deficiência de Cobre (Swayback)	7
2.3.2.2 Deficiência de Vitamina A	7
2.3.2.3 Deficiência de Iodo	7
2.3.2.4 Deficiência de Manganês	8
2.3.3 Plantas Tóxicas	8
2.3.3.1 <i>Mimosa tenuiflora</i>	8
2.3.3.2 <i>Veratrum californicum</i>	8
2.3.3.3 <i>Aspidosperma pyricollum</i>	9
2.3.4 Agentes químicos	9
2.3.5 Agentes físicos e outras causas	9
2.3.6 Defeitos morfológicos congênitos de causas desconhecidas	9
2.4 Bases Fisiológicas da Reprodução em Vacas	10
2.4.1 Comportamento Sexual	10
2.4.2 Ciclo Estral	11
2.4.3 Aspectos neuroendócrinos e dinâmica folicular	11
2.4.3.1 Ondas Foliculares	13
2.4.3.2 Características foliculares em vacas zebuínas X taurinas	14
2.4.3.3 Dosagem hormonal	15
2.4.4 Sincronização de estro	15
2.4.5 Estrutura básica do epitélio vaginal	16
2.4.6 Citologia Vaginal	16
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>18</b>
3.1 Animais	18
3.2 Instalações e Manejo	20
3.2.1 Local de execução	20
3.2.2 Alimentação	20
3.3 Períodos de Observação	20
3.3.1 Primeiro Período de Observação	20
3.3.1.1 Exame ginecológico (palpação retal)	20
3.3.1.2 Dosagem hormonal	20
3.3.1.3 Diagnóstico diferencial para DE	21
3.3.1.4 Citologia vaginal	21
3.3.2 Segundo Período de Observação	22
3.3.2.1 Observações comportamentais do estro	22

3.3.2.2 Exame ginecológico e Ultrassonografia	22
3.3.2.3 Dosagem hormonal	22
3.3.2.4 Diagnóstico diferencial para DE	23
3.3.2.5 Citologia vaginal	23
3.3.2.6 Aplicação de Prostaglandina	23
3.4 Análise Qualitativa	24
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>25</b>
4.1 Primeiro Período de Observação (Abril/Maio de 2009)	25
4.1.1 Animal 1	25
4.1.1.1 Histórico	25
4.1.1.2 Palpação retal, citologia vaginal e dosagem hormonal	25
4.1.2 Animal 2	26
4.1.2.1 Histórico	26
4.1.2.2 Palpação retal, citologia vaginal e dosagem hormonal	26
4.1.3 Animal 3	27
4.1.3.1 Histórico	27
4.1.3.2 Palpação retal, citologia vaginal e dosagem hormonal	28
4.1.4 Animal 4	28
4.1.4.1 Histórico	28
4.1.5 Diagnóstico diferenciais com DE	29
4.2 Segundo Período de Observação (Novembro/2009 a Fevereiro/2010)	29
4.2.1 Comportamento sexual	29
4.2.2 Dinâmica folicular	33
4.2.3 Dosagem hormonal	36
4.2.3.1 No primeiro ciclo estral	36
4.2.3.2 No segundo ciclo estral	37
4.2.4 Resposta à prostaglandina e sinais de cobertura	38
4.2.5 Citologia vaginal	40
4.2.6 Diagnóstico de gestação	41
4.2.7 Parto	42
4.2.8 Óbito do Animal 1	44
4.3 Diagnóstico Diferencial	45
<b>5 DISCUSSÃO</b>	<b>47</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b>	<b>49</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>51</b>
<b>ANEXOS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

No município de Ecoporanga, Região Norte do Estado do Espírito Santo, foi identificada uma doença neurológica hereditária, inicialmente denominada Encefalopatia Atrófica/Hipoplástica Bovina ou Doença de Ecoporanga (DE), na qual fêmeas oriundas do cruzamento de um touro Nelore PO com vacas mestiças Nelore X Chianina apresentavam distúrbios caracterizados por alterações na postura, deambulação, sucção e mastigação, enquanto os machos, filhos do mesmo touro não manifestam sintomas clínicos (PEIXOTO; FRANÇA, 2002). Fêmeas com DE também apresentavam um desenvolvimento reprodutivo deficitário (MELO, 2006).

Essa enfermidade apresenta semelhanças epidemiológicas e clínico-patológicas com a Síndrome de Rett, uma doença que afeta humanos do sexo feminino nos primeiros meses de vida, e também cursa com anormalidades posturais e desvio da coluna vertebral.

O estudo do padrão reprodutivo associado à DE se justifica pela importância de maximizar as possibilidades de reproduzir, de forma consanguínea, animais enfermos com a finalidade de estudar a transmissão genética do distúrbio, e, eventualmente, estabelecer um modelo experimental para enfermidades correlatas em humanos. Portanto, caracterizar as particularidades morfológicas e fisiológicas da função reprodutiva através da dinâmica folicular, perfil hormonal e comportamento sexual de vacas com DE assume um papel relevante neste contexto.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Doença de Ecoporanga (DE)

A Doença de Ecoporanga (DE) é uma enfermidade neurológica hereditária de bovinos observada a partir de 2002, no Norte do Estado do Espírito Santo, a qual parece ter sido originada de uma mutação genética espontânea sofrida por um touro Nelore PO, que passou a imprimir em todas as suas filhas as características fenotípicas do distúrbio (PEIXOTO; FRANÇA, 2002). As manifestações relacionadas ao sistema nervoso central (SNC) eram variáveis em intensidade, de animal para animal. Alguns recém-nascidos demoravam até cinco dias para levantar-se (mediante auxílio), enquanto outros não conseguiam sugar o leite.

Essa enfermidade apresenta uma evolução crônica e tem uma alta mortalidade por causas secundárias, como inanição e acidentes (afogamento, quedas em valas, enforcamentos) ou pela total incapacidade de se alimentarem sozinhos (MELO, 2006). Nos períodos precoces da doença verifica-se dificuldade de mamar que evolui para dificuldade de apreensão e mastigação, com acúmulo de alimentos na cavidade oral e salivação excessiva. Outros sintomas observados foram incoordenação motora, instabilidade, perda de equilíbrio, andar em círculo, estação com os membros afastados, abertura lateral de um dos membros anteriores, sustentação do corpo em diagonal com curvatura da medula espinhal, desvio da cauda e dificuldade para se levantar. Adicionalmente os animais apresentam atrofia dos músculos quadríceps da coxa, semi-tendinoso, semi-membranoso, da musculatura da garupa e escápula, acompanhada por redução na amplitude das respostas dos reflexos dos boletos, de tropeço e dos tendões, verificados sob ação estimulatória, o que contribui para a dificuldade na deambulação e perpetuação da postura errática. Um agravamento do quadro clínico ocorre quando os animais são excitados ou movimentados. Geralmente, os sintomas persistem embora em alguns casos, os animais podem se adaptar parcialmente (MELO, 2006).

Os achados epidemiológicos indicaram que a enfermidade encontra-se diretamente ligada ao cromossomo X, com penetrância completa e expressividade variável. As novilhas enfermas têm histórico de crescimento, ganho de peso e desenvolvimento reprodutivo deficitários (MELO, 2006).

Macroscopicamente, verificou-se um “excesso de meninges” na porção dorsal e dorso-lateral dos hemisférios cerebrais dos animais afetados pela DE, após a remoção da abóboda craniana. Com a retirada das meninges, lesões caracterizadas por assimetria em áreas do córtex encefálico e cerebelar tornam-se facilmente visualizadas, estas dado o processo atrófico envolvendo essas estruturas (MELO, 2006).

Em relação ao telencéfalo, observou-se uma variância morfológica nas partes afetadas, ora com o hemisfério esquerdo maior que o direito e ora o superior em volume em relação a sua parte oposta. Nos lobos cerebrais frontal, parietal, temporal e occipital, uma marcada redução na altura dos giros (circunvoluções cerebrais) com conseqüente redução na profundidade de sulcos adjacentes foi evidenciada. Assimetrias atróficas bilaterais das circunvoluções cerebrais foram notadas, sobretudo, nos lobos frontais, e também no vermis (porção tuber e pirâmide), lobos e folhas cerebelares. No hemisfério cerebelar esquerdo essas lesões eram pronunciadas, embora variassem de intensidade de animal para animal (MELO, 2006). Ainda não foram encontradas descrições de doenças similares à DE em bovinos.

### 2.2 Síndrome de Rett (SR)

A Síndrome de Rett é uma encefalopatia infantil crônica e progressiva que afeta quase exclusivamente crianças do sexo feminino. Atualmente, é uma enfermidade neurológica

considerada como desordem do desenvolvimento precoce, e guarda semelhanças com a doença de Ecoporanga. Nos casos clássicos, as manifestações clínicas são observadas por volta dos seis meses de idade com comprometimento motor progressivo, embora outros sintomas possam regredir espontaneamente. As meninas nascidas de gestações normais apresentam um desenvolvimento padrão nos primeiros seis a doze meses de idade, antes que se verifique um atraso e dissociação no desenvolvimento psicomotor acompanhado por alterações do tônus muscular, comportamentais, posturais e nos padrões de locomoção. A habilidade de engatinhar e deambular não é adquirida por quase todas as meninas com síndrome de Rett. As que conseguem engatinhar, o fazem com posturas anômalas, e nas que adquirem marcha, verifica-se apraxia e ataxia com grande alargamento da base de sustentação. Adicionalmente, nesta fase da moléstia, observa-se uma desaceleração do crescimento da circunferência encefálica (microcefalia adquirida, com áreas do córtex frontal e núcleo caudato mais afetados), aparecimento de uma óbvia deficiência mental, perda da capacidade de comunicação, realização de movimentos estereotipados com as mãos, posicionamento em “S” da coluna vertebral (escoliose do tipo neurogênica), retardo do crescimento, disfunções respiratórias e vasomotoras, e ataques convulsivos. Alguns destes sintomas, como os ataques epileptiformes, regrida espontaneamente ao atingir a idade adulta. As manifestações de ordem motora, porém, persistem e, em um percentual expressivo de enfermos, a capacidade deambulatoria é completamente perdida (MOOG et al., 2003; CASTRO et al., 2004)

A SR foi identificada em 1966 por Andréas Rett; a descrição original enfatiza a deterioração neuromotora, a predominância em mulheres, sinais clínicos particulares, bem como a hiperamonemia, tendo sido denominada “Atrofia Cerebral Associada à Hiperamonemia”. Somente após o trabalho de Hagberg et al. (1983), a enfermidade tornou-se mais conhecida, e neste foi proposto o epônimo síndrome de Rett, visto que a hiperamonemia não é um achado usual. A prevalência estimada de SR varia entre 1:10.000 e 1:15.000 em meninas (HAGBERG et al., 1983). O diagnóstico clínico baseia-se nos critérios propostos pelo *The Rett Syndrome Diagnostic Criteria Work Group* (1988) ou pelo que foram definidos pelo DSM-IV-R (MERCADANTE et al., 2006).

## 2.2.1 Manifestações clínicas da SR

A SR pode ser dividida em quatro etapas. A primeira, é denominada *estagnação precoce*, começa entre os seis e os 18 meses e caracteriza-se pela parada do desenvolvimento, desaceleração do crescimento do perímetro cefálico e tendência ao isolamento social. Esse estágio dura alguns meses. A segunda etapa, denominada *rapidamente destrutiva*, começa entre o primeiro e terceiro ano de vida e dura de semanas a meses. Nessa fase, uma clara regressão psicomotora é observada, da mesma forma que choro imotivado, irritabilidade, perda da fala adquirida, comportamento autista e movimentos estereotipados das mãos, com a perda de sua função praxica. Distúrbios respiratórios (apnéia durante período de vigília e episódios de hiperventilação, entre outras) e epilepsia podem estar presentes. A etapa subsequente, denominada *pseudo-estacionária*, ocorre entre os dois e dez anos de idade e caracteriza-se por certa melhora em alguns dos sinais e sintomas, particularmente no que diz respeito ao contato social. Do ponto de vista motor, ataxia e apraxia, espasticidade, escoliose e bruxismo estão presentes. Episódios de perda de fôlego, aerofagia, expulsão forçada de ar e saliva ocorrem muito frequentemente. A quarta etapa é conhecida como a da *deterioração motora tardia*, começa ao redor dos dez anos e se caracteriza por uma lenta progressão de prejuízos motores, pela ocorrência de escoliose e desvio cognitivo grave. Coreo-atetose, distonia e distúrbios dos neurônios motores periféricos podem ocorrer. Meninas capazes de caminhar independentemente apresentarão progressiva dificuldade de deambulação e,

geralmente, necessitarão de uma cadeira de rodas (HAGBERG; WITT-ENGERSTROM, 1986).

A ocorrência de epilepsia é freqüente e pode se apresentar sob vários tipos de convulsões, que podem ser bem resistentes à medicação. O eletroencefalograma apresenta registros normais nas fases iniciais da enfermidade, tornando-se mais lentificado à medida que a condição progride. Ondas agudas podem aparecer nas regiões centro-parietais. Na terceira fase, descargas em espícula-onda podem ocorrer, sendo mais facilmente observadas durante o sono. Na última etapa, o eletroencefalograma pode evidenciar uma melhora, caracterizada por uma redução dos elementos epileptiformes. A sobrevivência na SR pode ser reduzida e a morte ocorre, em geral, como resultado de causas infecciosas e complicações respiratórias, possivelmente relacionadas à escoliose grave ou durante o sono (morte súbita) (MERCADANTE et al., 2006).

### **2.2.2 Aspectos genéticos da SR**

Geralmente os casos de SR são isolados e esporádicos, com rara ocorrência na família. Inicialmente, o transtorno era considerado uma doença dominante ligada ao cromossomo X, letal para os homens, sendo exclusivamente observada entre mulheres. Recentemente, alguns casos entre homens foram relatados, ainda que com sinais atípicos e parciais da síndrome (SCHWARTZMAN, 2003).

Schwartzman et al. (1998) descreveram um caso de um menino com dois anos e nove meses que tinha um fenótipo típico de SR e um cariótipo XXY. Essa associação de SR com a síndrome Klinefelter tem uma ocorrência de uma a cada 10/15 milhões de nascimentos.

Amir et al. (1999) descreveram mutações do gene MECP2, o qual codifica a proteína MECP2 que opera como um repressor global da transcrição, em pacientes com SR. Essa proteína atua em diferentes sites e as mutações já identificadas poderiam ser responsáveis pelos vários padrões fenotípicos que têm sido observados (MERCADANTE et al., 2006). Cerca de 75,0% a 80,0% dos pacientes com a forma clássica de SR apresentam mutações nesse gene (SCHWARTZMAN, 2003).

Atualmente, sabe-se que os homens podem ser afetados por essa condição em algumas circunstâncias: meninos que possuem comorbidade com a síndrome de Klinefelter (SCHWARTZMAN et al., 2001), meninos que apresentam uma grave encefalopatia e em irmãos de meninas afetadas que nasceram com prejuízos neurológicos graves, nesses casos tendo geralmente morte precoce (SCHWARTZMAN, 2003).

### **2.2.3 Patogenia da SR**

Apesar da identificação do gene envolvido na SR ter sido realizada, os mecanismos de desenvolvimento da doença ainda são desconhecidos. Reduções significativas no lobo frontal, no núcleo caudato e no mesencéfalo têm sido descritas e há evidências de que pode haver uma deficiência pós-natal no desenvolvimento sináptico (BELICHENKO et al., 1997).

## **2.3 Principais Enfermidades que Causam Malformações no SNC de Bovinos**

### **2.3.1 Doenças virais**

Dentre os agentes virais responsáveis por mal formações encefálicas em ruminantes, estão os vírus da Febre do Vale Rift e a Doença de Wesselsbron, diarreia viral bovina (BVD), da língua azul e a Doença de Akabane (de LAHUNTA, 1977).



### 2.3.1.1 Diarréia Viral Bovina (BVD)

Diversas anomalias congênitas do SNC de bezerros recém-nascidos, filhos de fêmeas infectadas por cepas não-citopáticas do vírus da BVD, podem ser observadas. Fetos, nos primeiros 100 dias de vida, são susceptíveis a infecção letal, com aborto ou mumificação. Os efeitos teratogênicos ocorrem entre 100 a 170 dias de gestação e são determinados pela ação vírica.

A alteração morfológica mais freqüente é *hipoplasia cerebelar*; desenvolvem-se necrose no córtex com extensiva inflamação não-suprativa, hemorragias, edema do fólio e substância branca cerebelar. Animais severamente afetados pelas lesões cerebelares são incapazes de se levantar; clinicamente estão alerta e se alimentam bem, escoiceiam vigorosamente, mas são incapazes de coordenar seus movimentos para se manterem em estação. Também apresentam movimentos incoordenados com a cabeça, ocasionalmente permanecendo em opistótono. Animais em estação permanecem com os membros afastados, oscilam em todas as direções e, quando deambulam, evidenciam hipermetria e dismetria marcadas. Tremores da cabeça e nistagmo são incomuns.

Os bezerros neonatos apresentam moderada a acentuada hipomielinização (DONE et al., 1980), que manifesta-se clinicamente por tremores em todo corpo, associados a qualquer atividade muscular voluntária. Algumas vezes, os animais não podem levantar-se, outros marcham com graus variáveis de ataxia, por vezes, camuflada pelos tremores musculares. Em alguns casos, os animais afetados também podem apresentar lesões erosivas no trato digestivo superior e no abomaso, semelhantes as observadas em animais adultos Braquignatismo mandibular pode estar presente. Geralmente, lesões oculares como displasia e atrofia da retina, catarata, neurite óptica, microftalmia e membrana pupilar persistente acompanham os defeitos cerebelares. Alterações regressivas do timo e de outros tecidos linfóides estão associadas ao efeito imunossupressor do vírus (JUBB; HUXTABLE, 1993). Porencefalia, hidranencefalia, microcefalia, hidrocefalia, septo pelúcido fenestrado e desmielinização são vistos com menor freqüência (JUBB; HUXTABLE, 1993), e podem acompanhar a hipoplasia cerebelar (WASHBURN; STREETER, 2004). No exame post-mortem, o cerebelo pode estar menor do que o normal. O grau de hipoplasia cerebelar pode ser quantificada por pesagem em todo o cérebro (com o cerebelo em anexo), removendo o cerebelo e pesando-o separadamente, e então expressar o peso do cerebelo em percentagem do peso total do cérebro, normalmente, o cerebelo representa 9,7% a 11,8% do peso total do cérebro (SCOTT et al., 1973).

Sorologia pré-colostral ou isolamento do vírus pode ser de grande auxílio no diagnóstico; estudos evidenciaram que títulos sorológicos pré-colostrais para BVD podem variar de 1:32 a 1:256 em bezerros com lesões cerebrais ou cerebelares, e o vírus pode ser isolado de tecidos desses animais (BADMAN et al., 1981). Técnicas de imuno-histoquímica também podem ser usadas para identificar antígeno viral BVD nos tecidos dos bezerros afetados (TRAUTWEIN, 1986). É importante reconhecer que devido ao tempo de infecção, durante a gestação, necessário para produzir defeitos em relação aos eventos do desenvolvimento fetal, os bezerros mais defeituosos são negativos por isolamento viral e imunoistoquímica (WASHBURN; STREETER, 2004)

A exposição do feto bovino ao vírus da BVD, no período de 90-170 dias de gestação, resulta em hipoplasia cerebelar (DONE et al., 1980). A hipoplasia cerebelar foi o defeito mais comum relatado em 27 bezerros provenientes de rebanhos com uma longo histórico de BVDV, bem como em seis bezerros oriundos de mães vacinadas, entre os dias 90 e 118 de gestação, com uma vacina viva de BVD (HEWICKER-TRAUTWEIN et al., 1995). Na maioria destes casos, hidranencefalia, hidrocefalia, microcefalia, ou porencefalia acompanhava a hipoplasia cerebelar, com sinais clínicos característicos de disfunção cerebelar.

Resumidamente, o diagnóstico de hipoplasia cerebelar associado à BVD é baseado em sinais clínicos, na identificação de anticorpos virais em amostras de soro, no isolamento do vírus, ou na identificação do antígeno viral nos tecidos dos bezerros afetados. Especificamente, antígeno viral BVD pode ser detectado no baço, rins e gânglios linfáticos de alguns fetos abortados (OHMANN, 1984).

### **2.3.1.2 Língua Azul**

A Língua Azul (LA) é uma doença infecciosa, não contagiosa, que acomete ruminantes, sendo de notificação obrigatória, segundo a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2006). Em geral, a infecção ocorre de forma não aparente, com exceção dos ovinos, que podem manifestar sinais evidentes, como diminuição na produção e mortalidade elevada (LOBATO, 1999).

Problemas reprodutivos podem ocorrer tanto em ovinos como em bovinos, e estão relacionados a abortamentos e quadros de alterações teratogênicas, principalmente relacionados a formação cerebral do feto (MACLACHLAN et al., 1985). Em ovelhas, o aborto pode ocorrer em qualquer fase de gestação. A infecção congênita ocorre por via transplacentária e o período da gestação em que a infecção se dá é que determinará a evolução das lesões. Fetos infectados aos 40 a 80 dias de gestação, geralmente apresentam malformações como consequência (ALFIERI et al., 2007; OSBURN, 2007). Quando a infecção ocorre durante a organogênese, além de mal formações congênitas, podem ocorrer mortalidade fetal, com abortamento ou reabsorção (OSBURN, 1985).

Fetos infectados pelo vírus da língua azul são suscetíveis ao desenvolvimento de hidranencefalia; os sorotipos 11 e 17 mais comumente isolados em bezerros e cordeiros. O feto bovino é particularmente suscetível por aproximadamente 125 dias de gestação. Outras alterações podem acompanhar a hidranencefalia, tais como artrogripose, prognatia, bragnatismo e tecido gengival excessivo. Alguns bezerros sobreviventes à infecção uterina podem permanecer persistentemente infectados (LUEDKE et al., 1977).

Hidranencefalia (CORDY; SCHULTZ, 1961) e porencefalia (SUMMERS et al., 1995), bem como defeitos cerebelares (YOUNG; CORDY, 1964), displasia da retina, encefalopatia necrotizante e meningoencefalite (depende do período da infecção) com incoordenação e dificuldade de caminhar, podem ocorrer em bezerros nascidos de vacas que receberam vacinas atenuadas ou contraíram a Língua Azul durante a prenhez (BARNARD; PIENAAR, 1976).

### **2.3.1.3 Doença de Akabane**

Os hospedeiros do vírus da doença de Akabane incluem ovinos, bovinos e caprinos. O vírus é transmitido para a vaca através de diferentes espécies de Culicoides. Bezerros e cordeiros infectados experimentalmente desenvolveram hidranencefalia quando expostos ao vírus de Akabane nos dias 62 e 96 e nos dias 30-36 de gestação, respectivamente (KUROGI et al., 1977).

Fetos que não morrem de infecção no útero geralmente nascem com artrogripose. O vírus de Akabane pode causar hidranencefalia, além de outros defeitos, como artrogripose, no desenvolvimento do feto de caprinos após a infecção da fêmea (INABA et al., 1975). Esse vírus é um dos mais potentes agentes teratogênicos de animais domésticos, porém a infecção em adultos é assintomática. Após infecção materna em estágio crítico da gestação, este agente produz anormalidades predominantemente neurais em bezerros, embora o seja mais conhecido por causar surtos de artrogripose, como resultado da desnervação e falha no desenvolvimento muscular devidas à perda dos corpos celulares dos neurônios das colunas

ventrais das intumescências da medula espinhal; hidranencefalia e microcefalia em bezerros, bem como hipoplasia cerebelar e deformidades espinhais também podem ser observadas (JUBB; HUXTABLE, 1993).

#### **2.3.1.4 Febre do Vale Rift e a Doença de Wesselsbron**

A Febre do Vale Rift e a Doença de Wesselsbron são doenças víricas transmitidas por artrópodes e tendem a ocorrer juntas, na África. Ambas são primariamente hepatotrópicas, porém algumas cepas podem provocar doença neurológica congênita em bovinos, caracterizada por aplasia segmentar da medula espinhal, do cerebelo e anencefalia; com menor frequência essas enfermidades cursam com braquignatia, hidranencefalia ou porencefalia, hipoplasia cerebelar e do cordão espinhal e artrogripose (COETZER; BARNARD, 1977).

Alterações neurológicas congênicas observadas em ovinos infectados pelos vírus da Febre do Vale Rift e a Doença de Wesselsbron também correspondem às descritas para os bovinos (COETZER; BARNARD, 1977).

### **2.3.2 Doenças Nutricionais**

#### **2.3.2.1 Deficiência de Cobre (Swayback)**

Swayback (ataxia enzoótica) é uma condição em ovinos e caprinos recém-nascidos causada por deficiência dietética de cobre durante a gestação. O cobre é necessário para a formação de mielina normal; os sinais clínicos incluem depressão, tremores, movimentos verticais de cabeça persistentes, ataxia, dificuldade de levantar e morte em poucos dias (SMITH; SHERMAN, 1994). As formas mais marcadas dessa deficiência em ovinos, podem cursar, eventualmente, com outros defeitos congênicos, tais como hidranencefalia ou porencefalia (JUBB; HUXTABLE, 1993). O diagnóstico é baseado em sinais clínicos e lesões histopatológicas características da degeneração da mielina.

A deficiência de cobre em bezerros pode determinar severa hipomielinogênese e cursar com ataxia progressiva, cegueira, andar em círculos, paralisia seguida de decúbito, coma terminal e morte. Em estágios precoces (mais ou menos trinta dias de vida) podem ocorrer tremores musculares, opistótono, convulsão e nistagmo. (JONES; HUNT, 1997; RADOSTITS et al., 2000; SCHILD, 2000).

#### **2.3.2.2 Deficiência de Vitamina A**

A deficiência de vitamina A em bezerros, observada em circunstâncias naturais, pode causar anormalidades no modelamento de ossos membranosos (em especial no osso temporal), que redundam em obstrução do fluxo (MAYHEW, 1989) ou queda na reabsorção do líquido céfalo-raquidiano, em consequência a lesões nos vilos aracnóides (SUMMERS, 1995). Pode haver aumento da pressão intra-craniana, hidrocefalia e cegueira ao nascimento (JUBB; HUXTABLE, 1993).

#### **2.3.2.3 Deficiência de Iodo**

Estudos em ovelhas prenhes demonstram que a marcada deficiência de iodo prejudica a maturação dos neurônios do cérebro do feto, o que resulta em mumificação fetal, a natimortos e nascimento de animais sem pêlos (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

#### 2.3.2.4 Deficiência de Manganês

O manganês é um micronutriente essencial e sua deficiência causa diminuição do crescimento, anormalidades esqueléticas como condrodistrofias congênicas (JUBB; HUXTABLE, 1993), depressão da função reprodutiva e ataxia congênita, em todas as espécies (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). A síndrome atáxica (JUBB; HUXTABLE, 1993) é secundária a defeitos esqueléticos que causam modificações na função vestibular, relacionadas a defeitos estruturais no ouvido interno (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

#### 2.3.3 Plantas tóxicas

##### 2.3.3.1 *Mimosa tenuiflora*

No semi-árido do Nordeste Brasileiro são observadas com frequência vários tipos de malformações congênicas, incluindo anomalias ósseas craniofaciais, malformações oculares e artrogripose em ovinos, caprinos (MEDEIROS et al., 2005; Nóbrega Júnior et al., 2005) e bovinos (RIET-CORREA et al., 2006) criados extensivamente. Foi demonstrado experimentalmente que cabras prenhes que ingeriram *Mimosa tenuiflora* (jurema preta) durante todo o período de gestação pariram cabritos com malformações semelhantes às observadas em casos espontâneos (PIMENTEL et al., 2007). Também verificou-se que fetos de ratas que receberam ração contendo 10% de sementes de *M. tenuiflora* durante a gestação apresentaram diferentes anomalias congênicas, o que demonstra seu potencial teratogênico e sua possível relação com casos de malformações em ruminantes no Nordeste do Brasil (MEDEIROS et al., 2008). Em outro experimento, dois grupos de cabras que receberam *M. tenuiflora* de 0- 30 e de 30-60 dias de gestação, respectivamente, apresentaram morte e reabsorção embrionária (DANTAS, 2009).

Dantas et al. (2010) observaram 14 bovinos com anomalias congênicas, a malformação mais frequente, causada pela *M. tenuiflora* foi artrogripose (6 casos) dos membros torácicos e/ou pélvicos (Fig.6A), seguida de atresia do cólon (2 casos). Nesta espécie, além das malformações encontradas em animais necropsiados, também foram observadas malformações oculares, tais como, cegueira, dermoide ocular, microftalmia e opacidade de córnea.

As malformações foram a segunda causa mais freqüente de mortalidade perinatal (NÓBREGA JR et al., 2005). A alta freqüência de malformações, em diferentes tipos de criação e em diferentes raças, sugere que essas malformações são de origem tóxica. Pimentel & Riet-Correa (2004, dados não-publicados) reproduziram malformações do osso palatino, entre outras, em cabritos filhos de cabras alimentadas durante toda a gestação com *Mimosa tenuiflora* (“jurema-preta”), demonstrando o efeito teratogênico dessa planta que é, provavelmente, a causa da maioria das malformações encontradas por Nóbrega Jr. et al. (2005). Para diminuir a freqüência dessas malformações é necessário evitar a ingestão de jurema-preta por ovelhas prenhes, principalmente nos primeiros 60 dias de gestação, período durante o qual o feto é mais susceptível aos agentes teratogênicos.

##### 2.3.3.2 *Veratrum californicum*

Administração experimental da planta tóxica *Veratrum californicum* as vacas prenhes, por volta do 14° dia de gestação, produz ciclopia e outras anormalidades faciais em bezerros (JUBB; HUXTABLE, 1993). Ao ser absorvido, o alcalóide esteroidal teratogênico atravessa a barreira placentária e inibe a interação indutiva entre o mesoderma embrionário e endoderma do intestino primitivo com o prosencéfalo ventral, restringindo o desenvolvimento dos

aspectos ventrais do prosencéfalo, antes do desenvolvimento das vesículas ópticas (JUBB; HUXTABLE, 1993).

Hipotricose congênita acompanhada por aplasia/hipoplasia hipofisária, bem como por anormalidades esqueléticas são descritas em bezerros nascidos de vacas prenhes alimentadas por *Veratrum album* (JUBB; HUXTABLE, 1993).

### **2.3.3.3 *Aspidosperma pyricollum***

Os surtos de abortos são freqüentes no semi-árido da Paraíba e numerosas plantas são incriminadas como causa de abortos e malformações em ovinos e caprinos. Trabalhos recentes demonstraram o efeito abortivo de *Aspidosperma pyrifolium* (“pereiro”) em caprinos. A ingestão desta planta é uma causa importante de abortos, principalmente em épocas de seca, quando após uma chuva o pereiro rebrota rapidamente e é consumido pelos ovinos e caprinos (MEDEIROS et al., 2004).

Para diminuir ou evitar as alterações reprodutivas causadas pelo consumo de pereiro é necessário evitar que cabras prenhes permaneçam em áreas onde há pereiro, principalmente nas épocas de seca com pouca disponibilidade de forragem. No caso de não ser possível que a suplementação alimentar das cabras prenhes evite, pelo menos parcialmente, consumo de pereiro (RIET-CORREA et al., 2003).

### **2.3.4 Agentes químicos**

Não encontramos citações sobre agentes químicos capazes de produzir alterações encefálicas semelhantes na espécie bovina.

Porcas expostas, durante a gestação, ao organofosforado triclorfon, podem desenvolver anomalias no sistema nervoso central, principalmente hipoplasia cerebelar (RADOSTITS et al., 2000).

O parbendazole também pode causar defeitos neurais e extra- neurais, em fetos de ovelhas, quando estes são expostos durante a prenhez (RADOSTITS et al., 2000).

O uso de ciclofosfamida em ratas prenhes tem levado ao desenvolvimento de fetos portadores de defeitos estruturais como anencefalia ou exencefalia acompanhado por crânio bífido (PADMANABHAN, 1984).

### **2.3.5 Agentes físicos e outras causas**

Segundo Jubb & Huxtable (1993), expressões variáveis de defeitos ciclopianos ocorrem em fetos das raças Jersey e Guernsey, e estão associados à extrapolação do tempo do período gestacional. A hipertermia prolongada pode provocar lise neuronal em fetos (EDWARDS, 1978); ovelhas prenhes submetidas, experimentalmente, à hipertermia nas fases finais da gestação dão nascimento a cordeiros com porencefalia (JUBB; HUXTABLE, 1993).

Embora os fetos sejam resistentes à hipóxia, quando esta é prolongada ou profunda, há evidências de que a mesma possa causar malformações como hidranencefalia (JUBB; HUXTABLE, 1993).

### **2.3.6 Defeitos morfológicos congênitos de causas desconhecidas**

Em bezerros documentou-se anencefalia acompanhada por diversas anomalias em outros sistemas corporais (HIRAGA; ABE, 1986). Casos esporádicos de duplicação prosencefálica em bovinos recém-nascidos também foram descritos (DE LAHUNTA, 1990). Adicionalmente aplasia cerebral foi descrita em bezerros (CHO; LEIPOLD, 1978) como

malformação esporádica, sem causa definida, muitas vezes acompanhada de crânio bífido. Animais nascidos a termo sobrevivem por até poucos dias e são capazes de manter-se em estação e deambular caso o tronco encefálico caudal não esteja afetado. Clinicamente são profundamente letárgicos, permanecem com a cabeça apoiada em obstáculos por muitas horas e apresentam cegueira cerebral (possuem reflexo pupilar normal) (SUMMERS, 1995).

A síndrome de Arnold-Chiari é bem documentada em bezerros e ocorre de forma esporádica sem causa definida; caracteriza-se por malformações do tronco encefálico caudal, sobretudo alongamento e extensão caudal da medula oblonga e dos polos occipitais do cérebro, bem como cornificação do vermis e paravermis cerebelares, que encontram-se protrusos, adentrando o forame magno. Estas alterações podem estar acompanhadas por espinha bífida e, por vezes, em associação com meningomielocele.

Outras alterações morfológicas como lipomeningocele foi descrita em bovinos recém-nascidos das raças Holstein e Angus (GOPAL; LEIPOLD, 1979). Holoencefalia acompanhado ou não de ciclopia também tem sido descrita em bezerros (CHO et al., 1985).

Enfermidades mielodisplásicas em bezerros foram notificadas em associação a malformações de corpos vertebrais. Hidromielia e siringomielia, bem como diplomielia geralmente estão presentes. Clinicamente, bovinos recém-nascidos a termo apresentam incoordenação não progressiva dos membros pélvicos. Não é observada paresia; percepção dolorosa e reflexos espinhais permanecem inalterados. Diastematomielia foi verificada em bezerro da raça Holstein (DE LAHUNTA, 1990).

## **2.4 Bases Fisiológicas da Reprodução em Vacas**

### **2.4.1 Comportamento sexual**

O estro em bovinos é caracterizado por um conjunto de manifestações comportamentais principais (*sinais primários*) que incluem comportamento homossexual, descarga de muco vaginal, mugidos freqüentes, intensa movimentação, aumento na freqüência de micção, descarga de muco vaginal, imobilidade durante a monta, entre outras características (BARUSELLI et al., 2007). Contudo, as interações sociais, habitação, manejo, o ambiente físico, idade, estado nutricional e fisiológico, fatores genéticos e a presença do touro podem influenciar a manifestação comportamental do estro em bovinos (ORIHUELA, 2000).

Muitas vacas não aceitam a monta durante todo estro (ROELOFS et al., 2005; ROELOFS et al., 2008), porém existem outros sinais comportamentais para detecção do cio em vacas. Esses sinais, chamados secundários, são importantes e devem ser considerados para a detecção de cio (ROELOFS et al., 2005; VAN EERDENBURG et al., 1996; WALKER et al., 2008). Os *sinais secundários* de comportamento sexual mais evidentes são agitação, cheirar de vulva de outra vaca, reflexo de Flehmen, apoiar o queixo sobre o dorso de outra vaca, montar e ser montada, mas não permanente (VAN EERDENBURG et al., 1996), lambe, esfregar e ter comportamento agressivo (KERBRAT; DISENHAUS, 2004)

A intensidade e a duração dos sinais de estro são altamente variáveis entre os indivíduos. A duração do estro pode variar de duas a 48 h (PLASSE et al., 1970; ESSLEMONT; BRYANT, 1976, WALKER et al., 1996); a duração do estro em *Bos taurus indicus* (*B. indicus*) menor do que em *Bos taurus taurus* (*B. taurus*) (GALINA; ARTHUR, 1990, revisado em BÓ et al., 2003). Em vacas *B. taurus*, a duração do estro é de aproximadamente 14 a 18 horas, enquanto nas *B. indicus* a duração média é de 11 horas (BARROS et al., 1995). Além disso, mais de 50,0% dos *B. indicus* iniciam a manifestação de cio no período noturno (entre 18:00 h e 6:00 h); e cerca de 30,0% iniciam e encerram o estro

durante a noite (PINHEIRO et al., 1998; MEMBRIVE, 2000), fato que dificulta o manejo e a eficácia na detecção de cio.

Em geral, *B. indicus* exibem comportamentos de estro mais característicos no verão (ZAKARI et al., 1981), com redução na intensidade do comportamento estral durante o outono, e início tardio no inverno em relação aos meses de verão (SAMBRAUS, 1978), com ciclos estrais erráticos (HAUSER, 1984)

#### 2.4.2 Ciclo estral

Ciclo estral é o período compreendido entre dois episódios de estro. Os bovinos animais poliéstricos anuais, em fêmeas, o ciclo estral completo varia de 17 a 25 dias (SIROIS; FORTUNE, 1988), com intervalos médios de 20 dias para novilhas e 22 dias para vacas (MCDONALD, 1989).

De acordo com as modificações no trato reprodutor feminino, decorrentes da ação dos hormônios gonadotróficos e esteróides, o ciclo estral pode ser dividido em quatro fases distintas: *proestro* (em torno de dois dias), *estro* (de 14 a 18 horas), *metaestro* (cerca de três dias) e *diestro* (de dez a dezoito dias).

O ciclo estral bovino também pode ser dividido em *fase luteínica*, que vai da ovulação até a luteólise (por volta do 17º. dia do ciclo), e *fase folicular*, que compreende o período da luteólise até a próxima ovulação (BAIRD; McNEILLY, 1981; HAFEZ ; HAFEZ, 2004).

#### 2.4.3 Aspectos neuroendócrinos e dinâmica folicular

Os principais hormônios envolvidos na neuroendocrinologia da reprodução de bovinos são: Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) proveniente do hipotálamo, Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), produzidos pela adenohipófise, 17  $\beta$ Estradiol e Progesterona secretados pelos ovários e Prostaglandina, produzida pelo útero (MAPLETOFT; KASTELIC, 1997; HAFEZ ; HAFEZ, 2004).

O GnRH é secretado no hipotálamo e atinge a adenohipófise por meio do sistema porta-hipotalâmico-hipofisário. Este hormônio é responsável pela rápida liberação de FSH e LH, cuja frequência é controlada pela retroalimentação da progesterona ou do estradiol. A liberação de FSH não tem caráter pulsátil, e sim constitutiva, na qual a síntese é seguida de sua liberação enquanto que a liberação de LH depende da frequência de liberação de GnRH (BARUSELLI et al., 2004).

O ciclo estral bovino é caracterizado por duas a três ondas ou, ocasionalmente, quatro ondas de crescimento folicular consecutivas (SAVIO et al., 1998; CROWE, 1999; WEBB et al., 1999a). Cada onda folicular inicia-se pela emergência de um grupo de folículos de 4 mm de diâmetro, que crescem por alguns dias até a classe de folículos médios (5-9 mm) e, posteriormente, desse “pool” de folículos médios, diverge um folículo que se torna dominante (seleção). O folículo dominante selecionado continua a crescer, enquanto os outros folículos do grupo (subordinados) entrarão em atresia. Finalmente, o folículo dominante também entrará em atresia, durante a fase luteal, ou, ovulará, quando ocorre a regressão do corpo lúteo (CROWE, 1999; GINTHER, 2000; DRIANCOURT, 2001).

O FSH é o hormônio chave na indução do recrutamento (DRIANCOURT, 2001; MIHM; BLEACH, 2003), pois cada onda folicular é precedida, em um ou dois dias, por um aumento na concentração sérica de FSH (ADAMS et al., 1992), momento no qual o FSH atinge concentrações máximas (KULICK et al., 1999). Deste momento em diante, as concentrações decrescem até alcançarem o nadir próximo à divergência, com relatos variando entre 32 horas antes (KULICK et al., 1999) até 10 horas após a seleção folicular (GINTHER et al., 1999).

Em bovinos, o FSH é requerido para o crescimento dos folículos de 4,0 até o diâmetro de 9,0 mm. A partir deste diâmetro, a dependência gonadotrófica muda do FSH para o LH, que é requerido para o crescimento até o diâmetro máximo do folículo dominante (FD) (WEBB et al., 1999; MIHM; BLEACH, 2003). Alguns estudos, contudo, têm demonstrado que FD necessita de concentrações basais de FSH para continuar seu desenvolvimento, as quais são inadequadas para folículos menores (GINTHER, 2000).

Após a mudança na dependência gonadotrófica, LH passa assumir papel fundamental na fase final de crescimento e maturação folicular (GINTHER et al., 1998; GINTER et al., 1999; DRIANCOURT, 2001). Seu principal efeito é estimular a produção de andrógenos pelas células da teca, e permitir a sobrevivência do folículo (WRATHALL; KNIGHT, 1995). Além disso, o LH estimula a produção de fatores de crescimento que estão envolvidos nos mecanismos de divergência folicular (GINTHER et al., 2003).

Postula-se que o mecanismo de divergência folicular em bovinos envolve a aquisição seletiva de responsividade ao LH pelo FD, devido a um aumento no número de receptores de LH nas células da granulosa (KULICK et al., 1999).

*Uma outra hipótese, é a de que:* “o folículo dominante apresenta uma resposta diferente ao FSH devido a alterações, em nível intrafolicular, de alguns fatores bioquímicos envolvidos na seleção e sobrevivência do folículo. A capacidade esteroidogênica aumentada do folículo dominante ocorre por um aumento na quantidade de IGF-1 livre, o qual age em sinergia com o FSH para aumentar a atividade da aromatase. (ARMSTRONG; WEBB, 1997; MIHM et al., 1997; RIVERA et al., 2001; SPICER et al., 2001; SPICER et al., 2002; MIHM; BLEACH, 2003). A ativina também parece contribuir para o processo de seleção, visto que o futuro folículo dominante mostra um aumento transitório de ativina A no fluido folicular induzido pelo FSH, o que pode ser um marcador inicial da dominância folicular (GINTHER et al., 2002). A ativina também parece exercer um papel local na amplificação ou mediação da ação do FSH (GLISTER et al., 2001; KNIGHT; GLISTER, 2003).

Os IGFs atuam na foliculogênese através de regulação parácrina-autócrina (WEBB et al., 1999). Os IGFs funcionam como moduladores da ação do FSH ao nível celular e estimulam a proliferação e diferenciação das células da granulosa e da teca. A bioatividade do IGF é controlada por sua associação as proteínas ligadoras de fatores de crescimento semelhantes à insulina (BEG et al., 2002).

As proteínas ligadoras de fatores de crescimento semelhantes à insulina constituem um grupo de, no mínimo, seis proteínas distintas capazes de se ligar ao IGF (ADASHI, 1998), controlar sua bioatividade e, conseqüentemente, inibir os efeitos do FSH (WEBB; ARMSTRONG, 1998). Em bovinos, níveis de IGFBP -2, -4 ou -5 no fluido folicular diminuem durante o crescimento folicular e aumentam durante a atresia, enquanto os níveis de IGFBP -3 permanecem constantes. Um dos mecanismos para aumentar a biodisponibilidade do IGF para as células é através da proteólise das proteínas ligadoras de fatores de crescimento semelhantes à insulina, principalmente as de baixo peso molecular (SPICER et al., 2001). Em vacas, quantidades reduzidas de ativina, associadas a um aumento no IGF-1, estimulam a proteólise de IGFBP-4, do que resulta uma maior produção de IGF-1 nas células da granulosa e de IGF-2 nas células da teca, bem como aumento na produção de andrógenos nas células da teca pela ação sinérgica de IGFs e LH (VAN DER HURK; ZHAO, 2003).

A divergência folicular é definida pela diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos, sendo marcada pela continuidade no desenvolvimento do maior folículo e declínio ou parada no crescimento dos outros (GIMENES et al., 2005 a ou b? ; SARTORELLI et al., 2005; CASTILHO et al., 2006).

A queda no suporte de FSH ocorre por uma ação combinada da inibina e do estradiol produzidos por folículos com diâmetro acima de 5 mm, que atuam por feedback negativo na



pituitária (GIBBONS et al., 1997; MIHM et al., 1997; MIHM et al., 2001; MIHM; BLEACH, 2003). O fim da seleção e alcance da dominância ocorre neste período (CROWE, 1999; GINTHER et al., 1999; GINTHER, 2000). O folículo dominante selecionado continua a crescer e produzir estradiol, mesmo em ambiente de baixo FSH, enquanto os folículos subordinados exibem uma redução marcada na produção de estradiol (SUNDERLAND; CROWE, 1994; BAKER; SPEARS, 1999).

A regressão luteal (diminuição da progesterona) permite ao folículo dominante da segunda ou da terceira onda continuar funcional, e é acompanhada por um aumento na frequência do padrão de liberação pulsátil do LH induzida pelo estradiol, que resulta na onda de LH, e inicia a maturação final do folículo e do oócito e, que, finalmente permite a ovulação do folículo dominante (MERTON et al., 2003).

Após a ovulação inicia-se a fase luteínica, a progesterona produzida pelo corpo lúteo (CL) faz com que a frequência de liberação de LH se mantenha baixa (um pulso a cada quatro/seis horas na fase de platô) e a amplitude alta. Em razão disso, os folículos dominantes que ocorrem nessa fase não ovulam, e entram em atresia (BAIRD, 1976; TURNBULL et al., 1977). No final desta fase, inicia-se uma série de eventos que culminam com a perda da capacidade de secreção da progesterona pelo CL (McGUIRE et al., 1994; PATE, 1994). Essa regressão depende do aumento de PGF $2\alpha$ , o qual é causado pelo aumento na liberação de PGF $2\alpha$  pelo endométrio, estimulado pela secreção de ocitocina pelo corpo lúteo (CL). O 17- $\beta$ -estradiol estimula a síntese de receptores de ocitocina no endométrio e, conseqüentemente, a liberação de prostaglandina F $2\alpha$ , responsável pela lise do CL e pela queda nas concentrações séricas de P $4$  (FARIAS, 2004).

Após a luteólise, o estradiol-17 $\beta$  irá promover um estímulo de retroalimentação positivo sobre a liberação de GnRH, com alteração da frequência de pulsos de GnRH e LH (CAMPBELL et al., 1990; MORAES et al., 2001). Esse aumento na secreção de estradiol também induz o comportamento de estro (SCARAMUZZI, 1975; CAMPBELL et al., 1990; MORAES et al., 2001).

#### **2.4.3.1 Ondas foliculares**

Uma onda de crescimento folicular envolve o desenvolvimento sincrônico de um grupo de folículos de 4,0 a 5,0 mm, do qual um grande folículo, chamado folículo dominante (FD), se desenvolve em aos demais folículos chamados de subordinados (FS) (GINTHER et al., 1989). Durante a fase luteínica, o FD será anovulatório somente quando os níveis de P $4$  diminuírem devido a luteólise, o FD ovulará (GINTHER et al., 1989, 1996, 2003).

Vacas apresentam em média duas ou três ondas foliculares por ciclo estral, mas ocasionalmente podem apresentar uma ou quatro ondas (GINTHER et al., 1989). Com relação à fertilidade, sabe-se que não há diferença entre animais que apresentam ciclos de duas ou três ondas e que o número de ondas parece estar associado com o comprimento do ciclo e a duração da fase luteínica (FORTUNE, 1994).

GINTHER et al. (1989) relataram que animais com duas ondas apresentam período interovulatório e fase luteal significativamente menores (em média de 20 e 16 dias, respectivamente) que animais com três ondas (em média de 22 e 19 dias, respectivamente), estando a emergência de três ondas foliculares associada a uma longa fase luteal. A duração da fase luteal parece ser o fator chave na determinação do número de ondas de crescimento folicular; o momento da luteólise e sua relação com surgimento da segunda onda é crucial na ocorrência de ciclos com duas ou três ondas de crescimento folicular (GINTHER et al., 1996).

Em ciclos com duas ondas, a primeira onda parece ter início entre os dias D0 (dia da ovulação) e D2, e a segunda entre os dias D9 e D11 (GINTHER *et al.*, 1989; KASTELIC, 1994; SIROIS; FORTUNE, 1988). Para o padrão de três ondas, a emergência das ondas

ocorre, em média, nos D0 ou D2, D9 e D16, sendo as duas primeiras anovulatórias (KASTELIC, 1994; SIROIS; FORTUNE, 1988). De cinco a dez folículos são recrutados por onda de crescimento folicular (DRIANCOURT, 2001).

#### **2.4.3.2 Características foliculares em vacas zebuínas x taurinas**

Animais indianos apresentam um padrão de crescimento folicular semelhante ao observado em animais de raças européias, com a dinâmica folicular caracterizada pela ocorrência de duas a três ondas de crescimento folicular (SANTOS, 2001). As características morfológicas e funcionais do corpo lúteo nessas raças também são similares às observadas em outras raças bovinas (VIANA et al., 1999). Entretanto, fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus* diferem em vários aspectos de suas fisiologias reprodutivas. O diâmetro máximo do folículo dominante em animais *Bos indicus* é menor que em animais *Bos taurus* (BARROS et al., 1995; RHODES et al., 1995; FIGUEIREDO et al., 1997; VIANA et al., 2000, GIMENES et al., 2005a ; REZENDE, 2006), assim como o tamanho do CL (REZENDE, 2006). Reporta-se que ovários de novilhas indianas contêm maior número de folículos pequenos (<5 mm) e menor quantidade de folículos grandes (>5 mm) comparadas a animais europeus (SEGERSON et al., 1984). Fêmeas *B. indicus* parecem recrutar um maior número de folículos por onda de crescimento que fêmeas *B. taurus* (CARVALHO et al., 2007). Diferenças endócrinas também foram demonstradas por estudos que revelaram menor capacidade para secreção de LH (GRIFFIN; RANDERL, 1978; RHODES et al., 1978), e menores níveis circulantes de estradiol e progesterona (SEGERSON et al., 1984) em animais indianos em relação a animais europeus. O quadro abaixo (Quadro 1) resume os dados encontrados na literatura sobre as diferenças entre animais *B. indicus* e *B. taurus*.

### Quadro 1 Principais diferenças na fisiologia reprodutiva de fêmeas *B. taurus* e *B. indicus*

	<i>B. indicus</i>	Referências	<i>B. taurus</i>	Referências
Duração do estro (horas)	12,9±2,9	MIZUTA (2003)	16,3±4,8	MIZUTA (2003)
Intervalo início do Estro-ovulação (horas)	27,1±3,3	MIZUTA (2003)	26,1±6,3	MIZUTA (2003)
Número de ondas de crescimento folicular	2 a 4	RHODES et al. (1995) FIGUEIREDO et al. (1997) SIROIS; FORTUNE (1988)	2 a 3	SAVIO et al. (1998) SIROIS; FORTUNE (1988) WOLFENSON et al. (2004)
Diâmetro do FD na divergência (mm)	5,4/ 5,9/ 6,2	SARTORELLI et al. (2005) CASTILHO et al. (2006) GIMENES et al. (2005b)	8,5	GINTHER et al. (1996)
Diâmetro do maior FS na divergência (mm)	5,3/ 5,9	SARTORELLI et al. (2005) CASTILHO et al. (2006) GIMENES et al. (2005b)	7,2	GINTHER et al. (1996)
Diâmetro que adquire a capacidade ovulatória (mm)	7,0 a 8,5	GIMENES et al. (2005a)	10,0	SARTORI et al. (2001)
Diâmetro do folículo ovulatório (mm)	11,6 a 12,1	FIGUEIREDO et al. (1997)	13,9 a 16,5	GINTHER et al. (1989)
Diâmetro do CL (mm)	17 a 21	RHODES et al. (1995); FIGUEIREDO et al. (1997)	20 a 30	GINTHER et al. (1989); KASTELIC et al. (1990)

Fonte: BARUSELLI et al., 2007

#### 2.4.3.3 Dosagem hormonal

Na raça Nelore, os níveis de FSH variam entre 0,2 a 11,5ng/mL antes da divergência (GINTHER et al., 1996; GINTHER et al., 1997; GINTHER et al., 2001; GINTHER et al., 2002) e 0,1 a 8,5ng/mL após a divergência folicular (KULICK et al., 1999; GINTHER, 2000; GINTHER et al., 1999; GINTHER et al., 1997; GINTHER et al., 2001; GINTHER et al., 2002). Quanto ao LH, os valores oscilam entre 0,5 a 1,5ng/mL (GINTHER et al., 1999; KULICK et al., 1999; GINTHER, 2000; GINTHER et al., 2001).

Já a concentração plasmática de progesterona, normalmente baixa durante o estro (abaixo de 1 ng/mL), aumenta progressivamente no metaestro, atinge o pico na metade do diestro e cai abruptamente no período em que se observa elevação na frequência e amplitude dos pulsos de LH pré-ovulatório (COUTINHO et al., 2007). A concentração de progesterona produzida pelo CL parece ser inferior em zebuínos quando comparadas a dos taurinos (SEGERSON et al., 1984).

A dosagem dos níveis plasmáticos de FSH e LH, a cada 12 horas a partir da ovulação (D0) até D5, em novilhas Nelore, evidenciou um declínio nas concentrações plasmáticas de FSH sem que houvesse uma elevação transitória nas concentrações de LH próximo ao momento da divergência folicular (GIMENES et al., 2008).

#### 2.4.4 Sincronização de estro

A aplicação da PGF-2 $\alpha$  ou seus análogos é um dos métodos de sincronização de estro mais largamente utilizado em bovinos, e a sua eficácia na indução da luteólise depende de fatores como fase do ciclo estral, doses e via de aplicação (JACKSON et al., 1979), com grande variação nos resultados de sincronização (ADAMS, 1994).

A amplitude da manifestação do estro varia de um a cinco dias após a aplicação de PGF2 $\alpha$  e isto não está relacionado ao período de regressão luteal, mas à fase do crescimento folicular em que cada vaca se encontra ao momento da aplicação do luteolítico (WILTBANK, 1997). A caracterização da dinâmica folicular em vacas e novilhas permitiu uma melhor compreensão das fontes de variação na sincronização de estro (PIERSON; GINTHER, 1987; FORTUNE et al., 1988; GINTHER et al., 1989).

O intervalo da luteólise à manifestação de estro parece estar relacionado com o tempo necessário para que o FD complete o seu desenvolvimento até o tamanho pré-ovulatório (QUIRK et al., 1986). A presença de um folículo de maior diâmetro pode reduzir a variabilidade de resposta e o intervalo para a manifestação de estro e ovulação após o tratamento (JACKSON et al., 1979). O aparecimento de ondas de crescimento folicular ao longo do ciclo estral, associado ao longo intervalo no qual os animais são selecionados para a sincronização, torna imprevisível o tamanho do FD no momento da luteólise (VIANA et al., 1997).

#### **2.4.5 Estrutura básica do epitélio vaginal**

As mudanças citológicas vaginais podem representar um indicador sensível da fase do ciclo estral em várias espécies, refletindo, provavelmente, a influência do estrógeno e da P<sub>4</sub> (PAPANICOLAOU, 1946). Segundo Banks (1991), a citologia vaginal estuda as células individualmente, requerendo células esfoliadas, sem considerar a arquitetura do tecido ou órgão de origem, que proporciona um meio simples, rápido pouco invasivo e de baixo custo, para o diagnóstico das fases do ciclo estral.

Em bovinos, as alterações na citologia vaginal durante o ciclo estral não são consistentes (MIROUND; NOAKES, 1990), mas Kurade et al. (1993) afirmam que a citologia vaginal pode ser utilizada como ferramenta para diagnosticar as diferentes fases do ciclo reprodutivo de vacas.

Montalbán (1985) sugere que as camadas celulares da vagina sofrem mitoses induzidas pelo 17  $\beta$  estradiol. Já a P<sub>4</sub>, por sua vez, provoca a diminuição no número de mitoses e a maturação funcional do epitélio, pois este é provido de receptores hormonais, localizados no núcleo das células, que controlam a maturação e a diferenciação celular (GOMPEL; KOSS, 1997).

#### **2.4.6 Citologia vaginal**

No estudo citológico, as células são originalmente incolores e precisam ser coradas para possibilitar sua visualização no microscópio óptico. As porções de pH ácido das células tendem a combinar com os corantes catiônicos e o inverso ocorre com os corantes aniônicos, no qual os núcleos celulares tomam as cores básicas, enquanto que os elementos citoplasmáticos se coram pelos corantes ácidos e o resultado é uma variação de coloração com tonalidades entre o azul e o vermelho, o que facilita a identificação e a classificação dos elementos corados (ROCHA, 2000). As células superficiais são diferentes das células da camada basal por terem grande afinidade pelos corantes ácidos, ou seja, pela eosina (COLE, 1930).

Em vacas, durante todo ciclo estral, vários tipos de células epiteliais são encontrados no esfregaço vaginal. A zona basal é uma camada simples de células cubóides ou colunar (SANGER et al., 1958). As células da camada basal são imaturas, pequenas, com pouco citoplasma e raramente são observadas no esfregaço vaginal, exceto em condições anormais (NAIB, 1996).

As células parabasais são basofílicas (MIROUND; NOAKES, 1990), com núcleo grande e pouco citoplasma (SANGER et al., 1958; MIROUND; NOAKES, 1990), formato esférico ou oval, sendo dispostos em várias camadas (SANGER et al., 1958). As células intermediárias são maiores que as parabasais, apresentam formato esférico, oval ou poliédrico, com relação núcleo : citoplasma menor (COLE, 1930; SANGER et al., 1958; MIROUND; NOAKES, 1990). As células superficiais são grandes e chatas, de formato irregular ou poliédrico com citoplasma transparente basofílico e núcleo denso picnótico

localizado centralmente; algumas são anucleadas ou corneificadas (SANGER et al., 1958; MIROUND; NOAKES, 1990).

Durante o proestro há queda no número total de células epiteliais, e leve aumento no número de células parabasais, superficiais nucleadas e corneificadas (SANGER et al., 1958; MIROUND; NOAKES, 1990). Na fase do estro predominam as células parabasais, intermediárias e as superficiais alcançam o seu número máximo neste momento (MIROUND; NOAKES, 1990). Durante o metaestro persistem grande número de células intermediárias e pequeno número de células superficiais (MIROUND; NOAKES, 1990). No início do diestro encontram-se principalmente células intermediárias e parabasais, depois predomina o tipo celular intermediário (MIROUND; NOAKES, 1990).

Kurade et al. (1993) relataram que concentrações altas de progesterona, características do diestro, são acompanhadas de alto número de células parabasais e intermediárias, já Rama Rao et al. (1979) afirmam não haver diferença estatística na morfologia das células no metaestro e diestro, provavelmente devido a ambas fases estarem sob influência da progesterona.

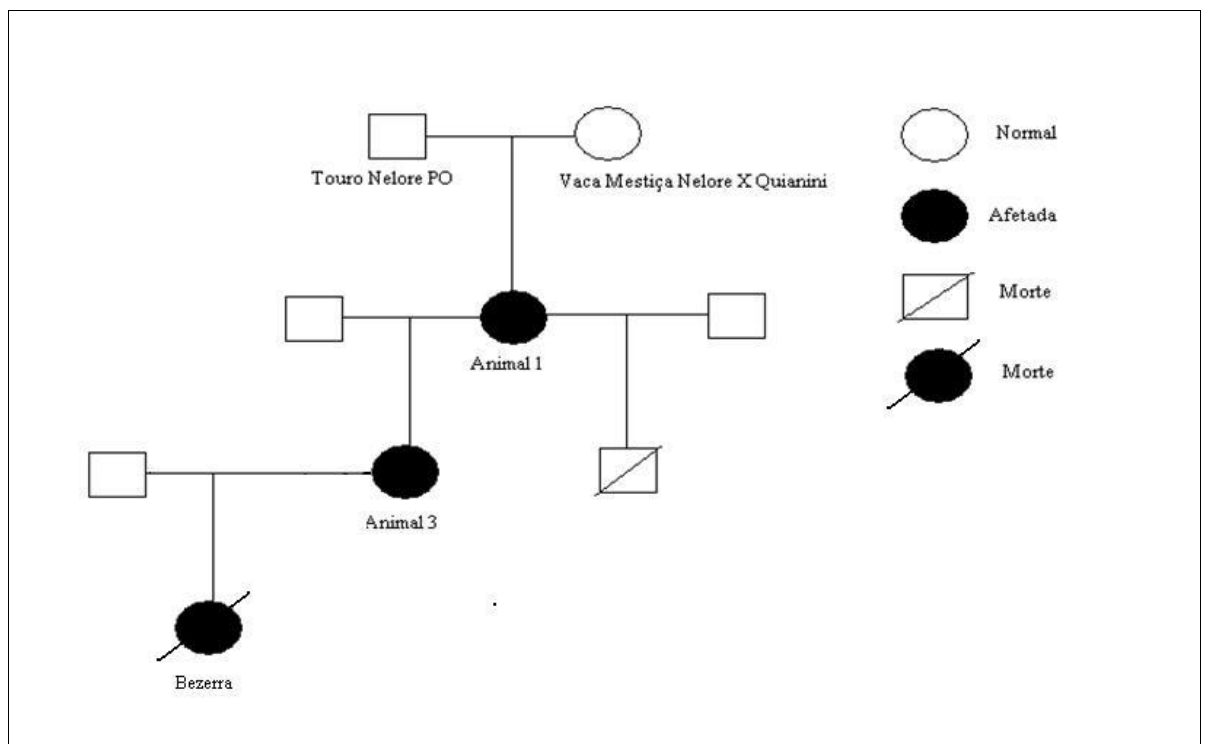
Rezende (2006) traçou o perfil citológico vaginal e a dinâmica folicular durante o ciclo estral de dez novilhas Nelore púberes; onde as amostras citológicas foram colhidas da região do fundo de saco vaginal. O número de células superficiais anucleadas variou pouco no decorrer do ciclo, mas a quantidade de células superficiais nucleadas decresceu até a metade do ciclo, quando se mostrou novamente elevada. O perfil das células intermediárias jovens e velhas variou de maneira sincronizada, notando-se tendência de elevação gradual no número de células parabasais no decorrer do ciclo estral.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

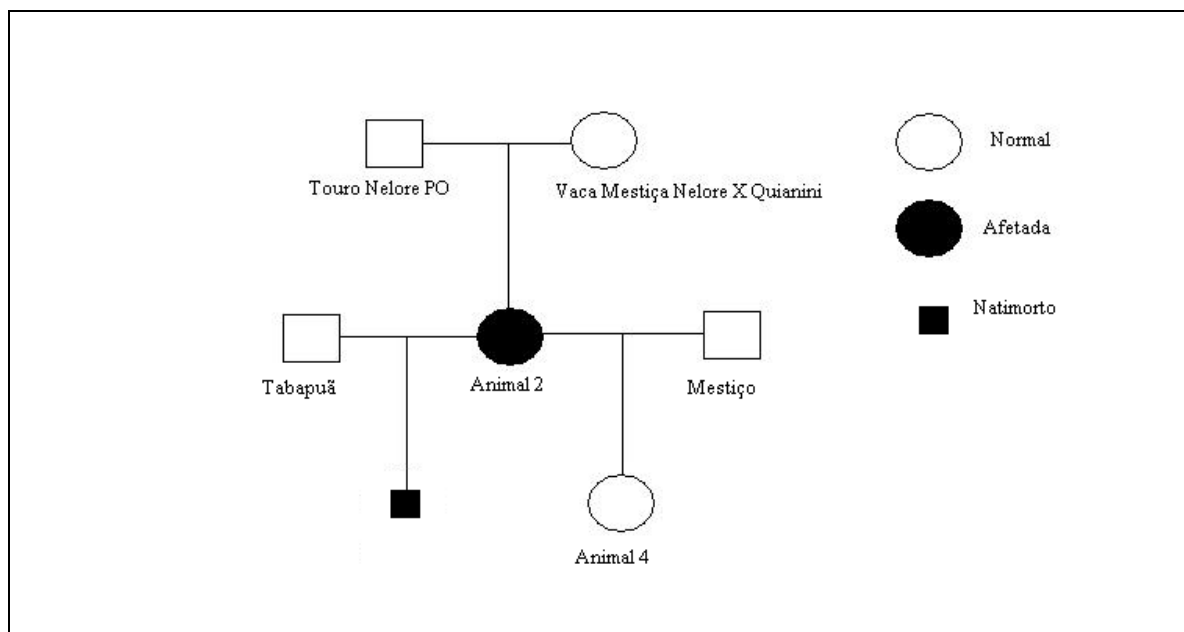
#### 3.1 Animais

No presente estudo, foram avaliados oito animais, sendo sete fêmeas e um touro, que apresentavam condição corporal 3,0, em uma escala de 1 a 5 (SHORT; ADAMS, 1988). Todos foram submetidos a exames de brucelose e tuberculose, protocolos de vacinação contra febre aftosa e raiva, e controle de parasitoses conforme manejo do rebanho, antes do início do trabalho.

No primeiro período de observação (Estudo Piloto), foram avaliados três vacas com DE a saber: Os Animais 1 e 2, remanescentes, descendentes diretos do cruzamento entre um touro Nelore PO com vacas mestiças Nelore X Chianina, e uma neta(Animal 3) deste touro com DE (figura 1 e 2), todos procedentes do município de Ecoporanga, ES; uma neta sem a doença (Animal 4).



**Figura 1** Heredograma dos Animais 1 e 3.



**Figura 2** Heredograma dos Animais 2 e 4.

No segundo período, foram estudadas as mesmas três vacas com DE (Animais 1, 2 e 3), mais uma neta (não afetada pela DE - Animal 4), além de três novilhas azebuadas (Animais 5, 6 e 7) como controle. Também foi utilizado um touro mestiço holandês-zebu para realização de cruzamentos com essas mesmas vacas (Tabela 1).

**Tabela 1** Relação dos animais que participaram dos períodos de observação.

Identificação animal	Origem	Raça	Ano de nascimento	Grupo
Animal 1	ES	Nelore x Chianina	1999	DE
Animal 2	ES	Nelore x Chianina	2000	DE
Animal 3	ES	Nelore x Chianina	2004	DE
Animal 4	RJ	Mestiça	2008	DE*
Animal 5	RJ	Nelore	2005	Controle
Animal 6	RJ	Nelore	2006	Controle
Animal 7	MS	Nelore	2006	Controle
Touro	RJ	Mestiço	2006	-----

\*Bezerra, neta sem DE oriunda do cruzamento do Animal 2 x touro mestiço Holandês-Zebu.

## **3.2 Instalações e Manejo**

### **3.2.1 Local de execução**

Este trabalho foi realizado nas instalações da Área de Reprodução do Departamento de Reprodução e Avaliação Animal – Instituto de Zootecnia – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47 – Seropédica – RJ.

### **3.2.2 Alimentação**

Os animais receberam uma dieta a base de capim picado, suplementados com cevada (mosto de cervejaria) e farinha de trigo. Receberam também mistura mineral e água *ad libitum*. Durante o segundo período de observação, pela manhã, receberam uma alimentação mais controlada com base em capim picado, cevada e farinha de trigo e à tarde, receberam feno de Coast-Cross.

## **3.3 Períodos de Observação**

Especificamente para esse trabalho, os dados foram colhidos em dois períodos de observação; o primeiro (Estudo-Piloto) de 27 de abril de 2009 a 25 de maio de 2009 e o segundo período de observação, de 19 de novembro de 2009 a 18 de fevereiro de 2010. Todavia, já anteriormente, desde 2005 os animais deste estudo vinham sendo acompanhados, de forma não sistemática.

### **3.3.1 Primeiro Período de Observação**

#### **3.3.1.1 Exame ginecológico (palpação retal)**

Os animais foram colocados em tronco de contenção e o exame ginecológico foi realizado por palpação retal, nos seguintes dias da semana: segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira. Os dados coletados referentes aos ovários, útero, trompas uterinas, cérvix, vagina e vulva, foram anotados em uma ficha própria.

#### **3.3.1.2 Dosagem hormonal**

Após o exame ginecológico, os animais permaneciam no tronco de contenção e o sangue era coletado, por punção da veia jugular, com auxílio de agulhas descartáveis 40x12 mm com tubo com vácuo. Inicialmente as amostras foram colocadas em tubos siliconizados sem EDTA, identificados. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 600g durante 15 minutos (Centrífuga Sigma 6-15); e o soro foi pipetado, dividido em alíquotas, acondicionadas em criotubos de 2 mL, previamente identificados, e armazenados em freezer a -20°C, conforme Gimenes et al. (2008).

No primeiro período de observação foram coletadas alíquotas de soro nos seguintes dias: segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira. Posteriormente, uma parte das amostras foi transportada sob refrigeração para o B.E.T. Laboratories, no município do Rio de Janeiro/RJ, para serem determinadas as concentrações plasmáticas de FSH, LH, Progesterona e Estrogênio por radioimunoensaio (DOUGLAS; BRINGEL, 2010).



## Quadro 2 Valores hormonais para a espécie bovina

Hormônios	Valores hormonais (ng/mL)	Fase do ciclo estral
FSH	0,2 a 11,5	Antes da divergência
FSH	0,1 a 8,5	Após a divergência
LH	0,5 a 1,5	
Progesterona*	< 1,0	Anestro
	< 1,0	Estro
	> 3,0	Diestro
	> 3,0	Gestação

Fonte: BET LABS (USA)\*; GINTHER et al., 2002; KULICK et al., 1999; COUTINHO et al, 2007.

### 3.3.1.3 Diagnóstico diferencial para DE

Uma alíquota de soro de todos os animais foi coletada e destinada para o diagnóstico das doenças virais que causam anomalias no SNC. Foram enviados sob refrigeração para o Laboratório de Viroses do Instituto Biológico de São Paulo, em São Paulo/SP. As amostras foram submetidas aos exames de Virusneutralização para o diagnóstico da Diarréia Viral Bovina, e de Imunodifusão em gel de agar para doença da Língua Azul.

### 3.3.1.4 Citologia vaginal

No primeiro período de observação, a citologia vaginal foi realizada nas segundas, quartas e sextas-feiras.

Os animais foram mantidos nos troncos de contenção e o esfregaço vaginal foi realizado seguindo o protocolo: higienização da região vulvar; colheita do material celular da mucosa vaginal com auxílio de uma escova ginecológica, deposição do material colhido em lâmina de vidro, fixação com metanol e coloração pela técnica do Panótico.

As avaliações morfológica e tintorial das células epiteliais, ao longo do ciclo estral, foram realizadas através da leitura das lâminas em microscópio óptico com aumento de 400x. O padrão da leitura foi caracterizado pela contagem de 100 células por lâmina; para as lâminas que não apresentaram número suficiente de células, contaram-se todas as células encontradas (REZENDE, 2006).

Na diferenciação celular foram considerados o tamanho, a afinidade tintorial e a relação núcleo-citoplasma. As células esfoliativas foram classificadas segundo Miround & Noakes (1990) de acordo com o tamanho, em células basais, parabasais, intermediárias e superficiais nucleadas e anucleadas, seguindo de base para a classificação da fase do ciclo estral o quadro 4.

### Quadro 3 Classificação da fase do ciclo estral das vacas pela citologia vaginal.

Proestro	Predomínio de células epiteliais com aumento de células parabasais, superficiais nucleadas e cornificadas.
Estro	Predomínio células parabasais e intermediárias, com aumento células superficiais anucleada.
Metaestro	Grande número de células intermediárias e pequeno de células superficiais.
Diestro	Células intermediárias e parabasais, predomínio de células intermediárias devido a alta concentração de P4.

Fonte: SANGER et al. (1958); MROUND; NOAKES (1990); KURADE et al. (1993).

### 3.3.2 Segundo Período de Observação

#### 3.3.2.1 Observações comportamentais do estro

As observações de sinais primários e secundários de cio das vacas foram realizados diariamente, nos horários de 7:00 às 8:00, 13:00 às 14:00 e 17:00 às 18 horas, e os dados anotados em fichas próprias.

#### 3.3.2.2 Exame ginecológico e Ultrassonografia

O exame ginecológico e ultrassonográfico começou a ser realizado no dia 19/11/2009. Os animais foram colocados em tronco de contenção e o exame ginecológico foi realizado por palpação retal e exame ultrassonográfico. Os dados coletados referentes aos ovários, útero, trompas uterinas, cérvix, vagina e vulva, foram anotados em uma ficha própria.

Para avaliação da dinâmica folicular, foi considerado D0, quando foram observadas as características de estro, quando não foram observados sinais de estro, considerou-se D0 como o dia anterior a ovulação.

Os exames ultrassonográficos foram realizados utilizando-se um aparelho de ultrassonografia Sonoace 600, a cada 24 horas, sempre pela manhã, durante os dois ciclos estrais naturais por animal no segundo período de observação. O transdutor foi introduzido via retal para a avaliação ovariana e mensuração dos folículos maiores ou iguais a 4,0 mm, bem como o corpo lúteo (FIGUEIREDO et al, 1995).

Para melhor caracterização da dinâmica folicular, foram utilizados os parâmetros demonstrados no quadro abaixo:

#### Quadro 4 Caracterização da dinâmica folicular.

<b>Período interovulatório</b>	período em dias, entre duas ovulações.
<b>Dia da emergência:</b>	dia em que se identifica Folículo Dominante a partir do diâmetro de 4,0 mm.
<b>Comprimento de onda:</b> (dias):	número de dias entre o dia da detecção do Folículo Dominante e maior Folículo Subordinado até o último dia de detecção, última mensuração efetiva ( $\geq 4,0$ mm).
<b>Diâmetro máximo:</b> (mm):	maior diâmetro verificado no Folículo Dominante.
<b>Dia inicial da atresia:</b>	dia em que o FD começou a diminuir progressivamente (o diâmetro menor que o anteriormente medido).
<b>Taxa de atresia:</b> (mm/dia)	valor obtido pela subtração do tamanho máximo do FD pelo tamanho mínimo efetivamente mensurado ( $\geq 4,0$ mm), no final da fase de atresia ou regressão, dividido pelo número de dias desta fase.

#### 3.3.2.3 Dosagem hormonal

Após o exame ginecológico, os animais permaneciam no tronco de contenção e o sangue era coletado, por punção da veia jugular, com auxílio de agulhas descartáveis 40x12 mm com tubo com vácuo. Inicialmente as amostras foram colocadas em tubos siliconizados

sem EDTA, identificados. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 600g durante 15 minutos (Centrífuga Sigma 6-15) ; e o soro foi pipetado, dividido em alíquotas, acondicionadas em criotubos de 2 mL, previamente identificados, e armazenados em freezer a -20°C, conforme Gimenes et al. (2008).

No segundo período de observação foram coletadas alíquotas de soro diariamente, mas desta foram selecionados os dias do ciclo estral (D0; D7; D14; D21 e/ou último dia do ciclo estral). Posteriormente, uma parte das amostras foi transportada sob refrigeração para o B.E.T. Laboratories, no município do Rio de Janeiro/RJ, para serem determinadas as concentrações plasmáticas de FSH, LH, Progesterona e Estrogênio por radioimunoensaio (DOUGLAS; BRINGEL, 2010).

#### **3.3.2.4 Diagnóstico diferencial para DE**

Uma alíquota de soro de todos os animais foi coletada e destinada para o diagnóstico das doenças virais que causam anomalias no SNC. Foram enviados sob refrigeração para o Laboratório de Viroses do Instituto Biológico de São Paulo, em São Paulo/SP. As amostras foram submetidas aos exames de Virusneutralização para o diagnóstico da Diarréia Viral Bovina, e de Imunodifusão em gel de agar para doença da Língua Azul.

#### **3.3.2.5 Citologia vaginal**

No segundo período de observação, foi colhido material celular vaginal a partir da regressão do corpo lúteo e folículo crescente a partir de oito mm até a ovulação (D1) e também dia 4 (D4).

Os animais foram mantidos nos troncos de contenção e o esfregaço vaginal foi realizado seguindo o protocolo: higienização da região vulvar; colheita do material celular da mucosa vaginal com auxílio de uma escova ginecológica, deposição do material colhido em lâmina de vidro, fixação com metanol e coloração pela técnica do Panótico.

As avaliações morfológica e tintorial das células epiteliais, ao longo do ciclo estral, foram realizadas através da leitura das lâminas em microscópio óptico com aumento de 400x. O padrão da leitura foi caracterizado pela contagem de 100 células por lâmina; para as lâminas que não apresentaram número suficiente de células, contaram-se todas as células encontradas (REZENDE, 2006).

Na diferenciação celular foram considerados o tamanho, a afinidade tintorial e a relação núcleo-citoplasma. As células esfoliativas foram classificadas segundo Miround & Noakes (1990) de acordo com o tamanho, em células basais, parabasais, intermediárias e superficiais nucleadas e anucleadas, seguindo de base para a classificação da fase do ciclo estral o quadro 4.

#### **3.3.2.6 Aplicação de Prostaglandina**

Após o término do segundo ciclo estral, do segundo período de observação, foram administrados, no dia 6 (D6), 5,0 mL de prostaglandina - PGF<sub>2</sub> $\alpha$  - (Lutalyse®, Pfizer, Brasil) por via intramuscular. No dia seguinte à aplicação, as fêmeas foram colocadas no mesmo curral junto com o touro, para observação do comportamento sexual e mantidas com o touro até o dia seguinte a ovulação. Exame ultrassonográfico e a citologia vaginal também foram realizados após a administração da PGF<sub>2</sub> $\alpha$ .

### **3.4 Análise Qualitativa**

Comumente empregada nas questões sociais, mas adaptam-se as condições na medicina veterinária. Trata-se de um conjunto de técnicas de investigação como a observação do que se quer investigar e o esperado, vão sendo desenvolvidas questões do que ser esperado e de ocorre na natureza espontaneamente. Permite identificar por comparação de comportamentos distintos entre grupos, e essa comparação ocorre por quantificação, dando base para conhecer em maior profundidade esses comportamentos e as diferenças manifestas no interior de cada um do grupo (NEVES, 1996).

Como a Doença de Ecoporanga começou a ser investigada recentemente, e não dispomos de um número de animais que nos permita uma análise quantitativa optou-se por introduzir esta análise da observação comportamental destes animais frente ao grupo controle, mantidos nas mesmas condições de manejo e ambiente. Devido ao pequeno número de animais com DE, optou-se por uma análise qualitativa dos dados, comparando o grupo controle com o grupo de animais portadores desta patologia, segundo metodologia proposta por Neves (1996).

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Primeiro Período de Observação (Abril/Maio de 2009)**

#### **4.1.1 Animal 1**

##### **4.1.1.1 Histórico**

O Animal 1 nasceu em 1999 no município de Ecoporanga, no Estado do Espírito Santo, foi trazida em 2005 a UFRRJ para fins de estudo. Apresentou peso médio de 306 kg. Era o animal mais afetado pela DE: apresentava déficit proprioceptivo com postura bem atípica - apoio de sustentação do corpo (em estação) centrado nos membros contralaterais anterior e posterior, direito e esquerdo, respectivamente - e evidente desvio da coluna vertebral.

Em outubro de 2006 foi submetida a um protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo; houve problemas para a realização da técnica de inseminação pela dificuldade de localização da cérvix, com repetição do cio, logo em seguida. Em 26/10/2007, durante exame ginecológico, detectou-se a prenhez com aproximadamente cinco meses por monta não-controlada, que culminou com o nascimento, em 03/03/2008, de um bezerro do sexo masculino, que não levantou e veio a óbito no dia seguinte. A única alteração com relação ao parto foi a retenção de placenta. Maiores detalhes, nos anexo.

##### **4.1.1.2 Palpação retal, citologia vaginal e dosagem hormonal**

O Animal 1 não estava gestante. No D 0 apresentou um folículo compatível com o folículo pré-ovulatório no ovário direito. Pela citologia vaginal foi o dia mais próximo do estro, pelo aumento no número de células superficiais. No D 2 ovulou, apresentou muco cristalino, porém sem outras manifestações de comportamento de cio. Pela citologia vaginal (Tabela anexo) encontrava-se em metaestro e pela dosagem hormonal (Tabela 04) também, visto que a concentração de progesterona sanguínea foi de 0,01 para 0,07 ng/mL do D 0 ao D 2.

No D 2 pela manhã, ao ser movimentada, subitamente caiu ao solo e passou a fazer movimentos de pedalagem (provável crise convulsiva, que durou aproximadamente 15 minutos e depois não mais se manifestou). Nos D 4, D 7, D 9, D 11, D 14 e D 16 encontrava-se em diestro (Tabela anexo), pelo exame ginecológico com a presença de corpo lúteo, e pela dosagem hormonal, com níveis crescentes de progesterona.

Nos dias D 18 e D 21, não havia corpo lúteo e apresentou um folículo compatível com folículo pré-ovulatório no ovário esquerdo. Estava em proestro confirmado pela citologia vaginal. No D 23 ovulou, com muco cristalino, sem outras manifestações de comportamento de cio. A citologia vaginal demonstrou que esse foi o dia mais próximo do estro. Entre D 25 e D 28, estava em diestro, tinha a presença de corpo lúteo. Portanto verificou-se que o intervalo entre cios foi de 23 dias.

**Tabela 2** Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 1.

Fase do Ciclo Estral	Nº de Dias	Células da mucosa vaginal				
		Basal	Parabasal	Intermediária	Superficial Nucleada	Superficial Anucleada
Proestro	2	0,0	3,0	83,5	10,5	3,0
Estro	2	0,0	0,0	70,0	25,5	4,5
Metaestro	1	0,0	2,0	70,0	20,0	8,0
Diestro	8	0,0	2,8	84,1	10,8	2,3

Os níveis de progesterona sanguínea foram crescentes entre os D 0 e D 11, demonstrado na Tabela 4. Os níveis de estrógenos se mantiveram constantes em 0,1 pg/mL.

**Tabela 3** Valores hormonais do Animal 1.

Data	FSH (ng/mL)	LH (ng/mL)	Progesterona (ng/mL)	Estrógenos (pg/mL)
D 0	9,5	*	0,01	0,1
D 2	8,9	4,2	0,07	0,1
D 4	8,8	*	0,07	0,1
D 7	6,0	3,2	3,59	0,1
D 9	6,1	*	4,41	0,1
D 11	8,1	*	6,04	0,1

\*volume insuficiente para realização do exame

## 4.1.2 Animal 2

### 4.1.2.1 Histórico

O Animal 2 nasceu em 2000 no município de Ecoporanga, no Estado do Espírito Santo, foi trazida em 2005 a UFRRJ para fins de estudo.

Nesse período de acompanhamento (2005-2010) apresentou-se em boas condições de saúde, com peso médio de 352 kg. Embora deambulasse com facilidade, apresentava postura algo atípica, com apoio centrado em membros contralaterais anterior e posterior, direito e esquerdo, respectivamente, padrão que pode ser classificado como grau moderado da DE. Foram observadas alterações no comportamento de cio, com rara aceitação ou tentativa de monta. Das três vacas trabalhadas que apresentaram a DE, essa é a que evidenciava mais sinais de cio.

Houve a monta natural (08/08/2006) com um touro da raça Tabapuã. A gestação de duração de 285 dias transcorreu sem alterações, culminou com um parto distócico (20/05/2007) e a morte do neonato do sexo masculino por ser absolutamente grande, mas com morfologia normal.

Em dezembro de 2007, realizou-se exame ginecológico constatando-se que não estava gestante e apresentava corpo lúteo. Foi administrada prostaglandina e houve a monta natural três dias depois com um touro mestiço. A gestação transcorreu sem alterações, teve duração de 285 dias, com nascimento em 20/09/2008 de uma fêmea normal (Animal 4). A vaca não apresentou leite suficiente para amamentar, por isso a bezerra mamou também em outra vaca, sem nenhuma interferência humana.

### 4.1.2.2 Palpação retal, citologia vaginal e dosagem hormonal

O Animal 2 não estava gestante. Não foi observada aceitação ou tentativa de monta. Notou-se interesse pelo macho próximo a ovulação.

Pela citologia vaginal, nos D 0 e D 2 estava em proestro. No D 0 apresentou um folículo compatível com o folículo pré-ovulatório no ovário e no D 2 já havia ovulado. O dia mais próximo do estro, pela citologia vaginal, foi no D4. Apresentava corpo lúteo à palpação retal (tabela 5).

Entre o D 7 e D 18, pela citologia vaginal, estava em diestro, com grandes variações dos tipos celulares. A partir do D 9 houve uma diminuição do tamanho do corpo lúteo, sugerindo uma luteólise precoce.

No D 21 apresentava um folículo compatível com folículo pré-ovulatório no ovário, estava em estro sem aceitação da monta, confirmado pela citologia vaginal. No D 23 já havia ovulado e no D 23 e D 25, pela citologia vaginal, estava em metaestro. No D 28, pela citologia vaginal estava em diestro. Portanto, apresentou duas ovulações no período, com intervalo entreaios aproximado de 21 dias.

**Tabela 4** Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 2.

Fase do Ciclo Estral	Nº de Dias	Células da mucosa vaginal				
		Basal	Parabasa l	Intermediária	Superficial Nucleada	Superficial Anucleada
Proestro	3	0,0	2,0	61,3	26,0	10,7
Estro	2	0,0	0,5	26,5	44,5	28,5
Metaestro	1	0,0	0,0	78,0	21,0	1,0
Diestro	7	0,0	3,3	79,0	13,9	3,9

Os níveis de progesterona sanguínea foram crescentes entre o D 0 e D 4 e diminuíram nos dias posteriores como pode ser observado na Tabela 6. Os níveis de estrógenos se mantiveram constantes em 0,1 pg/mL.

**Tabela 5** Valores hormonais do Animal 2.

Data	FSH (ng/mL)	LH (ng/mL)	Progesterona (ng/mL)	Estrógenos (pg/mL)
D 0	9,0	*	9,23	0,1
D 2	6,0	*	9,05	0,1
D 4	4,0	*	13,49	0,1
D 7	8,2	*	0,05	0,1
D 9	8,2	*	0,01	0,1
D 11	12,2	*	0,01	0,1

\*volume insuficiente para realização deste exame.

### 4.1.3 Animal 3

#### 4.1.3.1 Histórico

O Animal 3 nasceu em 2004 no município de Ecoporanga, no Estado do Espírito Santo, foi trazida em 2005 a UFRRJ para fins de estudo, juntamente com os Animais 1 e 2. Era filha do Animal 1.

Nesse período de acompanhamento (2005-2010) apresentou-se em boas condições de saúde, peso médio de 321 kg após atingir a maturidade sexual, e foram observadas alterações no comportamento de cio, com raras observações de aceitação ou tentativa de monta. Esse animal sempre teve o desenvolvimento aquém do normal, mantendo escore corporal 3; apresentava leve déficit locomotor, eventualmente arrastando a pinça do casco direito com ocasional leve oscilação do trem posterior. Tinha certa dificuldade na apreensão e mastigação do alimento.

No ano de 2007 começou a apresentar sinais de cio e em 2008 ficou gestante após

cruzamento com um touro mestiço. O parto ocorreu em 2009, sem alterações.

#### 4.1.3.2 Palpação retal, citologia vaginal e dosagem hormonal

Ao exame ginecológico, o Animal 3 apresentou ovários pequenos, duros e lisos, (anestro lactacional). Pela citologia vaginal, notou-se uma estabilidade dos tipos celulares. Poucas alterações no número de células foram encontradas em decorrência das variações hormonais (tabelas 7).

**Tabela 6** Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 3.

Fase do Ciclo Estral	Nº de Dias	Células da mucosa vaginal				
		Basal	Parabasa I	Intermediária	Superficial Nucleada	Superficial Anucleada
Anestro	13	0,0	0,8	86,4	9,4	3,4

Através da citologia vaginal e com os dados do exame ginecológico e de comportamento sexual observou-se que o animal estava em anestro. Quanto aos níveis de progesterona foi de 0,01 ng/mL durante todo o período, já o de estrógeno foi de 0,1pg/mL, com exceção do dia 04/05/09 que teve um aumento para 1,16 pg/mL, mas sem manifestações de cio (tabela 8).

**Tabela 7** Valores hormonais do Animal 3.

Data	FSH (ng/mL)	LH (ng/mL)	Progesterona (ng/mL)	Estrógenos (pg/mL)
D 0	9,1	*	0,01	0,1
D 2	9,2	*	0,01	0,1
D 4	12,5	1,5	0,01	0,1
D 7	9,4	*	0,01	1,16
D 9	12,0	*	0,01	0,1
D 11	8,4	3	0,01	0,1

\*volume insuficiente para realização deste exame.

#### 4.1.4 Animal 4

##### 4.1.4.1 Histórico

O Animal 4 é descendente direto do Animal 2. Nascido na UFRRJ, no município de Seropédica, RJ em 2008. Foi amamentada pela mãe e por outras vacas, inclusive no Animal 3, sem nenhuma interferência humana.

Como essa neste período tinha 7 meses de idade, não realizou-se a palpação retal. Então realizou-se a citologia vaginal e a dosagem hormonal, com os seguintes resultados:

Aos 11 meses apresentou comportamento de cio, já pesava mais de 300 Kg. Desmamou aos 14 meses.

**Tabela 8** Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal do Animal 4.

Fase do Ciclo Estral	Nº de Dias	Células da mucosa vaginal				
		Basal	Parabasal	Intermediária	Superficial Nucleada	Superficial Anucleada
Anestro	13	0,2	2,8	87,0	6,9	3,2



O animal estava em anestro pela citologia vaginal (Tabela 9). Notou-se uma estabilidade dos tipos celulares. As alterações no número de células foram em decorrência das variações hormonais, como pode ser visto na Tabela 10. Os níveis de estrógenos mantiveram em 0,1 pg/mL durante todo o período de observação.

**Tabela 9** Valores hormonais do Animal 4.

Data	FSH (ng/mL)	LH (ng/mL)	Progesterona (ng/mL)	Estrógenos (pg/mL)
D0	9,0	*	0,01	0,1
D 2	9,4	*	0,01	0,1
D 4	8,2	6,9	0,08	0,1
D 7	8,4	*	0,01	0,1
D 9	9,3	*	0,01	0,1
D 11	10,0	7	0,04	0,1

\*volume insuficiente para realização deste exame.

#### 4.1.5 Diagnósticos diferenciais com DE

O Animal 1 foi o único reagente para BVD. Os animais foram reagentes para IBR, variando a titulação de 32 a 512, justificando a vulvovaginite encontrada. Apenas o Animal 4, não foi reagente, provavelmente devido a faixa etária da mesma que estava no período pré-púbere, nunca ocorreram coberturas ou IA.

**Tabela 10** Resultados sorológicos das doenças que causam transtornos reprodutivos e neurológicos em neonatos e bezerras, na primeira fase de observação.

Animal	Data da coleta	IBR	BVD	Língua Azul
Animal 1 (DE)	01/05/2009	32	20	NR
Animal 2 (DE)	04/05/2009	128	NR	NR
Animal 3 (DE)	01/05/2009	512	NR	NR
Animal 4 (DE)	27/04/2009	NR	NR	NR

NR= Não reagente

## 4.2 Segundo Período de Observação (Novembro/2009 a Fevereiro/2010)

### 4.2.1 Comportamento sexual

Os Animais 1, 2 e 3 apresentaram as seguintes características comportamentais de cio: descarga de muco vaginal, mugidos frequentes, intensa movimentação, aumento na frequência de micção; não apresentaram imobilidade durante a monta e o comportamento homossexual somente foi visualizado no Animal 2. Com relação aos sinais secundários de cio, os Animais 1, 2 e 3 não apresentaram agitação, cheirar a vulva de outra vaca, reflexo de Flehmen, apoio do queixo sobre o dorso de outra vaca, lambar, esfregar, comportamento agressivo como cabeçadas. Somente o Animal 2 aceitou a monta e foi montada, mas não durante todo o estro e somente nesse foi observada a presença da hemorragia do metaestro. Os Animais 5 e 6 apresentaram todas as características comportamentais de cio.

Os Animais 4 e 7 apesar de manifestarem alguns sinais de cio, apresentavam mesmo quando não estavam em cio e não havia intensificação dos mesmos quando em cio.

As manifestações comportamentais em todos os animais eram mais evidentes ao anoitecer e nas primeiras horas da manhã. Os animais 1, 2, 3 e 4, quando em cio, apresentavam também as patas posteriores mais abertas e maior permanência em decúbito esternal, o que não foi observado com os animais 5, 6 e 7. Somente os animais 1 e 7 não apresentaram interesse pelo macho.

O Animal 1 estava clinicamente saudável, antes do período D -9, estava em diestro e teve um quadro de salivação intensa, engasgos, mioclonias (crise convulsiva) durante 15 minutos e recuperou-se rapidamente, sem tratamento.

**Tabela 11** Comportamento sexual no segundo período de observação.

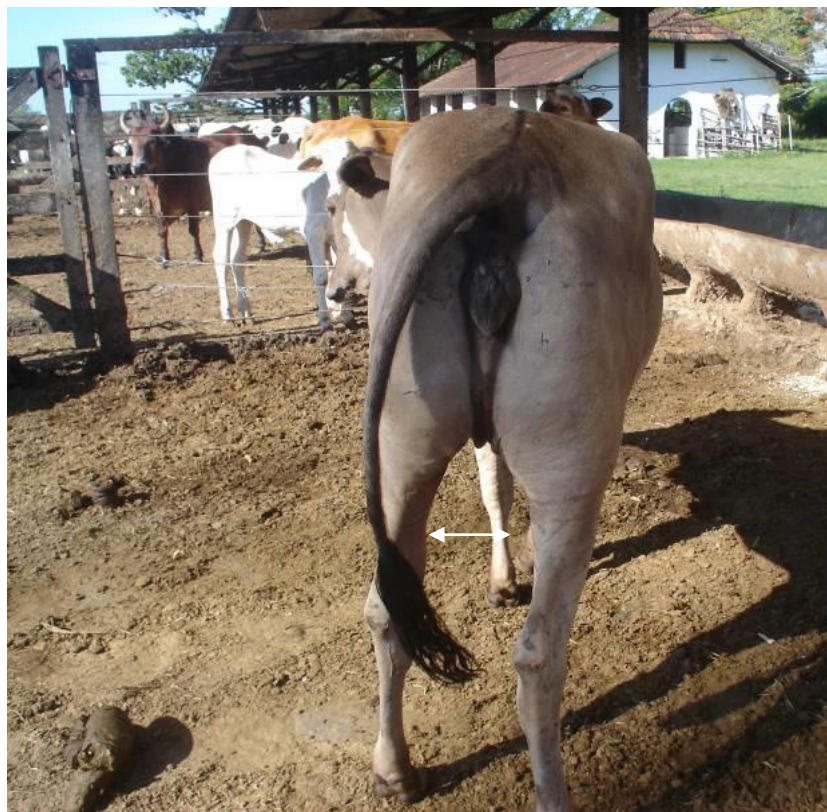
	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>
Manifestações comportamentais caracterizadas por (BARUSELLI et al., 2007):							
Comportamento homossexual	-	+	-	+	+	+	+
Descarga de muco vaginal	+	+	+	+	+	+	-
Mugidos frequentes	+	+	+	+	+	+	-
Intensa movimentação	+	+	+	+	+	+	-
Aumento na frequência de micção	+	+	+	+	+	+	-
Imobilidade durante a monta	-	-	-	-	+	+	-
Sinais secundários (VAN EERDENBURG et al., 1996; KERBRAT; DISENHAUS, 2004).							
Agitação	-	-	-	+	+	+	+
Cheirar a vulva de outra vaca	-	-	-	+	+	+	+
Flehmen	-	-	-	+	+	+	+
Apóia o queixo sobre o dorso de outra vaca	-	-	-	+	+	+	+
Monta e é montada, mas não permanente	-	+	-	+	+	+	+
Lambe	-	-	-	-	+	+	+
Esfrega	-	-	-	-	+	+	+
comportamento agressivo, como cabeçadas	-	-	-	+	+	+	+
Outros Sinais							
Maior manifestação de cio a noite e nas primeiras horas do dia	+	+	+	+	+	+	+
Patas posteriores mais abertas	+	+	+	+	-	-	-
Maior permanência em decúbito esternal	+	+	+	+	-	-	-
Interesse pelo macho	-	+	+	+	+	+	-



**Figura 3** Animal 1, dia 18/11/2009 (12:00), sem sinais de cio.



**Figura 4** Animal 1, dia 18/11/2009 (17:00), com sinais de cio, patas posteriores mais abertas.



**Figura 5** Animal 1, dia 19/11/2009 (8:30), com as patas mais abertas, cauda elevada e lateralizada.



**Figura 6** Animal 1, dia 19/11/2009 (11:00), sem sinais de cio.



**Figura 7** Animal 3, patas posteriores mais abertas e cauda elevada e lateralizada, características de cio.



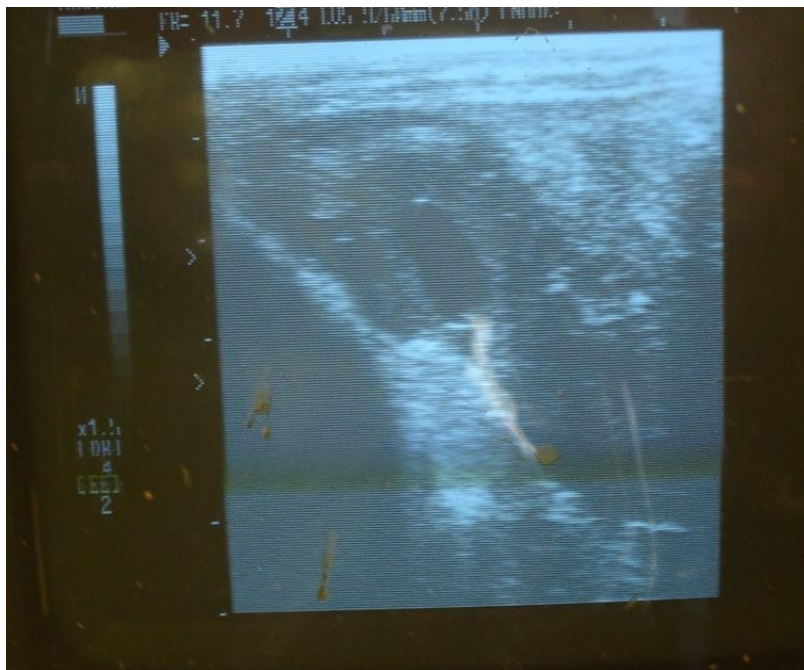
**Figura 8** Animal 3, Final de cio com cauda erguida e com as patas posteriores normais.

#### **4.2.2 Dinâmica folicular**

Os animais tiveram intervalo interovulatório variando entre 16 e 28 dias, número de ondas variou entre 2 e 5 ondas de crescimento folicular. O tamanho do folículo ovulatório foi de 8,0 até 14,5 mm. O tamanho do corpo lúteo foi de 9,0mm até 16,5 mm. O animal 6 apresentou manutenção do corpo lúteo e ovulação da primeira onda de crescimento folicular

com a formação de um segundo corpo lúteo, na véspera de cada ovulação foi observado o animal em cio com aceitação da monta, entre outros sinais de cio também observados.

No Animal 1, o tamanho do folículo ovulatório 1 e 2 foi, respectivamente, 11,5 e 8,0 mm. Os diâmetros máximos dos corpos lúteos foram de 14,0 e 11,5mm. A dinâmica folicular foi realizada em apenas um ciclo estral completo, pois no segundo ciclo estral, a partir do dia 10/01/10 (D12), começou o espessamento da parede folicular; nos dias 11, 12, 13 e 14/01/10, formando um cisto confirmado pelo ultrassom como cisto luteínico (Figura 10). Este estava localizado no ovário direito e tinha 17 mm de diâmetro. Para lisar o cisto luteínico aplicou-se prostaglandina no dia 14/01/10, saindo do protocolo inicial.



**Figura 9** Dia 11/01/10, imagem ultrassonográfica do cisto luteínico, do Animal 1.

No Animal 2, os tamanhos dos folículos ovulatórios mediram, 11,0; 12,0 e 12,5mm. Os diâmetros máximos dos corpos lúteos foram 14,5 mm, alcançado no D6, e de 15,0 mm, no D9.

No Animal 3, os tamanhos dos folículos ovulatórios, mediram respectivamente, 9,0; 11,5 e 12,0 mm. O diâmetro máximo do corpo lúteo do primeiro ciclo estral (CL 1) foi de 14,5 mm alcançado no D 7 e do segundo ciclo estral (CL 2), foi de 14,5 mm no D6.

No Animal 4, os tamanhos dos folículos ovulatórios mediram, 8,5; 14,0 e 10,5 mm. O diâmetro máximo do corpo lúteo do primeiro ciclo (CL 1) foi de 13,0 mm alcançado no D 8 e do segundo ciclo (CL 2), foi de 12,5 mm no D7.

No Animal 5, os tamanhos dos folículos ovulatórios mediram, 14,5; 13,5 e 11,5 mm. O diâmetro máximo do corpo lúteo do primeiro ciclo estral (CL 1) foi de 15,0 mm, alcançado no D 4, e do segundo ciclo estral (CL 2), foi de 15,0 mm no D6, ambos no ovário direito.

No Animal 6, os tamanhos dos folículos ovulatórios mediram, 9,5; 9,5; 10,0; 10,0 e 10,5 mm. Os diâmetros máximos dos corpos lúteos do primeiro ciclo estral foram de 14,5 mm (CL 1) alcançado no D 5 e de 9,0 mm (CL 2) no D 10.

No Animal 7, os tamanhos dos folículos ovulatórios mediram, 12,0; 12,0 e 13,0 mm. O diâmetro máximo do corpo lúteo do primeiro ciclo (CL 1) foi de 12,5 mm, alcançado em D 4 e do segundo ciclo (CL 2), foi de 12,5 mm em D1, ambos no ovário direito.

**Tabela 12** Intervalo interovulatório, número de ondas de crescimento folicular, tamanhos dos folículos ovulatórios e dos corpos lúteos.

	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>
<b>Intervalo interovulatório (dias)</b>							
1º.Ciclo	21	20	19	17	23	28	16
2º.Ciclo	-	19	22	17	20	21	21
<b>Nº de ondas</b>							
1º.Ciclo	5	5	3	3	3	3	2
2º.Ciclo	-	3	3	2	3	3	4
<b>Folículo Ovulatório</b>							
Fov 1	11,5	11,0	9,0	8,5	14,5	9,5	12,0
Fov 2	8,0	12,0	11,5	14,0	13,5	9,5	12,0
Fov 3		12,5	12,0	10,5	11,5	10,0	13,0
Fov 4						10,0	
Fov 5						10,5	
<b>Corpo Lúteo</b>							
CL 1	14,0	14,5	14,5	13,0	15,0	14,5	12,5
CL 2	11,5	15,0	14,5	12,5	15,0	9,0	12,5
CL 3						16,5	
CL 4						10,5	

Nos animais os tamanhos dos folículos dominantes variaram de 7,5 a 14,0 mm. Já os tamanhos dos folículos subordinados variaram de 4,5 a 8,5 mm.

**Tabela 13** Tamanhos dos folículos dominantes e subordinados

	<b>Animal 1</b>	<b>Animal 2</b>	<b>Animal 3</b>	<b>Animal 4</b>	<b>Animal 5</b>	<b>Animal 6</b>	<b>Animal 7</b>
<b>Tamanho máximo do FD</b>							
<b>Fov 1</b>	11,5	11,0	9,0	8,5	14,5	9,5	12,0
<b>FD 1</b>	7,5	8,0	9,0	9,5	12,5	9,5	13,5
<b>FD 2</b>	10,0	9,5	10,0	13,0	12,0	8,0	12,0
<b>FD 3</b>	7,5	9,0	11,5	14,0	13,5	10,0	9,5
<b>FD 4</b>	8,0	8,0	10,0	11,5	11,5	10,0	11,0
<b>FD 5</b>	8,0	12,0	9,5	10,5	10,0	8,0	10,5
<b>FD 6</b>		10,5	12,0		11,5	10,5	13,0
<b>FD 7</b>		8,0					
<b>FD 8</b>		12,5					
<b>Tamanho máximo do FS</b>							
<b>FS 1</b>	6,5	5,5	5,5	5,5	7,0	4,5	5,5
<b>FS 2</b>	4,5	5,5	7,0	7,5	6,5	5,0	5,5
<b>FS 3</b>	5,5	6,5	5,0	6,0	6,5	5,5	6,5
<b>FS 4</b>	5,0	7,0	6,0	7,5	8,5	4,5	7,0
<b>FS 5</b>	7,0	5,0	5,5	7,5	7,5	6,5	6,5
<b>FS 6</b>		7,0	5,0		6,0	4,5	5,0
<b>FS 7</b>		5,5					
<b>FS 8</b>		7,0					

Na observação das características foliculares, o dia de emergência, dia de atresia, comprimento de ondas, taxa de crescimento e taxa de atresia foram diferentes entre os animais e também entre os ciclos do mesmo animal.

**Tabela 14** Características foliculares.

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7
<b>Onda</b>	<b>Dia de Emergência</b>						
1	D 1	D 3	D 1	D 1	D 0	D 5	D 7
2	D 4	D 5	D 9	D 5	D 6	D 12	D 11
3	D 11	D 7	D 16	D 12	D 18	D 22	D 2
4	D 15	D 11	D 2	D 1	D 0	D 2	D 8
5	D 19	D 15	D 13	D 12	D 8	D 10	D 12
6		D 2	D 15		D 12	D 17	D 14
7		D 10					
8		D 15					
<b>Onda</b>	<b>Comprimento de onda (dias)</b>						
1	6	1	11	7	9	3	9
2	10	5	9	9	7	9	5
3	6	4	3	5	5	6	10
4	9	5	11	13	9	4	3
5	2	5	7	5	11	11	4
6		11	7		8	4	7
7		6					
8		4					
<b>Onda</b>	<b>Taxa de crescimento (mm/dia)</b>						
1	0,75	3,50	0,80	1,17	1,00	4,00	2,25
2	1,50	2,50	1,50	1,70	2,67	1,00	1,60
3	0,63	1,67	2,00	1,90	1,70	1,00	1,38
4	2,00	1,17	1,50	0,68	1,40	1,50	3,00
5	1,75	2,00	1,13	1,30	2,00	0,50	4,50
6		1,10	1,14		0,94	1,63	1,70
7		0,50					
8		2,83					
<b>Onda</b>	<b>Taxa de atresia (mm/dia)</b>						
1	1,50	1,00	0,58	1,38	3,75	-	1,50
2	0,92	1,33	1,20	2,00	1,88	0,67	-
3	1,50	4,50	-	-	-	-	0,92
4	0,57	1,00	0,86	3,50	1,75	-	2,00
5	-	-	1,50	-	0,75	1,00	1,67
6		1,08	-		-	-	-
7		1,00					
8		-					
<b>Onda</b>	<b>Dia inicial de atresia</b>						
1	D 6	D 6	D 7	D 5	D 8	-	D 12
2	D 10	D 8	D 14	D 11	D 10	D 17	-
3	D 16	D 11	-	-	-	-	D 8
4	D 18	D 15	D 7	D 13	D 6	-	D 11
5	-	-	D 18	-	D 12	D 18	D 15
6		D 8	-		-	-	-
7		D 14					
8		-					

### 4.2.3 Dosagem hormonal

#### 4.2.3.1 No primeiro ciclo estral

Nos Animais 1, 2, 4, 5 e 6, os níveis de progesterona sanguínea foram crescentes entre D0 e D14, decaindo no D 20 no Animal 1, no D19 no Animal 2, no D 16 no Animal 4, no D 21 no Animal 5 e 6.

No Animal 3, os níveis de progesterona sanguínea foram crescentes entre os D 1 e D 7,



decaindo até o D 0 do ciclo posterior. No Animal 7, os níveis de progesterona sanguínea estiveram inferiores 0,12 ng/mL.

**Tabela 15** Dosagem de progesterona sanguínea

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7
<b>Dia</b>	<b>Progesterona (ng/mL)</b>						
<b>D 0</b>	0,07	0,27	-	0,03	0,1	< 0,01	0,05
<b>D 1</b>	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<b>D 7</b>	1,67	1,25	1,92	0,16	2,71	0,03	0,04
<b>D 8</b>	-	-	-	-	-	0,16	-
<b>D 14</b>	3,61	4,5	1,31	0,24	4,26	2,65	0,02
<b>D 15</b>	-	-	-	-	-	-	< 0,01
<b>D 16</b>	-	-	-	0,06	-	-	-
<b>D 18</b>	-	-	0,24	-	-	-	-
<b>D 19</b>	-	0,21	-	-	-	-	-
<b>D 20</b>	0,71	-	-	-	-	-	-
<b>D 21</b>	-	-	-	-	0,26	2,22	-
<b>D 22</b>	-	-	-	-	0,13	-	-
<b>D 27</b>	-	-	-	-	-	0,05	-

Os níveis de estrógenos em todos os animais se mantiveram inferiores a 2,0 pg/mL, exceto no Animal 2 no D 7, que alcançou 5,7 pg/mL (Tabela 17).

**Tabela 16** Dosagem de estrógenos sanguíneos

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7
<b>Dia</b>	<b>Estrógenos (pg/mL)</b>						
<b>D 0</b>	< 2,0	< 2,0	-	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
<b>D 1</b>	-	-	< 2,0	-	-	-	-
<b>D 7</b>	< 2,0	5,7	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
<b>D 8</b>	-	-	-	-	-	< 2,0	-
<b>D 14</b>	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
<b>D 15</b>	-	-	-	-	-	-	< 2,0
<b>D 16</b>	-	-	-	< 2,0	-	-	-
<b>D 18</b>	-	-	< 2,0	-	-	-	-
<b>D 19</b>	-	< 2,0	-	-	-	-	-
<b>D 20</b>	< 2,0	< 2,0	-	-	-	-	-
<b>D 21</b>	-	-	-	-	< 2,0	< 2,0	-
<b>D 22</b>	-	-	-	-	< 2,0	-	-
<b>D 27</b>	-	-	-	-	-	< 2,0	-

#### 4.2.3.2 No segundo ciclo estral

Nos Animais 1, 2, 3 e 6, os níveis de progesterona sanguínea foram crescentes entre D0 e D14, decaindo no D 18 no Animal 2, no D 20 no Animal 3, no D 20 no Animal 6. Sendo que no Animal 1 foi observado a presença do cisto luteínico. O animal 6 apresentou uma ovulação na primeira onda folicular, depois dessa ovulação nota-se o aumento dos níveis de progesterona.

No Animal 4, os níveis de progesterona sanguínea se mantiveram com diferenças mínimas entre os D 0, D 7, D 14, alcançando valor inferior 0,01 ng/mL no D 16. No D 0 a concentração tornou a aumentar.

No Animal 5, os níveis de progesterona sanguínea foram crescentes entre D 0 e D 19, exceto em D 14 que teve uma queda na concentração. No D 0 seguinte apresentava uma

concentração de progesterona sanguínea de 3,30 ng/mL.

No Animal 7, os níveis de progesterona sanguínea estiveram inferiores 0,12 ng/mL.

**Tabela 17** Dosagem de progesterona sanguínea, no segundo ciclo estral observado.

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7
<b>Dia</b>	<b>Progesterona (ng/mL)</b>						
<b>D 0</b>	0,39	0,13	0,09	0,01	< 0,02	0,13	0,04
<b>D 6</b>	-	-	-	-	-	0,77	-
<b>D 7</b>	0,35	6,89	1,46	0,03	2,83	1,51	0,03
<b>D 14</b>	2,83	7,34	2,49	0,02	1,48	5,98	< 0,01
<b>D 16</b>	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<b>D 18</b>	-	0,28	-	-	-	-	-
<b>D 19</b>	-	-	-	-	3,24	-	-
<b>D 20</b>	-	-	0,39	-	-	0,21	0,07
<b>D 0</b>	-	0,36	0,09	0,11	3,3	0,02	0,12

Os níveis de estrógenos em todos os animais se mantiveram inferiores a 2,0 pg/mL.

**Tabela 18** Dosagem de estrógenos sanguíneos, no segundo ciclo estral observado.

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7
<b>Dia</b>	<b>Estrógenos (pg/mL)</b>						
<b>D 0</b>	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
<b>D 6</b>	-	-	-	-	-	< 2,0	-
<b>D 7</b>	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
<b>D 14</b>	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
<b>D 16</b>	-	-	-	< 2,0	-	-	-
<b>D 18</b>	-	< 2,0	-	-	-	-	-
<b>D 19</b>	-	-	-	-	< 2,0	-	-
<b>D 20</b>	-	-	< 2,0	-	-	< 2,0	< 2,0
<b>D 0</b>	-	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0

#### 4.2.4 Resposta à prostaglandina e sinais de cobertura

Após a aplicação de *prostaglandina* somente os Animais 1 e 3 apresentaram reação ao produto com alteração de comportamento. No Animal 1, após cinco minutos da administração de PGF2 $\alpha$ , foram observadas mudanças acentuadas no comportamento, como inquietação, respiração profunda, mugir frequente, cauda elevada, contração do abdômen, salivação, defecação constante, investidas contra a cerca, comportamento de macho. Este comportamento agitado e de macho permaneceu por 12 horas. Já no Animal 3, 30 minutos depois da aplicação do produto foram observadas mudanças acentuadas no comportamento, como agitação, mugir freqüente, comportamento de macho e agressividade.

**Tabela 19** Resposta a prostaglandina e sinais de cobertura.

	Dias decorridos entre aplicação de PGF 2 $\alpha$ e a ovulação	Tamanho do Fov (mm)	Reação a prostaglandina	Sinais de cobertura
Animal 1	5	11,5	Presente	Positivo
Animal 2	4	13,0	Ausente	Negativo
	3	12,0	Ausente	Positivo
Animal 3	3	10,5	Presente	Positivo
Animal 4	3	13,0	Ausente	Negativo
Animal 5	4	14,5	Ausente	Positivo
Animal 6	5	12,5	Ausente	Positivo
Animal 7	4	14,5	Ausente	Negativo

O tempo decorrido entre a aplicação de prostaglandina e a ovulação variou entre 3 e 5 dias e o tamanho do folículo ovulatório variou entre 10,5 e 14,5 mm.

O Animal 1, no D 1, à tarde, apresentou as patas posteriores mais abertas. No D0 demonstrou cio, com descarga de muco vaginal, cauda flácida, micção freqüente, agitação, sem reflexo de Flehmen e sem agressividade. Além disso, apresentou patas posteriores mais abertas, mas não aceitou a monta durante todo o estro. Pelo exame de ultrassonografia detectou-se o tamanho do folículo ovulatório (Fov) - 11,5mm (D 0), e no D1 a fêmea havia ovulado e com sinais de cobertura na garupa, o que foi confirmado pela citologia vaginal.

No Animal 2, após a aplicação de PGF2 $\alpha$ , no D 0 (cio), detectou-se descarga de muco vaginal, intensa movimentação, aumento na freqüência de micção, maior permanência em decúbito esternal, comportamento de se aproximar do macho. Não houve aceitação ou tentativa de monta e nem o animal apresentou o comportamento característico observado nos estros anteriores de patas posteriores mais abertas. As manifestações comportamentais eram mais evidentes ao anoitecer e nas primeiras horas da manhã. O tamanho do folículo ovulatório foi de 13,0 mm. Neste período foi utilizado um touro como rufião ( 7:00, 13:00 e 17:00 horas), para detectar o cio com posterior tentativa de cobertura. No segundo protocolo de prostaglandina, já no D 0 estava em cio; detectaram-se descarga de muco vaginal, intensa movimentação, aumento na freqüência de micção, maior permanência em decúbito esternal, comportamento de se aproximar do macho, sem comportamento homossexual. Não aceitou a monta durante todo o estro. Não apresentou o comportamento característico observado nos estros anteriores, de patas posteriores mais abertas. As manifestações comportamentais eram mais evidentes ao anoitecer e nas primeiras horas da manhã. O tamanho do folículo ovulatório foi de 12,0 mm.

No Animal 3, durante o cio, detectaram-se descarga de muco vaginal, intensa movimentação, aumento na freqüência de micção, maior permanência em decúbito esternal, as patas posteriores mais abertas, comportamento de se aproximar do macho, aceitação da monta e cruzamento durante o dia. O tamanho do folículo ovulatório foi de 10,5 mm.

No Animal 4, após a aplicação de prostaglandina, não houve sinais de cio; verificou-se edema vulvar acentuado e o diâmetro do folículo ovulatório de 13,0mm.

No Animal 5, após a aplicação de prostaglandina, detectaram-se, durante o cio, descarga de muco vaginal, mugidos freqüentes, intensa movimentação, aumento na freqüência de micção, comportamento de se aproximar do macho, interesse do macho, imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, agitação, o cheirar a vulva de outra vaca, reflexo de Flehmen, apoio do queixo sobre o dorso de outra vaca, lambar e esfregar da vulva, e apresentou comportamento agressivo. As manifestações comportamentais eram mais evidentes ao anoitecer e nas primeiras horas da manhã, durante a noite houve o cruzamento com sinais de cobertura pela manhã, também foi notado que não aceitou a monta durante todo estro. O tamanho do folículo ovulatório foi de 14,5 mm no D 0.

No Animal 6, após a aplicação de prostaglandina, foi observado o cio no D 0. Detectaram-se descarga de muco vaginal, mugidos frequentes, intensa movimentação, aumento na frequência de micção, comportamento de se aproximar do macho, imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, agitação, o cheirar a vulva de outra vaca, reflexo de Flehmen, apoio do queixo sobre o dorso de outra vaca, lambar e esfregar da vulva, também apresentou comportamento agressivo e de macho. As manifestações comportamentais foram mais evidentes ao anoitecer e nas primeiras horas da manhã; também foi notado que esse animal não aceitou a monta durante todo estro. O tamanho do folículo ovulatório foi de 12,5 mm.

No Animal 7, foi feita a aplicação de prostaglandina no D 6, após a qual nenhuma alteração foi observada. Três dias após aplicação de PGF $2\alpha$  esse animal apresentou cio com comportamento usual, semelhante ao descrito anteriormente. O tamanho do folículo ovulatório foi de 14,5 mm.

#### **4.2.5 Citologia vaginal**

Os tipos celulares envolvidos em cada fase do ciclo estral por animal estão demonstrado na tabela 21. Os animais tiveram um número elevado de bactérias e neutrófilos durante todo o período na citologia vaginal devido ao quadro clínico de vulvovaginite.

**Tabela 20** Tipos celulares por fase do ciclo estral na citologia vaginal, durante o segundo período de observação, com e sem administração de Prostaglandina.

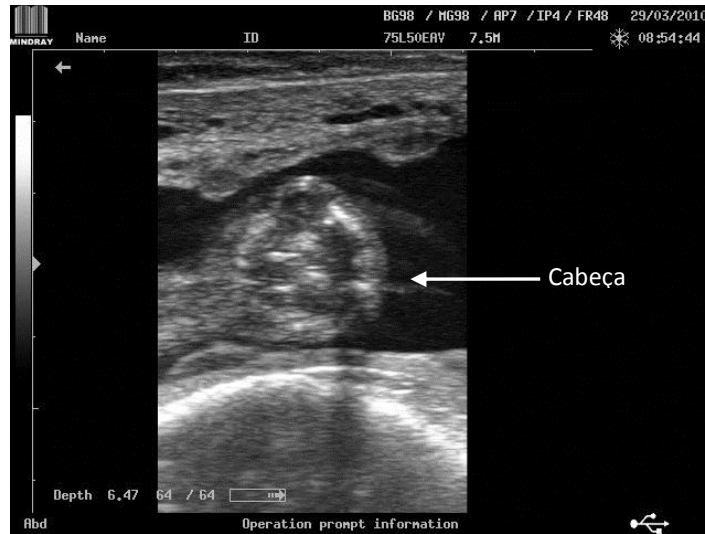
Fase do Ciclo Estral	Nº de Dias	Basal	Parabasal	Intermediária	Superficial Nucleada	Superficial Anucleada
<b>Animal 1</b>						
Proestro	5	0,0	5,4	72,4	19,4	2,8
Estro	5	0,0	1,2	37,6	44,8	18,4
Metaestro	3	0,0	1,3	78,7	16,3	3,7
Diestro	7	0,0	8,1	78,6	11,1	2,1
<b>Animal 2</b>						
Proestro	3	0,0	1,8	46,8	46,4	5,0
Estro	6	0,0	1,4	34,7	42,4	21,4
Metaestro	6	0,0	0,9	68,0	25,1	6,0
Diestro	12	0,0	5,3	77,4	13,1	4,3
<b>Animal 3</b>						
Proestro	6	0,0	1,8	69,0	23,2	6,0
Estro	5	0,0	5,0	57,8	25,6	11,6
Metaestro	6	0,0	4,7	77,6	13,8	3,6
Diestro	9	0,0	1,8	71,8	17,5	8,9
<b>Animal 4</b>						
Proestro	18	0,0	2,7	57,9	30,0	9,4
Estro	6	0,0	2,0	42,2	26,5	29,3
Metaestro	5	0,0	1,8	71,8	21,4	5,0
Diestro	4	0,0	3,0	83,0	10,8	3,3
<b>Animal 5</b>						
Proestro	7	0,0	0,6	40,5	36,3	22,6
Estro	7	0,0	0,0	29,1	37,6	33,3
Metaestro	4	0,0	3,0	60,3	20,0	16,8
Diestro	12	0,0	0,7	54,3	29,4	15,7
<b>Animal 6</b>						
Proestro	17	0,0	3,2	65,6	24,3	7,0
Estro	6	0,0	0,3	23,7	21,3	54,7
Metaestro	3	0,0	1,2	65,5	24,0	9,3
Diestro	18	0,0	2,9	72,8	19,5	4,8
<b>Animal 7</b>						
Proestro	8	0,0	1,1	64,6	24,4	9,8
Estro	5	0,0	1,8	43,8	28,8	25,6
Metaestro	4	0,0	1,3	82,0	15,0	1,8
Diestro	7	0,0	2,4	70,1	22,3	5,1

#### 4.2.6 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado através da palpação retal e com o auxílio do exame de ultrassonografia (Tabela 21, Figura 10 e 11).

**Tabela 21** Sinais de cobertura e diagnóstico de gestação.

	Sinais de cobertura	Diagnóstico de Gestação
Animal 1	Positivo	Positivo
Animal 2	Positivo	Positivo
Animal 3	Positivo	Positivo
Animal 4	Negativo	Negativo
Animal 5	Positivo	Positivo
Animal 6	Positivo	Positivo
Animal 7	Negativo	Negativo



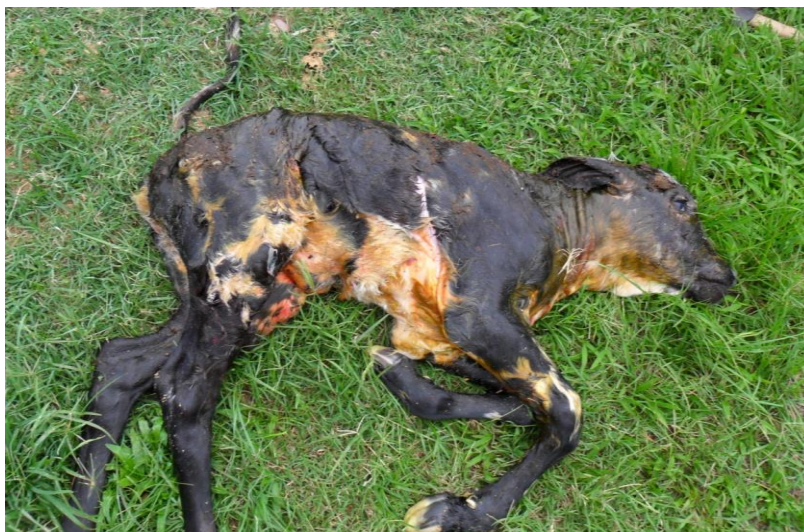
**Figura 10** Visualização da cabeça fetal com 70 dias de gestação, do Animal 1.



**Figura 11** Animal 3 - Imagem ultrassonográfica do embrião com 59 dias de gestação.

#### 4.2.7 Parto

No Animal 2, após 290 dias de gestação, ocorreu um parto distócico, que culminou com a morte fetal da bezerra de aproximadamente 40 kg (Figura 12). Ocorreu retenção de placenta, com posterior anorexia e hipertermia. Na necropsia da bezerra observou-se macroscopicamente assimetria cerebelar.



**Figura 12** Foto do natimorto oriundo de um parto distócico do Animal 2.

No Animal 3, após 294 dias de gestação, ocorreu o parto normal, nasceu uma bezerra de tamanho normal, pesando aproximadamente 30 kg (Figura 13).



**Figura 13** Animal 3 – Imagem da vaca e da bezerra pós-parto.

O Animal 5, após 288 dias de gestação, deu à luz, após parto normal, um bezerro de tamanho normal, pesando aproximadamente 35 kg (Figura 14).



**Figura 14** Animal 5 e o bezerro logo após o parto.

No Animal 6, após 293 dias de gestação, ocorreu um parto normal, que culminou com o nascimento de um bezerro de tamanho normal, pesando aproximadamente 30 kg (Figura 15).



**Figura 15** Animal 6 e seu bezerro logo após o parto.

#### **4.2.8 Óbito do Animal 1**

A vaca veio a óbito no dia 18/05/2010 pela manhã; na observação diária, por volta das 17:30 h do dia anterior, não foi registrada nenhuma anormalidade. Os achados macroscópicos da necropsia foram atrofia assimétrica moderada do hemisfério cerebral esquerdo inclusive cerebello moderadamente hipoplásico, sobretudo no lado esquerdo, sem outras alterações nos demais órgãos. Não foi possível estabelecer, com base, no exame macroscópico, a “causa mortis”.

Quanto ao trato reprodutivo se observou agenesia de anéis cervicais (Figura 16). O



tamanho de 26,5 cm, era compatível com o de um feto normal de quatro meses, sem alterações macroscópicas, exceto no cerebelo, que também apresentava áreas de defecção e assimetria.



**Figura 16** Agnesia de anéis cervicais do Animal 1.

#### **4.3 Diagnóstico Diferencial**

Os resultados referentes às doenças virais que deveriam ser consideradas no diagnóstico diferencial com a DE encontram-se na Tabela 22. O animal 1 foi o único reagente para Diarréia Viral Bovina, ainda assim concebeu e gestou, mas veio a óbito sem causa aparente, e o feto não apresentou malformação congênita.

Os Animais 4 e 7 foram reagentes para Doença da Língua Azul, tendo o primeiro apresentado linfonodos aumentados detectados durante a palpação retal e diarréia fétida persistente. Todos os animais foram reagentes ao IBR, com títulos altos, o que significa atividade vírica no rebanho. Nenhuma dessas condições, todavia apresenta aspectos epidemiológicos e clinico-patológicos comparáveis aos verificados em animais com DE. O mesmo pode ser dito de eventuais intoxicações por plantas ou em relação às deficiências minerais e vitamínicas. Além disso, o fato da doença restringir-se a fêmeas, filhas de um mesmo touro, por si só, define que trata-se de uma doença hereditária.

**Tabela 22** Dados referentes as doenças que compõem o diagnóstico diferencial com DE.

<b>Animal</b>	<b>Data</b>	<b>IBR</b>	<b>BVD</b>	<b>Língua Azul</b>
Animal 1	09/12/2009	256	20	NR
	30/12/2009	64	40	NR
	13/01/2010	128	40	NR
Animal 2	30/11/2009	64	NR	NR
	19/12/2009	128	NR	NR
	05/01/2010	32	NR	NR
Animal 3	13/12/2009	64	NR	NR
	31/12/2009	256	NR	NR
	18/01/2010	512	NR	NR
Animal 4	20/12/2009	16	NR	Reagente
	06/01/2010	64	NR	Reagente
	20/01/2010	64	NR	Reagente
Animal 5	03/12/2009	128	NR	NR
	28/12/2009	128	NR	NR
	12/01/2010	1024	NR	NR
Animal 6	21/12/2009	128	NR	NR
	30/12/2009	256	NR	NR
	05/02/2010	128	NR	NR
Animal 7	08/12/2009	NR	NR	Reagente
	28/12/2009	128	NR	Reagente
	11/01/2010	128	NR	Reagente
Touro	21/06/2010	NR	NR	NR

NR= Não Reagente

## 5 DISCUSSÃO

No que se refere ao comportamento sexual as vacas de Ecoporanga, verificou-se que há algumas diferenças do que se observa em vacas normais no período de cio. Dentro dos chamados *sinais primários* do estro (BARUSELLI et al., 2007), chamou especial atenção o fato de que as vacas com DE não permaneciam imóveis durante a monta. Adicionalmente, os Animais 1 e 3 não apresentavam naturalmente (sem indução) o comportamento homossexual, que normalmente ocorre em vacas no período de estro. Porém, esses mesmos Animais (1 e 3) evidenciaram comportamento de macho logo após (30 minutos) a aplicação de prostaglandina. Além disso, constataram-se, após a indução, claros sinais de cio como evidente interesse pelo macho (perseguição).

Em relação aos *sinais secundários* de estro (KERBRAT; DISENHAUS, 2004) nenhum dos animais afetados pela DE evidenciou agitação, cheirar de vulva de outra vaca, reflexo de Flehmen, apoio do queixo sobre o dorso de outra vaca, lambar, esfregar e comportamento agressivo. Apenas o Animal 2 aceitou a monta e foi montado e, mesmo assim, não o fez durante todo o estro. Dessa forma, fica claro que há evidentes modificações no comportamento sexual das vacas com DE, que inclusive, dificultam a identificação do cio.

Outro aspecto peculiar, mas não relacionada à reprodução, foi a observação de que, em todos os três animais afetados, houve marcada *reação* (caracterizada por imobilidade de início, pelos eriçados, salivação excessiva e nistagmo), entre 15 e 30 minutos após a aplicação da *vacina contra febre aftosa*. O Animal 3, inclusive, sofreu quedas após deambulação compulsiva, com certo grau de agressividade, logo após a aplicação. O Animal 1 desenvolveu uma espécie de crise convulsiva com queda e movimentos de pedalagem. Reação semelhante também foi observada nos Animais 1 e 3 logo após aplicação de ivermectina. Não sabemos exatamente a que atribuir esses episódios, mas é possível que haja relação com as malformações do SNC.

No que se refere ao risco de disseminação da DE, pode-se dizer que animais muito afetados não estariam aptos a reproduzir, porém há alguma possibilidade de animais que apresentem uma forma mais branda cruzarem e, por consequência, passarem o gen mutante. De qualquer forma, esses animais permanecem confinados, sob estrita vigilância para evitar que, ainda hoje, exista qualquer possibilidade de dispersão dos gens mutantes. Não é possível, contudo, ter certeza que não houve passagem do gen mutante, através de animais pouco afetados clinicamente, ainda na fazenda onde surgiu a DE. Pelo menos de acordo com o proprietário e com o veterinário da fazenda, os animais afetados teriam morrido espontaneamente ou foram abatidos.

A avaliação detalhada da dinâmica folicular, por meio da dosagem de progesterona e de estrogênio plasmático e do exame ultrassonográfico não revelou diferenças em relação do que normalmente tem sido descrito para vacas normais.

Através do estudo dos perfis celulares relacionados às diferentes fases do ciclo estral também não identificaram-se alterações na morfologia das células, nem nos tipos celulares presentes no epitélio vaginal.

O óbito do Animal 1, após o segundo período de observação, enquanto ainda gestante, confirmou a natureza atrófica ou hipoplásica da enfermidade já descrita por Melo (2006), uma vez que, à necropsia, havia evidente assimetria entre os hemisférios cerebrais e no cerebelo. Adicionalmente observou-se agenesia de anéis cervicais. Não se sabe se há alguma relação entre essa alteração uterina e a DE, de vez que, embora diversos animais com DE tenham sido necropsiados (Melo, 2006), não houve preocupação em checar esse aspecto. Esse tipo de alteração, porém, têm sido associada a alterações genéticas e à consanguinidade.

Os exames relativos à detecção de anticorpos virais só foram feitos como um complemento, para enriquecer a dissertação. Já não havia evidências epidemiológicas e clínico-patológicas de que as alterações físico-comportamentais das vacas com DE, guardasse maior semelhança com doenças virais como BVD e outras. Na verdade, pode-se descartar, de forma definitiva, a possibilidade de as alterações morfológicas observadas nos animais com DE serem determinadas por agentes virais, por plantas tóxicas e outros agentes tóxicos ou, mesmo, por deficiência nutricional, pelo simples fato de ser impossível que essas condições se restringissem apenas às fêmeas, todas elas filhas do mesmo touro.

De qualquer maneira, é desejável a manutenção controlada em confinamento e a promoção de cruzamentos consangüíneos entre animais afetados e/ou portadores do gen mutante responsável pela DE, com o objetivo de verificar como se transmite esse gen, o que só será possível por meio do estudo de um maior número de descendentes. De qualquer forma, só com base nesses resultados futuros, se poderá saber se a DE pode, ou não, servir como modelo experimental para estudo da Síndrome de Rett.

## 6 CONCLUSÕES

Em relação aos parâmetros normais da espécie bovina, não foram observadas alterações relativas à dinâmica folicular, à dosagem hormonal e à citologia vaginal em animais afetados pela Doença de Ecoporanga.

Detectaram-se modificações no comportamento sexual, sobretudo no estro, bem como reação atípica à vacinação e à aplicação de prostaglandina em animais com DE.

Há alguma possibilidade de animais afetados de forma mais branda pela DE cruzarem e, por consequência, passarem o gen mutante.

É ainda necessária a promoção de cruzamentos consangüíneos entre animais afetados e/ou portadores do gen mutante responsável pela DE, com o objetivo de verificar como se transmite esse gen. O estudo das características genéticas da DE parece promissor, todavia, só com base em um maior número de cruzamentos, se poderá saber, com certeza, se a DE pode, ou não, servir como modelo experimental para estudo da Síndrome de Rett.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, G.P. et al. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction Fertility*, v. 94, p.177-188, 1992.
- ADAMS, G.P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implications for synchronization and superstimulation. *Theriogenology*, v. 41, p.19-24, 1994.
- ADASHI, E.Y. The IGF family and folliculogenesis. *Journal of Reproductive Immunology*, v. 39, p. 13–19, 1998.
- ALFIERI, A.A. et al. Reoviridae. In: Flores E.F. (Ed.). *Virologia Veterinária*. Santa Maria. UFSM. p. 773-807, 2007.
- AMIR, R.E.; VAN DEN VEYVER, I.B.; WAN, M.; TRAN, C.Q.; FRANCKE, U.; ZOGHBI, HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nature Genetics*, v. 23, n. 2, p.185-188, 1999.
- ARMSTRONG, D.G; WEBB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviews of Reproduction*, v. 2 , p. 139–146, 1997.
- BADMAN, R.T.; MITCHELL, G; JONES, R.T. Association of bovine viral diarrhoea virus infection to hydranencephaly and other central nervous system lesions in perinatal calves. *Australian Veterinary Journal*, v. 57, p. 306–307, 1981.
- BAIRD, D.T.; MCNEILLY, A.S. Gonadotrophic control of follicular development and function in the oestrous cycle of the ewe. *Journal of Reproduction Fertility*, v.30, p.119-133, 1981.
- BAIRD, D.T.; SWANSTON, I.; SCARAMUZZI, R.J. Pulsatile release of LH and secretion of ovarian steroids in sheep during the luteal phase of the estrous cycle. *Endocrinology*, v.98, p.1490-1496, 1976.
- BAKER, S.J.; SPEARS, N. The role of intra-ovarian interactions in the regulation of follicle dominance. *Human Reproduction Update*, v.5, p.153-165, 1999.
- BANKS, W. *Histologia Veterinária Aplicada*, 2 ed. São Paulo: Manole, p. 565-588, 1991.
- BARNARD, B. J. H; PIENAAR, J. G. Bluetongue virus as a cause of hydranencephaly in cattle. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, v.43, n.3, p.155-158, 1976.
- BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; PINHEIRO, O.L. Estro ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.19, n.1-2, p.9-22, 1995.
- BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 205-211, abr./jun. 2007. Disponível em [www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br).

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; GONÇALVES, R.L.; REVA, D. *Manual Prático de Inseminação Artificial em Tempo Fixo*, Curitiba: Biogenesis do Brasil Ltda., 56p., 2004. [Manual]

BEG MA, BERGFELT DR, KOT K, GUINThER OJ. Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. *Biology of Reproduction*, v. 66, p. 120-126, 2002

BELICHENKO, P.V.; HAGBERG, B.; DAHLSTROM, A. Morphological study of neocortical areas in Rett syndrome. *Acta Neuropathologica*, v. 93, n. 1, p. 50-61, 1997.

BO, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.307-326, 2003.

CAMPBELL B.K.; MANN, G.E.; MCNEILLY A.S. *et al.* The pattern of ovarian inhibin, estradiol and androstenedione secretion during the estrous cycle of the ewe. *Endocrinology*, v.127, p. 227-235, 1990.

CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*, 2007.

CASTILHO, C.; GARCIA, J.M.; RENESTO, A.; NOGUEIRA, G.P.; BRITO, L.F.C. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*, v. 98, p.189-96, 2006.

CASTRO, T.M.; LEITE, J. M. R. S.; VITORINO, D. F. M., PRADO, G. F. Síndrome de Rett e Hidroterapia: Estudo de Caso. *Revista de Neurociências*, v. 12, n. 2, 2004.

CHO, D.Y.; LEIPOLD, H.W. Agenesis of the corpus callosum in calves. *Cornell Veterinary Medicine*, v. 68, p. 99-107, 1978.

COETZER, J.A.W.; BARNARD, B.J.H. Hydrops amnii in sheep associated with hydranencephaly and arthrogryposis with Wesselsbron disease and Rift Valley fever as viruses aetiological agents. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, v.44, n°.2, p.119-126, 1977.

COLE, H. H. A study of the mucosa of the genital tract of the cow, with special reference to the cyclic changes. *American Journal of Anatomy*, v. 46, n. 2, p. 261-301, 1930.

CORDY, D.R.; SCHULTZ, G. Congenital subcortical encephalopathies in lambs. *Journal Neuropathology & Experimental Neurology*, v. 20, p. 554, 1961.

COUTINHO, G.T.R.M.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.; FERREIRA, A.M.; PALHÃO, P.M.; NOGUEIRA, L.A.G. Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzerá. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v. 59, n.5, p. 1089-1096, 2007.

CROWE, M.A. *Reproduction Domestic Animals*, v. 34, n. 3, p. 157-166, 1999.



DE LAHUNTA, A. Veterinary neuroanatomy and clinical neurology. Philadelphia: *WB Saunders*; 1977.

DANTAS, A.F.M. *Malformações e morte embrionária em ruminantes causadas pela ingestão de Mimosa tenuiflora (jurema preta)*. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 68p, 2009.

DANTAS, A.F.M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; GALIZA, G.J.N.; PIMENTEL, L.A.; ANJOS, B.L.; MOTA, R.A. Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do Nordeste Brasileiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.10, Rio de Janeiro, 2010.

DE LAHUNTA, A. Abiotrophy in domestic animals: a review. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 54, p. 65-76, 1990.

DIAGNOSTIC CRITERIA FOR RETT SYNDROME. The Rett Syndrome Diagnostic Criteria Work Group. *Annals of Neurology*, v. 23, n. 4, p.425-428, 1988.

DONE, J.T.; TERLECKI, S.; RICHARDSON, C.; HARKNESS, J.W.; SANDS, J.J.; PATTERSON, D.S.P.; et al. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: pathogenicity from the fetal calf following maternal infections. *Veterinary Record*, v. 106, p. 473–479, 1980.

DOUGLAS; BRINGEL. Dados não publicados, 2010.

DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, n. 55, p. 1211-1239, 2001.

EDWARDS, M. J. Congenital defects due hyperthermia. *Advanced Veterinary Science Comparative Medicine*, v.22, p.29-52, 1978.

ESSLEMONT, R.J.; BRYANT, M.J. Oestrus behaviour in a herd of dairy cows. *Veterinary Record*, v. 99, p.472–475, 1976.

FARIAS, A.M. *Desenvolvimento folicular e fertilidade utilizando Acetato de Medroxi-progesterona associado a diferentes derivados de Estradiol ou PGF2 $\alpha$* . Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia da Reprodução) - Curso de Mestrado do Programa de Pós- Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS, Brasil, 67p., 2004.

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L.; SOLER, J.M.P Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*, v.47, p.1489-1505, 1997.

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; ROCHA, G.P.; PAPA, F.O. Prevalência de duas ondas de crescimento folicular ovariano em vacas da raça Nelore. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 19, n. 3-4, p. 200-211, 1995.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction*, v. 50, p. 225-232, 1994.

FORTUNE, J.E.; SIROIS, J.; QUIRK, S.M. The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*, v.29, p.95-109, 1988.

GALINA, C.S.; ARTHUR, G.H. Review of cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrous cycles. *Animal Breeding Abstract*, v. 58, p. 697-707, 1990.

GIBBONS, J.R.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biology of Reproduction*, v.57, p.1066-1073, 1997.

GIMENES, L.U.; CARVALHO, N.A.T.; SÁ FILHO, M.F.; SANTIAGO, L.L.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARROS, C.M.; BARUSELLI, P.S. Capacidade ovulatória em novilhas *Bos indicus*. *Acta Science Veterinary*, v.33, supl.1, p.209, 2005 a.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; BARROS, C.M.; BARUSELLI, P.S. Estudo ultra-sonográfico da divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). *Acta Science Veterinary*, v.33, supl.1, p.210, 2005b.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; TORRES-JÚNIOR, J.R.; BELTRAN, M.P.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Perfil de FSH e LH na divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 45, n.1, p.11-16, 2008.

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.; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology*, v. 48, p. 75-87, 1997.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. . Follicle selection in cattle: relationships among growth rate , diameter ranking, and capacity for dominance. *Biology of Reproduction*, v. 65, p. 345-350, 2001.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; DONADEU, F.X.; BERGFELT, D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*, v. 78, p. 239-257, 2003.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG M.A.; KOT, K. Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. *Reproduction*, v.124, p. 475-482, 2002.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, v.55, p. 1187-1194, 1996.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. *Theriogenology*, v. 52, p. 1079-1093, 1999.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, v. 60-61, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O.J.; KASTELIC, J.P.; KNOFF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science*, v.20, p 187-200, 1989.

GLISTER, C.; TANNETTA, D.S.; GROOME, N.P.;KNIGHT, P.G. Interactions between follicle-stimulating hormone and growth factors in modulating secretion of steroids and inhibin-related peptides by nonluteinized bovine granulosa cells. *Biology of Reproduction*, Madison, v. 65, p. 1020-1028, 2001.

GOMPEL, C.; KOSS, L. G. *Citologia hormonal*. In: Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas. São Paulo: Manole, cap. 7, p. 49-60, 1997.

GOPAL, T.; LEIPOLD, H.W. Lipomeningocele in a calf. *Veterinary Pathology*, v. 16, p. 610–612, 1979.

GRIFFIN, J.L.; RANDEL, R.D. Reproductive studies of Brahman cattle. Luteinizing hormone patterns in ovariectomized Brahman and Hereford cows before and after injection of gonadotropin releasing hormone. *Theriogenology*, v.9, p.437-443, 1978.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. *Reprodução Animal*, 7.ed. Barueri: Editora Manole, 2004, 513p.

HAGBERG, B.; AICARDI, J.; DIAS, K., RAMOS, O. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome: report of 35 cases. *Annals of Neurology*, v. 14, n. 4, p. 471-479, 1983.

HAGBERG, B; WITT-ENGERSTROM, J. Rett syndrome: a suggested staging system for describing impairment profile with increasing age towards adolescence. *American Journal of Medical Genetics*, 1, p. 47-59, 1986.

HAUSER, E.R. Seasonal effects on female reproduction in the bovine (*Bos taurus*). *Theriogenology*, v. 21, p. 150-169, 1984.

HEWICKER-TRAUTWEIN M, LIESS B, TRAUTWEIN G. Brain lesions in calves following transplacental infection with bovine-virus diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Medical*, v. 42, n. 2, p. 65–77, 1995.

HIRAGA, T.; ABE, M. Anencephaly and other congenital defects in a calf. *Japanese Journal of Veterinary Science*, v.48, n.3, p.595-598, 1986.

INABA, Y; KUROGI, H; OMARI, T. Akabane disease: epizootic abortion, premature birth, stillbirth and congenital arthrogryposis-hydranencephaly in cattle, sheep and goats caused by Akabane virus. *Australian Veterinary Journal*, v. 51, p. 784–785, 1975.

JACKSON, P.S; JOHNSON, C.T.; FURR, B.J. et al. Influence of stage of oestrous cycle on time of oestrous following cloprostenol treatment in the bovine. *Theriogenology*, v.12, p.153-167, 1979.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. *Veterinary Pathology*. : Guanabara Koogan, 1997.

JUBB, K.V. F; HUXTABLE, C. R. The nervous system. In: JUBB, K.V. F, KENNED, P.C; PALMER, N. *Pathology of domestic animals*. 4.ed. San Diego: Academic, 1993, v.3, cap 3, p. 267-439.

KASTELIC, J.P. Understanding ovarian follicular development in cattle. *Veterinary Medicine*, v. 6, p. 64-71, 1994.

KASTELIC, J.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, v.33, p.1269-1278, 1990.

KERBRAT, S.; DISENHAUS, C. A proposition for an updated behavioural characterisation of the oestrus period in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 87, p. 223–238, 2004.

KNIGHT, P.G.; GLISTER, C. Local roles of TGF-beta superfamily members in the control of ovarian follicle development. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.165-183, 2003.

KULICK, L.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology*, v. 52, p. 913-921, 1999.

KURADE, N. P.; JALNAPURKAR, B. V.; MANTRI, A. M. Exfoliative vaginal cytology and serum progesterone levels in normal and abnormal oestrus cycle of cow. *Indian Journal of Animal Reproduction*, n. 14, v. 1, p. 10-13, 1993.

KUROGI, H; INABA, Y; TAKAHASHI, E; SATO, K; SATODA, K; GOTO, Y; et al. Congenital abnormalities in newborn calves after inoculation of pregnant cows with akabane virus. *Infection and Immunity*, v. 17, p. 338–343, 1977.

LOBATO, Z.I.P. Língua azul: a doença nos bovinos. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v.23, p.515-523, 1999.

LUEDKE, A.J.; JOCHIN, M.M.; JONES, R.H. Bluetongue in cattle: effects of *Culicoides* variipennistransmitted bluetongue virus in pregnant heifers and their calves. *American Journal Veterinary Research*, v. 38, p. 1687–1695, 1977.

MACLACHLAN, N.J. et al.. Orbivirus infection of the bovine foetus. *Progress in Clinical Biologic Research*., v. 178, p. 79-84, 1985.

MAPLETOFT, R.J.; KASTELIC, J.P. Sincronización de celos en bovinos de carne. In: *Fisiología y Manejo Aplicado de la Reproducción Animal*. Departamento de Fisiología – Facultad de Veterinaria – Montevideo, Uruguay. p.131-141, 1997.

MAYHEW, I. G. *Large Animal Neurology: a Handbook for Veterinary Clinicians*. Lea & Febiger: Philadelphia, p.380, 1989.

MCDONALD, L. E. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 4th. Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1989.

McGUIRE, W.; JUENGUEL, J.; NISWENDER, G. Protein kinase C second message system mediates the antiesteroidogenic effects of prostaglandin F<sub>2α</sub> in the ovine corpus luteum in vivo. *Biology of Reproduction*, v.51, p.800-806, 1994.

MEDEIROS, R.M.T.; NETO, S.A.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; SOUSA, N.L. Mortalidade embrionária e abortos em caprinos causados por *Aspidosperma pyriforme*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.24(Supl.):42-43, 2004.

MEDEIROS, J.M.; TABOSA, I.M.; SIMÕES, S.V.D.; NÓBREGA JÚNIOR, J.E.; VASCONCELOS, J.S.; RIET-CORREA, F. Mortalidade perinatal em caprinos no semi-árido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 25, n. 4 , p. 201-206, 2005.

MEDEIROS, R.M.T.; FIGUEIREDO, A.P.M.; BENÍCIO, T.M.A.; DANTAS, F.P.M.; RIET-CORREA, F. Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* seeds to pregnant rats. *Toxicol*, v. 51, p. 316-319, 2008.

MELO, B.C. *Encefalopatia Atrófica/Hipoplásica Hereditária Multissistêmica Dos Bovinos No Estado do Espírito Santo*. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária. Seropédica: UFRRJ, 2006. 108p.

MEMBRIVE, C.M.B. *Estudo da sincronização das ondas foliculares e das características de estros, por radiotelemetria, em novilhas cruzadas (Bos indicus x Bos taurus) tratadas com acetato de melengestrol e prostaglandina associados a hCG, GnRH ou 17β estradiol + progesterona*. São Paulo, 2000. 156f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

MERCADANTE, M.T.; GAAG, R.J.V; SCHWARTZMAN, J.S. Transtornos invasivos do desenvolvimento não autísticos: síndrome de Rett, transtorno desintegrativo da infância e transtornos invasivos do desenvolvimento sem outra especificação. *Revista Brasileira Psiquiatria*, 28 (Supl I), p. S12-20, 2006.

MERTON, J.S.; DE ROOS, A.P.; MULLAART, E. et al. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*, v.59, p.651-674, 2003.

MIHM, M.; BLEACH, E.C.L. Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*, Savoy, v. 78, p. 217-237, 2003.

MIHM, M.; GOOD, T.E.M.; IRELAND, J.H.L. et al. Decline in serum follicle-stimulating hormone concentrations alters key intrafollicular growth factors involved in selection of the dominant follicle in heifers. *Biology of Reproduction*, v.57, p.1328-1337, 1997.

MIHM, M., KHAN, A., BLEACH, E., KNIGHT, P.G. Health and atresia in first wave follicles is reflected in changing serum dimeric inhibin-A concentrations in dairy heifers. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v.180, p. 200, 2001.

MIROUND, K.; NOAKES, D. E. Exfoliative vaginal cytology during the oestrous cycle of the cow, after ovariectomy, and after exogenous progesterone and oestradiol-17β. *British Veterinary Journal*, v. 5, n. 146, p. 387-397, 1990.

MIZUTA, K. *Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (Bos taurus indicus), Angus (Bos taurus taurus) e Nelore x Angus (Bos taurus indicus x Bos taurus taurus)*. São Paulo, 2003. 98f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MONTALBÁN, E. B. El ciclo endometrial. In: AYALA, M. J.; VILAPLANA, E.; ORTIZ, F. N.; FERNANDEZ, F. N. *Citopatologia ginecológica*. 2. ed. Barcelona: *Editorial científico médica*, p. 357-370, 1985.

MOOG, U.; SMEETS, E.E.; VAN ROOZENDAAL, K.E.; SCHOENMAKERS, S.; HERBERGS, J.; SCHOONBROOD-LENSSEN, A.M.; SCHRANDER-STUMPEL, C.T. Neurodevelopmental Disorders in Males related to the Gene Causing Rett Syndrome in Females (MECP2). *European Journal of Pediatric Neurology*, p. 5-12, 2003.

MORAES, J.C.F., SOUZA, C.J.H., GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R. & FREITAS, V.J. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: *Editora Varela*, Cap. 2, p.25-55, 2001.

NAIB, Z. M. Cytology of the normal female genital tract. In: NAIB, Z. M. *Cytopathology*. 4. ed. USA: Lithe Brown, p. 15-44, 1996.

NEVES, J. Pesquisa Qualitativa - características, usos e possibilidades. *Caderno de Pesquisas em Administração*, São Paulo. v.1, n.3, p. 1-5, 1996.

NÓBREGA JÚNIOR, J.E.; RIET-CORREA F.; NÓBREGA, R.S.; MEDEIROS, J.M.; VASCONCELOS, J.S.; SIMÕES, S.V.D.; TABOSA, I.M. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 25, n. 3, p. 171-178, 2005.

OHMANN, H.B. An oculo-cerebellar syndrome caused by congenital bovine viral diarrhoea virus infection. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 23, p. 36-49, 1984.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Disponível em: <[http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00030.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00030.htm)>. Acessado em: 16/05/2009.

ORIHUELA, A. some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: a review. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 70, p. 1-16, 2000.

OSBURN, B. I. *Role of the immune system in bluetongue host viral interactions*, separate de Bluetongue and related orbiviruses, s.d. Alan R. Liss. Inc., p. 417-422, 1985.

OSBURN, B.I. *Bluetongue*. Aitken I.D. *Disease of sheep*. 4: Iowa: Blackwell, p. 456-459, 2007.

PADMANABHAN, R. Experimental induction of cranioschisis aperta and exencephaly after neural tube closure: a rat model. *Journal Neurology Science*, v.66, n.2-3, p.235-243, 1984.

PAPANICOLAOU, G. N. A general survey of the vaginal smear and its use in research and diagnosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 51, p. 317, 1946.

PATE, J. Cellular components involved in luteolysis. *Journal of Animal Science*, v.72, p.1884-1890, 1994.

PEIXOTO, P.V; FRANÇA, T.N. *Comunicação pessoal*, 2002.

PIERSON, R.A.; GINTHER, J.O. Follicular populations during the estrous cycle in heifers. I- Influence of Day; II- Influence of right and left sides and intraovarian effect of the corpus luteum. *Animal Reproduction Science*, v. 14, p.165-186, 1987.

PIMENTEL L.A., RIET CORREA F., GARDNER D., PANTER K.E., DANTAS A.F.M., MEDEIROS R.M.T., MOTA R.A. & ARAÚJO J.A.S. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the Northeastern Brazilian semiarid rangelands. *Veterinary Pathology*, v. 44, n. 6, p. 928-931, 2007.

PIMENTEL & RIET-CORREA (2004) dados não publicados.

PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A. et al. Estrus behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*, v.49, p.667-681,1998.

PLASSE, D.; WARNICK, A.C.; KOGER, M. Reproductive Behaviour of *Bos indicus* females in subtropical environment. IV. Length of oestrous cycle, duration of oestrus, time to ovulation fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. *Journal of Animal Science*, v. 30, p. 63-72, 1970.

QUIRK, S.M.; HICKEY, G.J.; FORTUNE, J.E. Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF-2 $\alpha$  induced luteolysis. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 77, p.211-219, 1986.

RADOSTITS,O.M.:et al Clínica Veterinária um Tratado de doenças dos Bovinos,Ovinos,Suínos,Caprinos e Eqüinos.ed.9,Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2000.

RADOSTITS, O.M. et al. *Veterinary Medicine. A textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 1691-1787, 2007.

RAMA RAO, P.; RAMAMOHANA RAO, A.; SREERAMAN, P. K. A note on the utility of vaginal cytology in detecting oestrous cycle and certain reproductive disorders in bovines. *Indian Journal of Animal Science*, v. 5, n. 49, p. 391-395, 1979.

REZENDE, L.C. *Perfil citológico vaginal e dinâmica folicular durante o ciclo estral em novilha Nelore*. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Goiás, 2006.

RHODES, F.M.; DE'ATH, G.; ENTWISTLE, K.W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science*, v.38, p.265-277, 1995.

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; AZEVEDO, E.O.; MEDEIROS, R.M.T.; SIMÕES, S.V.D.; DANTAS, A. F.M.; ALVES, J.C.; NOBRE, V.M.T.; ATHAYDE, A.C.R.; GOMES, A.A.; LIMA, E. F. Doenças dos ruminantes e eqüinos no semi-árido da Paraíba. *Semi-Árido em Foco, Patos*, v.1, n. 1, p. 74-77, 2003.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; DANTAS, A.F.M. *Plantas Tóxicas da Paraíba. Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Sebrae/PB, João Pessoa, PB. 58p, 2006.*

RIVERA, G.M.; CHANDRASEKHER, Y.A.; EVANS, A.C.O. et al. A potential role for insulin-like growth factor protein-4 proteolysis in the establishment of ovarian follicular dominance. *Biology of Reproduction*, v.65, p.102-111, 2001.

ROCHA, J. M. N. *Avaliação colpocitológica durante o ciclo estral de novilhas infectadas experimentalmente por Trichomonas foetus*. 2000. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Medicina Veterinária – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

ROELOFS, J.B.; SOEDE, N.M.; VOSKAMP-HARKEMA, W.; KEMP, B. The effect of fenceline bull exposure on expression of oestrus in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v. 108, p. 226–235, 2008.

ROELOFS, J.B.; VAN EERDENBURG, F.J.C.M.; SOEDE, N.M.; KEMP, B. Pedometer readings for estrus detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology*, v. 64: p. 1690–1703, 2005.

SAMBRAUS, H.H. *Nutztierethologie*. Paul Parey Verlag, Berlin, 1978.

SANGER, V. L.; ENGLE, P. H.; BELL, D. S. The vaginal cytology of the ewe during the oestrous cycle. *American Journal of Veterinary Research*, v. 19, p. 283-287, 1958.

SANTOS, J.C. *Dinâmica Follicular em bovinos da Raça Gir no inverno e no verão*. 2001. 38f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

SARTORELLI, E.S.; CARVALHO, L.M.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J.; BARROS, C.M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394, 2005.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.83, p.663-671, 1998.

SCARAMUZZI, R.J. Inhibition of oestrous behaviour in ewes by passive immunization against oestradiol-17 $\beta$ . *Journal of Reproduction and Fertility*, v.42, p.145-148, 1975.

SCHILD, A.L.P. *Enfermidades cerebelares congênitas em bovinos no Rio Grande do Sul*, Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) Faculdade da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 68f, 2000.

SCHWARTZMAN, J.S. Rett syndrome. *Revista Brasileira Psiquiatria*, v.25, n. 2, p. 110-113, 2003.

SCHWARTZMAN, J.S.; BERNADINO, A.; NISHIMURA, A.; GOMES, R.R.; ZATZ, M. Rett syndrome in a boy with a 47, XXY karyotype confirmed by a rare mutation in the MECP2 gene. *Neuropediatrics*, v. 32, n. 3, p. 162-164, 2001.



SCHWARTZMAN, J.S.; SOUZA, A.M.; FAIWICHOW, G; HERCOWITZ, L.H. Fenótipo Ret tem paciente com cariótipo XXY. *Arquivo Neuropsiquiatria*, v. 56, n. 4, p. 824-828, 1998.

SCOTT, F.W.; KAHRS, R.F.; DE LAHUNTA, A.; BROWN, T.T.; MCENTEE, K.; GILLESPIE, J.H. Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. 1. Cerebellar degeneration (hypoplasia), ocular lesions and fetal mummification following experimental infection with bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. *Cornell Veterinary*, v. 63, p. 535–560, 1973.

SEGERSON, E.C.; HANSEN, T.R.; LIBBY, D.W.; RANDEL, R.D.; GETZ, W.R. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. *Journal of Animal Science*, v.59, p.1026-1046, 1984.

SHORT, R.E. ; ADAMS, D.C. **Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction.** *Canadian Journal Animal Science*, v. 68, p. 29-39, 1988.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultra-sonography. *Biology of Reproduction*, v. 39, p.308-317, 1988.

SMITH, M.C.; SHERMAN, D.M. Nervous system. In: Cann CC, Hunsberger S, Lukens R, editors. Goat medicine. New York: Lea & Febiger, p. 123–77, 1994.

SPICER, L.J.; CHAMBERLAIN, C.S.; MORGAN, G.L. Proteolytic activity degrading insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP)-4 and -5 but not IGFBP-2 and - 3 in preovulatory bovine follicles. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 21, p. 1–15, 2001.

SPICER, L. J.; CHASE, C. C. JR; RUTTER, L. M.. Relationship between serum insulin-like growth factor-I and genotype during the postpartum interval in beef cows. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 716–722, 2002.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; DeLAHUNTA, A. *Veterinary Neuropathology*, Baltimore: Mosby, p.527, 1995.

SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrus cycle of heifers. *Journal of Reproduction & Fertility*, v. 101, p. 547–555, 1994.

TRAUTWEIN, G.; HEWICKER, M.; LIESS, G; ORBAN, S.; GRUNERT, E. Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhea (BVD) vaccine virus in cattle. III. Occurrence of central nervous system malformations in calves born from vaccinated cows. *Journal Veterinary Medicine*, v.33, p. 260–268, 1986.

TURNBULL, K.E.; BRADEN, A.W.H.; MATTNER, P.E. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Australian Journal Biology Science.*, v.30, p.229-241, 1977.

UNDERWOOD, E.J; SUTTLE, N.F. *The Mineral Nutrition of Livestock.* 3<sup>rd</sup> ed. CABI: New York, USA, p.614, 1999.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Regulação do crescimento oocitário e maturação em mamíferos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.31, p. 172-189, 2003.

- VAN EERDENBURG, F.J.C.M.; LOEFFLER, H.S.H.; VAN VLIET, J.H. Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Veterinary Quarterly*, v.18, p. 52–54, 1996.
- VIANA, J.H.M.; TORRES, C.A.A.; FERNANDES, C.A.C.; FERREIRA, A.M. Relação do diâmetro folicular com a resposta à sincronização de estro em novilhas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.21, p.15-20, 1997.
- VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n.3, Belo Horizonte, jun., 1999.
- VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Follicular dynamics in zebu cattle. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v.35, p. 2501-2509, 2000.
- WALKER, W.L.; NEBEL, R.L.; MCGILLIARD, M.L. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *Journal Dairy Science*, v. 79, p. 1555-1561, 1996.
- WALKER, S.L.; SMITH, R.F.; ROUTLY, J.E.; JONES, D.N.; MORRIS, M.J.; DOBSON, H. Lameness, activity time-budgets and estrus expression in dairy cattle. *Journal Dairy Science*, v. 91, p. 4552–4559, 2008.
- WASHBURN, K.E.; STREETER, R.N. Congenital defects of the ruminant nervous system. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v.20, p. 413–434, 2004.
- WEBB, R.; ARMSTRONG, D.G. Control of ovarian function; effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. *Livestock in Production Science*, v. 53, p.95-112, 1998.
- WEBB, R.; GOSDEN, R.G.; TELFER, E.E.; MOOR, R.M. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Animal Science*, v.68, p. 257-284, 1999.
- WILTBANK, M.C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. Proc. Ann. Meeting. Soc. Therio, Montreal, Quebec. *Theriogenology*, p.83-97, 1997.
- WOLFENSON, D.; INBARA, G.; ROTH, Z.; KAIMB, M.; BLOCHA, A.; BRAW-TAL, R. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology*, v.62, p.1042-1055, 2004.
- WRATHAL, J.H.M.; KNIGHT, P.G. Effect of inhibin related peptides and estradiol on androstenedione and progesterone secretion by bovine theca cells in vitro. *Journal of Endocrinology*, Bristol, v. 145, p. 491-500, 1995.
- YOUNG, S.; CORDY, D.R. An ovine fetal encephalopathy caused by blue-tongue vaccine virus. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, v.23, p.635-659, 1964.
- ZAKARI, A.Y., MOLOKWU, E.C.I., OSORI, D.I. Effect of season on the oestrous cycle of cows (*Bos indicus*) indigenous to northern Nigeria. *Veterinary Record*. v.109, p. 213-215, 1981.

## Anexos

### **Animal 1 (Pelagem Marrom)**

O animal 1 nasceu em 1999 no município de Ecoporanga, no Estado do Espírito Santo, foi trazida para UFRRJ para fins de estudo em 2005. Apresentou claro déficit proprioceptivo com postura anormal.

Nesse período de acompanhamento (2005-2010) apresentou-se em boas condições de saúde, com peso médio de 306 kg. As únicas alterações observadas foram vários quadros clínicos de acidose ruminal decorrentes de ocasional excesso de carboidratos na dieta e após a vacinação de febre aftosa (05/12/09) apresentou um quadro de reação alérgica.

Em outubro em 2006 foi realizado um protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo; houve problemas para a realização da técnica de inseminação dada a dificuldade de localização da cérvix e repetição do cio, logo em seguida. Em 26/10/2007 durante exame ginecológico detectou-se a prenhez com aproximadamente cinco meses, de monta não-controlada, que culminou com o nascimento, em 03/03/2008, de um bezerro do sexo masculino que tinha hiperextensibilidade dos tendões, não levantou e veio a óbito no dia seguinte. A única alteração com relação ao parto observada foi de retenção de placenta.

No dia 18/01/2010, durante o segundo período de observação, após aplicação de prostaglandina, apresentou cio e foi coberta por um Touro mestiço holandês-zebu (Josemar). A vaca veio à óbito dia 18 de maio de 2010 pela manhã quando estava gestante de quatro meses; até o dia anterior, às 17:30 hs aparentemente estava bem, comendo feno. Os achados de necropsia foram atrofia assimétrica moderada do hemisfério cerebral esquerdo inclusive cerebelo ++ (cerebelo hipoplásico ++ lado esquerdo); havia presença de corpo lúteo, a cérvix apresentava agenesia de anéis cervicais, com tampão mucoso no local. O tamanho do feto era 26,5 cm, pela fórmula  $x(x+2)=cm$ ,  $4(4+2)= 24cm$ , aparentemente sem defeitos macroscópicos.

### **Animal 2 (Pelagem Cinza-Branca)**

Nasceu em 2000 no município de Ecoporanga, no Estado do Espírito Santo, foi trazida para UFRRJ para fins de estudo em 2005.

Nesse período de acompanhamento (2005-2010) apresentou-se em boas condições de saúde, com peso médio de 352 kg; foram observadas alterações no comportamento de cio, com raras observações de aceitação de monta ou tentativa de monta. A detecção de cio deste animal baseou-se na presença de muco, patas posteriores abertas, vulva edemaciada e mucosa vaginal hiperêmica, bem como aproximação do macho. Das três vacas que apresentam a

encefalopatia, essa é a que apresenta mais sinais de cio.

Houve a monta natural (08/08/2006) com um touro da raça Tabapuã (Tubarão). A gestação de duração de 285 dias transcorreu sem alterações, culminou com um parto distócico (20/05/2007) e a morte do neonato de sexo masculino, animal absolutamente grande, mas morfológicamente normal.

Em dezembro de 2007, realizou-se exame ginecológico constatando-se que não se encontrava gestante e apresentava corpo lúteo; foi administrada prostaglandina e houve a monta natural três dias depois, por um touro mestiço holandês-zebu (Pinga-Fogo). A gestação transcorreu sem alterações, teve duração de 285 dias, com nascimento em 20/09/2008 de uma fêmea normal (Luciana PP). Essa vaca não tinha leite suficiente para amamentar, por isso a bezerra mamou nela e em outra vaca, sem nenhuma interferência humana. A vaca secou sozinha três meses depois do parto.

No segundo período de observação, após aplicação de prostaglandina, no dia 24/01/2010 apresentou cio e foi coberta por um touro holandês-zebu (Josemar). Após 290 dias de gestação ocorreu um parto distócico, que culminou com a morte fetal de uma fêmea de aproximadamente 40 kg. Realizaram-se manobras obstétricas para retirada do natimorto, a vaca teve após o parto um quadro de retenção de placenta, anorexia e hipertermia, foi devidamente medicada. Na necropsia desse feto observou-se assimetria cerebelar.

### **Animal 3 (Pelagem Preta)**

Nesse período de acompanhamento (2005-2010) apresentou-se em boas condições de saúde; foram observadas alterações no comportamento de cio, com raras observações de aceitação de monta ou tentativa de monta. Para detecção de cio dela é importante ver a presença de muco, as patas posteriores abertas, vulva edemaciada e mucosa vaginal hiperêmica, se aproxima do macho.

No período de 2006 ainda não havia apresentado cio, no período de 2007-2008 ciclando, foram observadas alterações no comportamento de cio, com raras aceitações de monta ou tentativas de monta, o que poderia significar que ela não estava ciclando. Como só coloca o macho quando observa aceitação da monta, foram feitas poucas coberturas, no entanto com boa resposta.

No ano de 2008, ficou gestante de um touro mestiço (Josemar). O parto ocorreu em 15/01/2009, sem alterações, nasceu uma bezerra fêmea com um cordão umbilical calibroso (3-4cm); esse animal não levantou, forneceu-se colostro através de sonda oro-gástrica. Só levantou no dia seguinte, houve dificuldade para encontrar o úbere, teve que ser ajudado,

reservando-se um quarto da mama (teto) e segurava a bezerra de forma que encontra-se o teto. Mamava por aproximadamente 15 segundos, soltava e voltava a mamar, a quantidade de leite da mãe era suficiente para as suas necessidades.

Trata-se de um animal fraco, desde o nascimento apresentava mucosas esbranquiçadas e movimentos constantes da cabeça (sacudir). Aos 7 e 14 dias recebeu injeção de ferro e aos 13 dias recebeu injeção de cobre. Apresentou histórico de anemia procedendo uma transfusão sanguínea com 13 dias; houve uma melhora de condição física do animal e com posterior piora sendo realizada uma segunda transfusão com 63 dias, que culminou com a morte da bezerra com 64 dias, estava icterícia. Pesava aos 33 dias 45 kg.

A vaca apresentou anestro lactacional após a morte da bezerra em 2009.

No segundo período de observação, após o aplicação de prostaglandina foi coberta por um touro mestiço (Josemar) no dia 29/01/2010. Após 294 dias de gestação ocorreu um parto normal, que culminou com o nascimento no dia 19/11/10 de uma fêmea de tamanho normal, pesando aproximadamente 30 kg, pelagem Preta e Branca (Carol). Após 30 minutos do nascimento, já havia levantado e estava tentando mamar.

#### **Animal 4**

O animal 4 é descendente direta do animal 2, nasceu em 20/09/2008, a gestação transcorreu sem alterações, teve duração de 285 dias, sem problemas durante o parto, UFRRJ, no município de Seropédica, RJ.

Nesse período de acompanhamento (2008-2010) estava em crescimento e mesmo com endoparasitas e ectoparasitas controlados, apresentou vários quadros de diarreia acinzentada, odor fétido e linfonodos aumentados nesses episódios, provavelmente de origem bacteriana, pois respondia a antibioticoterapia e sulfas.

Detectou-se a presença de hérnia umbilical, realizou-se a cirurgia corretiva com 39 dias de vida obtendo-se sucesso. Em 06/03/2009 (167º dia) começou a mamar também no Animal 3, que foi então separado dela; dia 10/03/2009 (171º dia) separou-se da outra vaca. Após a morte da bezerra do Animal 3, tornou-se a juntar as vacas no mesmo curral e o Animal 4 voltou a mamar no Animal 3. Desmamou sozinha do Animal 2, no entanto houve várias tentativas de desmamar do Animal 3; ela mamava através da cerca e vaca aceitava, embora pesasse mais do que o Animal 3.

Dia 17/08/09 (11 meses) apresentou cio, estava aceitando a monta, já apresentava-se com mais de 300 Kg. Dia 17/11/2009 (14 meses) colocou-se um desmamador com regulagem na bezerra para evitar que ela mamasse; pesava em torno de 400Kg.

No dia 24 de novembro de 2010 apresentou cio, houve o cruzamento com um touro mestiço (Josemar) no dia 24/11/2010. Encontra-se prenhe de oito meses de gestação.