

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, BEM-ESTAR E PRODUÇÃO
ANIMAL SUSTENTÁVEL NA FRONTEIRA SUL

ALEXANDRA LAYS PETRY

QUANTIFICAÇÃO DE FOLÍCULOS POLIOOCITÁRIOS (POFs) EM GATAS

REALEZA

2023

ALEXANDRA LAYS PETRY

QUANTIFICAÇÃO DE FOLÍCULOS POLIOOCITÁRIOS (POFs) EM GATAS

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde, Bem Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Adalgiza Pinto Neto

REALEZA

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Petry, Alexandra Lays
Quantificação de Foliculos Polioocitários (POFs) em
Gatas / Alexandra Lays Petry. -- 2023.
34 f.:il.

Orientadora: Doutora Adalgiza Pinto Neto

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Saúde,
Bem-Estar e Produção Animal Sustentável Na Fronteira
Sul, Realeza,PR, 2023.

1. Reprodução animal. 2. Foliculo multioocitário. 3.
Histologia. 4. Felinos. I. Pinto Neto, Adalgiza, orient.
II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

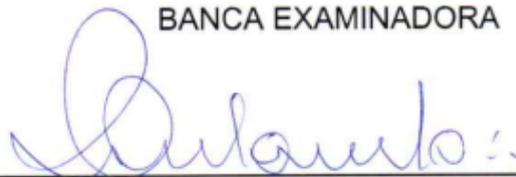
ALEXANDRA LAYS PETRY

QUANTIFICAÇÃO DE FOLÍCULOS POLIOOCITÁRIOS (POFs) EM GATAS

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde, Bem Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 14/09/2023.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Adalgiza Pinto Neto – UFFS
Orientadora



Prof. Dra. Denise Maria de Sousa Mello - UFFS
Avaliadora



Prof. Dra. Natalie Bertelis Merlini – UENP
Avaliadora

*Dedico este trabalho a todos os envolvidos,
que não mediram esforços para a sua conclusão!*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Fronteira Sul, a qual tenho muito orgulho de fazer parte;

À todos os funcionários da Golden Pet Store e Clínica Veterinária, e a Dra. *Jéssica Tesser*, da Amici Animali Clínica Veterinária que ajudaram na coleta dos ovários utilizados neste estudo;

À *Mariana Casagrande* por todo empenho e dedicação na confecção e leitura conjunta das lâminas, bem como auxílio em todo momento;

À Profa. *Fabiana Elias*, por ceder algumas lâminas histológicas, de ovários de gatas submetidas a OSH, no mesmo período deste estudo, antecipando a coleta de dados necessários para a conclusão e defesa da dissertação;

Ao Ms. *Leonardo Gruchouskei* pela confecção das lâminas histológicas, fundamentais para esse estudo;

Ao Prof. Dr. *Jonatas Cattelam*, pela análise estatística;

À Profa. *Adalgiza Pinto Neto*, por me mostrar o verdadeiro sentido da palavra orientadora. Pela sua dedicação e amizade. Ficarei muito orgulhosa de mim, se algum dia ser uma parte do que ela é!

Aos animais, por serem a razão e por terem contribuído para realização deste estudo, e de um sonho, que é ser Mestre.

"Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar;
não apenas planejar, mas também acreditar"

Anatole France

RESUMO

O folículo ovariano é a unidade morfofuncional do ovário, e fornece microambiente necessário para o desenvolvimento oocitário. Tradicionalmente, cada folículo é composto por um oócito rodeado de células somáticas da Granulosa e da Teca, porém, foi verificada a ocorrência de folículos com mais de um oócito, denominados multioocitários ou polioocitários (POFs), fenômeno que tem sido relatado em várias pesquisas realizadas em diferentes espécies. Dessa forma, objetivou-se com esse estudo avaliar a ocorrência, e quantificar o número de POFs em ovários de gatas submetidas à ovariossalpingohisterectomia (OSH). Para tanto, foram coletados ovários de 33 gatas submetidas a OSH, e preparados para análise histológica, a fim de avaliar a ocorrência e quantificar a frequência de POFs, correlacionando-os ao número de estros, gestações, idade e peso das gatas. As lâminas histológicas, de cada ovário (direito e esquerdo) foram analisadas em toda a sua extensão, por dois avaliadores, que quantificaram o número de oócitos em cada folículo, bem como a classificação folicular (primordial, primário, secundário e terciário). Os dados obtidos foram avaliados utilizando-se o pacote estatístico SAS, as diferenças testadas pelo Teste t, considerando 5% de significância. Observou-se que todos os ovários apresentaram folículos monoocitários (MOFs), e 79,03% e 75,75% dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, apresentaram POFs, sem diferença entre eles ($p > 0,05$). Tanto MOFs quanto POFs se encontravam igualmente distribuídos entre os ovários ($p > 0,05$). POFs contendo dois e três oócitos foram observados em frequência semelhante nos ovários direito e esquerdo ($p > 0,05$), sendo de 16,12% e 27,27%; e de 3,22% e 4,54%, respectivamente. Tanto a frequência, quanto o número médio de MOFs e POFs (com dois, três ou mais COCs) foi semelhante entre os ovários direito e esquerdo ($p > 0,05$). A frequência de MOFs foi maior que a de POFs em todos os ovários analisados ($p < 0,05$). Foram encontrados POFs contendo de dois a cinco oócitos, em diferentes estádios de desenvolvimento dentro do mesmo folículo. Todos os ovários apresentaram folículos primordiais, 96,86% apresentaram folículos primários, 91,31% folículos secundários e 86,01% folículos terciários. POFs foram encontrados em todos os estádios de desenvolvimento folicular. A ocorrência de POFs em gatas sofre influência da idade, número de gestações, número de estro e peso das gatas.

Palavras-chave: Folículo multioocitário; ovário; oócito; histologia.

ABSTRACT

The ovarian follicle is the morphofunctional unit of the ovary, and provides the microenvironment necessary for oocyte development. Traditionally, each follicle is composed of an oocyte surrounded by somatic Granulosa and Theca cells, however, the occurrence of follicles with more than one oocyte, called multi-oocytes or polyoocytes (POFs), has been reported, a phenomenon that has been reported in several studies carried out in different species. Therefore, the aim of this study was to evaluate the occurrence and quantify the number of POFs in ovaries of cats undergoing ovariosalpingohysterectomy (OSH). To this end, ovaries were collected from 33 cats submitted to OSH, and prepared for histological analysis, in order to evaluate the occurrence and quantify the frequency of POFs, correlating them to the number of estrus, pregnancies, age and weight of the cats. The histological slides from each ovary (right and left) were analyzed in their entirety by two evaluators, who quantified the number of oocytes in each follicle, as well as the follicular classification (primordial, primary, secondary and tertiary). The data obtained were evaluated using the SAS statistical package, the differences tested by the t Test, considering 5% significance. It was observed that all ovaries presented monoocyte follicles (MOFs), and 79.03% and 75.75% of the right and left ovaries, respectively, presented POFs, with no difference between them ($p>0.05$). Both MOFs and POFs were equally distributed among the ovaries ($p>0.05$). POFs containing two and three oocytes were observed at a similar frequency in the right and left ovaries ($p>0.05$), being 16.12% and 27.27%; and 3.22% and 4.54%, respectively. Both the frequency and the average number of MOFs and POFs (with two, three or more COCs) were similar between the right and left ovaries ($p>0.05$). The frequency of MOFs was higher than that of POFs in all ovaries analyzed ($p<0.05$). POFs containing two to five oocytes were found, at different stages of development within the same follicle. All ovaries had primordial follicles, 96.86% had primary follicles, 91.31% secondary follicles and 86.01% tertiary follicles. POFs were found at all stages of follicular development. The occurrence of POFs in cats is influenced by the age, number of pregnancies, number of estrus and weight of the cats.

Keywords: Multiocyte follicle; ovary; oocyte; histology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 OVÁRIOS: ORIGEM, DESENVOLVIMENTO E HISTOLOGIA.....	12
2.2 FOLÍCULOS POLIOOCITÁRIOS - POFs.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 OVÁRIOS EXPERIMENTAIS.....	17
3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	17
3.3 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DOS OVÁRIOS.....	17
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
ANEXO A - FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL “QUANTIFICAÇÃO DE FOLÍCULOS MULTIOOCITÁRIOS EM GATAS”.....	35

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento dos ovários de mamíferos inicia-se durante a vida fetal. A oogênese é o processo de formação dos oócitos, sendo dividida em três fases: multiplicação, crescimento e maturação oocitária (CHOHAN e HUNTER, 2004; SADEU *et al.*, 2006; AERTS e BOLLS, 2010).

A foliculogênese é o processo de formação, crescimento e maturação folicular, sendo marcada pelas fases de crescimento do folículo (VAN DEN HURK e ZHAO, 2005). Os folículos são classificados, segundo Bristol-Gould e Woodruff (2006) em primordial, primário, secundário e terciário ou de Graaf, de acordo com o número de camadas de células somáticas que circundam o oócito.

O folículo ovariano é a unidade funcional do ovário, sendo composto tradicionalmente por um oócito rodeado pelas Células da Granulosa e Células da Teca (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006). No entanto, estudos verificaram a ocorrência de folículos com mais de um oócito, denominados como multioocitários ou polioocitários (POFs), tendo sido relatado em diversas espécies domésticas (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006). Diversos estudos citam sua ocorrência na espécie felina, apesar de não ser o foco da investigação (HARTMAN, 1926; SHEHATA, 1979; TELFER e GOSDEN, 1987; BRISTOL e WOODRUFF, 2004; LIMA, 2006; MONTEIRO, KOIVISTO e SILVA, 2006; MICLĂUȘ, GROZA e OANA, 2007; REYNAUD *et al.*, 2009; CARDOSO, 2017).

A compreensão da foliculogênese ovariana e dos princípios básicos da reprodução dos felinos domésticos pode ser aplicada para espécies de felinos selvagens, e, por meio de biotecnologias da reprodução, podem se tornar uma ferramenta para preservação de espécies em extinção (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006; WLODARCZYK *et al.*, 2009; CARRIJO JR *et al.*, 2010).

Objetivou-se com esse estudo avaliar histologicamente ovários de gatas submetidas a OSH, verificar a ocorrência e quantificar a frequência de folículos polioocitários (POFs), e relacioná-los com o número de estros, gestações, idade e peso das gatas estudadas, fornecendo subsídios aos poucos estudos sobre a reprodução de fêmeas felinas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 OVÁRIOS: ORIGEM, DESENVOLVIMENTO E HISTOLOGIA

O desenvolvimento ovariano das fêmeas de mamíferos inicia-se durante a vida fetal, após a colonização da gônada embrionária por células germinativas primordiais, originadas do saco vitelínico, que povoam os cordões sexuais e contribuem para a formação das células foliculares, posteriormente chamadas de Células da Granulosa, iniciando o processo de oogênese (CHOHAN e HUNTER, 2004; SADEU *et al.*, 2006; AERTS e BOLS, 2010).

A oogênese caracteriza-se por transformações sequenciais das células germinativas primordiais até a fase de oócitos maduros, aptos para a fertilização, sendo dividida em três fases: multiplicação, crescimento e maturação oocitária (LONERGAN *et al.*, 1994; WANG e SUN, 2007; AERTS e BOLS, 2010). A fase de multiplicação ocorre durante a vida pré-natal, em que uma célula-mãe, mediante divisões mitóticas, dá origem a duas células-filhas, com o mesmo número de cromossomos, as chamadas oogônias (CHOHAN e HUNTER, 2004; AERTS e BOLS, 2010). Na oogênese das gatas, a fase de multiplicação perdura aproximadamente até o oitavo dia após o nascimento (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006).

A fase de crescimento inicia-se com a primeira divisão meiótica, na qual as oogônias diferenciam-se em oócitos primários. A meiose I é interrompida na prófase I e somente um pouco antes da puberdade, com o primeiro pico do Hormônio Luteinizante (LH), evidencia-se a continuidade da meiose I (LONERGAN *et al.*, 1994; CHOHAN e HUNTER, 2004; WANG e SUN, 2007). Na gata doméstica a diferenciação das oogônias e oócitos primários ocorre entre 40 e 50 dias após a concepção (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006).

Já a fase de maturação compreende o final da meiose I e início da meiose II, com diferenciação do oócito primário em oócito secundário e liberação do primeiro corpúsculo polar. A meiose II é interrompida em metáfase II, sendo finalizada no momento da fertilização, com a fusão do espermatozoide e do oócito, e liberação do segundo corpúsculo polar e formação do zigoto (LONERGAN *et al.*, 1994; CHOHAN e HUNTER, 2004).

O folículo ovariano é a unidade morfofuncional do ovário que fornece microambiente necessário para desenvolvimento oocitário, sendo composto por um

oócito rodeado de células somáticas, as Células da Granulosa e as Células da Teca (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006). A foliculogênese é o processo de formação, crescimento e maturação folicular, sendo marcada pelas fases de crescimento do folículo (VAN DEN HURK e ZHAO, 2005).

Ademais, de acordo com o número de camadas de células somáticas que circundam o oócito, os folículos são classificados, segundo Bristol-Gould e Woodruff (2006) em primordial, primário, secundário e terciário ou de Graaf.

Na espécie felina, a foliculogênese inicia-se entre a segunda e terceira semana do desenvolvimento fetal e caracteriza-se pelo envolvimento do oócito por uma camada de células somáticas, dando origem aos folículos primordiais (VAN WEZEL e RODGERS 1996; BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006).

Nas gatas, o folículo primordial contém de uma a oito células pré-granulosas circundando o oócito, o qual apresenta aproximadamente 20 a 30 micrômetros de diâmetro (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006). Os folículos primários são compostos por oócitos que variam de 30 a 50 micrômetros de diâmetro e uma única camada de células cuboides da Granulosa, sendo possível identificar a zona pelúcida e a membrana basal que separa as Células da Granulosa do oócito (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006).

Caracterizam-se como secundários, os folículos que apresentam a segunda camada de células da Granulosa até a formação de múltiplas camadas, com presença evidente da zona pelúcida ao redor do oócito. Ainda, observa-se uma camada de Células da Teca e oócito com diâmetro entre 40 e 75 micrômetros (FAIR, 2003; BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006).

Com o desenvolvimento do folículo secundário, evidencia-se um acúmulo de líquidos, com formação do antro folicular e aumento considerável de tamanho. Nessa fase, o folículo denomina-se terciário e possui de dois a três milímetros de diâmetro, camadas de Células da Granulosa murais e do Complexo *Cumulus Oophorus*, corona radiata, que envolve todo o oócito, muitas camadas de Células da Teca interna e externa, antro folicular desenvolvido e um oócito de aproximadamente 85-100 micrômetros de diâmetro (FAIR, 2003; BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006).

O desenvolvimento folicular é caracterizado por três fases distintas, conhecidas como recrutamento, seleção e dominância. O recrutamento de folículos ocorre por ação do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e um *pool* de folículos

primordiais inicia seu desenvolvimento. Desses, apenas um número específico de folículos para cada espécie é selecionado e passa a exercer dominância sobre os demais, suprimindo seus crescimentos e inibindo o recrutamento de novos folículos. Esse fenômeno ocorre mediado por diversos mecanismos, como a ação de hormônios, receptores específicos e fatores de crescimento (FAIR, 2003; BRISTOL GOULD e WOODRUFF, 2006).

O folículo dominante pode ter dois destinos possíveis: ovulação ou atresia. A ovulação ocorre quando, por ação dos hormônios LH – Hormônio Luteinizante e FSH – Hormônio Folículo Estimulante, o oócito é maturado, resultando no rompimento folicular e liberação do oócito (LUCCI *et al.*, 2002; FAIR, 2003). A atresia folicular pode ocorrer em qualquer fase da dinâmica ovariana, sendo o destino dos folículos recrutados não dominantes e também do dominante, quando há presença de corpo lúteo ovariano (FAIR, 2003).

O número de folículos ovarianos apresenta variações nas diferentes espécies (CARRIJO Jr *et al.*, 2010), sendo que a população folicular das gatas domésticas é composta por 87% de folículos primordiais, 10,4% de folículos primários e 2,3% de folículos secundários. Lima (2006) estimou a população média total de folículos ovarianos da gata doméstica em 114.000 folículos por ovário, sendo 85,5%, 3,5%, 4,0%, 6,5% e 0,2% de folículos primordiais, primários, secundários, terciários e pré-ovulatórios, respectivamente. Morfologicamente, os folículos de gatas assemelham-se aos de outras espécies (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006; LIMA, 2006; CARRIJO JR *et al.*, 2010).

Histologicamente, os ovários são formados por uma camada externa de epitélio simples cúbico, túnica albugínea, tecido conjuntivo denso, uma região cortical e outra medular. Na camada cortical estão localizados os folículos em diferentes estádios de desenvolvimento, além de corpos lúteos, hemorrágicos e albicans. Na camada medular encontram-se os vasos sanguíneos, linfáticos e nervos (MONTEIRO, KOIVISTO e SILVA, 2006).

2.2 FOLÍCULOS POLIOOCITÁRIOS - POFs

Tradicionalmente, o folículo é composto por um oócito rodeado de células somáticas da Granulosa e da Teca. No entanto, estudos verificaram a ocorrência de folículos com mais de um oócito, denominados como multioocitários ou polioocitários (POFs) (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006; REYNAUD *et al.*, 2009), fenômeno

que tem sido relatado em várias espécies domésticas, incluindo a cadela (ZOPPEI *et al.*, 2021). Diversos estudos relatam essa ocorrência na espécie felina, apesar de não ser o foco da investigação (HARTMAN, 1926; SHEHATA, 1979; TELFER e GOSDEN, 1987; BRISTOL e WOODRUFF, 2004; LIMA, 2006; MONTEIRO, KOIVISTO e SILVA, 2006; MICLĂUȘ, GROZA e OANA, 2007; REYNAUD *et al.*, 2009; CARDOSO, 2017).

Os aspectos que sugerem que múltiplos oócitos estejam dentro do mesmo folículo primordial, segundo Miclăuș, Groza e Oana (2007) são a união íntima entre eles, e a ausência das células foliculares que normalmente circundam cada oócito, separando-os. Nos folículos primários essa distinção é mais fácil devido ao tamanho maior dos oócitos e a camada de Células da Granulosa ser única e cuboide. Nos folículos secundários, os oócitos podem apresentar-se tão juntos a ponto das suas zonas pelúcidas encostarem ou aparecem separadas por células foliculares. Nos folículos terciários os oócitos também podem apresentar-se distantes um do outro ou no mesmo complexo *Cumulus Oophorus* (SHEHATA, 1979; MICLĂUȘ, GROZA E OANA, 2007).

Hartman (1926) relatou a ocorrência de folículos contendo até oito oócitos em uma gata. Shehata (1979) avaliou histologicamente o ovário de 25 gatas de diferentes idades e verificou a ocorrência de POFs em uma gata recém-nascida. Telfer e Gosden (1987) realizaram estudo sobre a incidência de POFs em 15 diferentes espécies e evidenciaram prevalência de folículos polioocitários em 4% das gatas.

Monteiro, Koivisto e Silva (2006) avaliaram os ovários de 10 gatas nulíparas e 10 múltíparas. No primeiro grupo, constataram-se duas gatas e, no segundo, apenas uma com presença de folículos pré-antrais e antrais com mais de um oócito por folículo.

Miclăuș, Groza e Oana (2007) relataram a ocorrência de POFs em duas gatas de sete meses e quatro anos de idade, sendo observados em folículos de todos os estádios de desenvolvimento, desde primordiais até terciários.

Telfer e Gosden (1987) verificaram ainda que a ocorrência de POFs é menor de acordo com a idade das fêmeas, uma vez que a incidência foi de 14% em cadelas jovens e 5% em cadelas senis. Ademais, observaram que a ocorrência de folículos multioocitários foi maior em folículos primários e secundários, quando comparado com a presença deles em folículos terciários (TELFER e GOSDEN,

1987).

Payan-carreira e Pires (2008) descreveram prevalência de 40,7% de POFs em ovários de 150 cadelas submetidas à OSH, sendo a ocorrência maior em fêmeas jovens, sendo possível observar diminuição significativa no número de POFs com o avançar da idade. Os autores relataram a incidência de 62,2% de POFs em cadelas menores de um ano de idade, 30,4% em cadelas entre sete e oito anos e 14,3% em fêmeas com mais de dez anos de idade.

Adicionalmente, Zoppei *et al.* (2021) em estudo sobre o número e a ocorrência de POFs, em 38 cadelas submetidas à OSH eletiva, observaram que todos os ovários avaliados possuíam POFs em diferentes estádios de desenvolvimento. A idade, o número e intervalo de estros, bem como o número de progênes por parto não apresentou influência na presença de POFs. No entanto, os autores relataram que o porte do animal, número de gestações, a utilização e número de aplicações de anticoncepcionais, tiveram efeitos sobre o número e a ocorrência de POFs nas cadelas estudadas.

Partindo do exposto, três hipóteses explicariam a existência de POFs sendo a divisão de um oócito polinuclear; a fusão de vários folículos ou a não separação de oócitos provenientes de ninhos de oogônias nos cordões sexuais (REYNAUD *et al.* 2009).

Cardoso (2017), mediante utilização do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), de cofator da DNA-polimerase δ , observou coloração positiva em todos os folículos com múltiplos oócitos, sendo a expressão positiva por PCNA evidenciada na mesma proporção em POFs e nos folículos com um oócito, apresentando sinais claros de viabilidade.

Astudillo *et al.* (2023) avaliaram a maturação meiótica *in vitro* de oócitos caninos oriundos de POFs em comparação com os de MOFs e demonstraram que, embora os oócitos de POFs possam retomar a meiose a uma taxa mais lenta do que aqueles de MOFs, sua maturação *in vitro* é possível.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OVÁRIOS EXPERIMENTAIS

Foram coletados ovários de 33 gatas domésticas (*Felis catus*) submetidas a ovariossalpingohisterectomia (OSH), realizadas por Médicos(as) Veterinários(as), nas clínicas parceiras deste estudo: *Golden Pet Store Clínica Veterinária* e *Amici Animali Clínica Veterinária*, localizadas no município de Pato Branco - PR e também na Superintendência Hospitalar Veterinária Universitária (SUHVU), Campus Realeza, UFFS.

Durante a consulta pré-cirúrgica de cada gata, foi preenchida a Ficha de Avaliação Individual (Anexo A), contendo os dados da paciente, como número de estros e gestações, idade e peso. O procedimento cirúrgico de coleta dos ovários (OSH) não foi abordado.

3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Após a coleta, os ovários foram cortados em sentido longitudinal, identificados por animal e antímero (direito ou esquerdo), acondicionados em frascos identificados, contendo solução de formalina 10%, e encaminhados ao Laboratório de Patologia da SUHVU, Campus Realeza – UFFS, em Realeza-PR.

Para a preparação histológica dos ovários (desidratação, inclusão, corte e coloração com hematoxilina-eosina), seguiu-se o proposto por Junqueira e Carneiro (2013).

3.3 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DOS OVÁRIOS

As lâminas de cada ovário, direito e esquerdo, foram avaliadas em toda a sua extensão em microscópio óptico (Olympus CX 33^R), com aumento na objetiva de 20 a 40 vezes, a fim de quantificar o número de folículos, bem como o número de oócitos em cada folículo, nos ovários direito e esquerdo. A leitura de cada lâmina foi realizada por dois avaliadores, sendo considerado o valor médio das avaliações.

O folículo contendo um oócito foi classificado como monoocitário (MOF) e aqueles com dois ou mais oócitos classificados como polioocitários (POF).

Todos os folículos (MOF e POF) foram classificados de acordo com a morfologia, seguindo as orientações de Bristol-Gould e Woodruff (2006), em primordial, primário, secundário e terciário ou de Graaf.

Assim, folículos primordiais eram aqueles cujo oócito encontrava-se circundado por uma camada de células da Granulosa de forma pavimentosa; folículos primários, com oócito também circundado por uma única camada de células da Granulosa, mas cúbicas; folículos secundários com oócito circundado por várias camadas de células da Granulosa cúbicas e os folículos terciários (maduro ou de Graaf) caracterizados pela presença do antro folicular, surgimento das camadas tecais e zona pelúcida desenvolvida ao redor do oócito.

Os folículos terciários, devido a presença do antro folicular, poderiam ser visualizados sem a presença do oócito, uma vez que o mesmo poderia se encontrar acima ou abaixo do corte histológico. Assim, esses folículos foram caracterizados como folículos terciários sem oócito.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

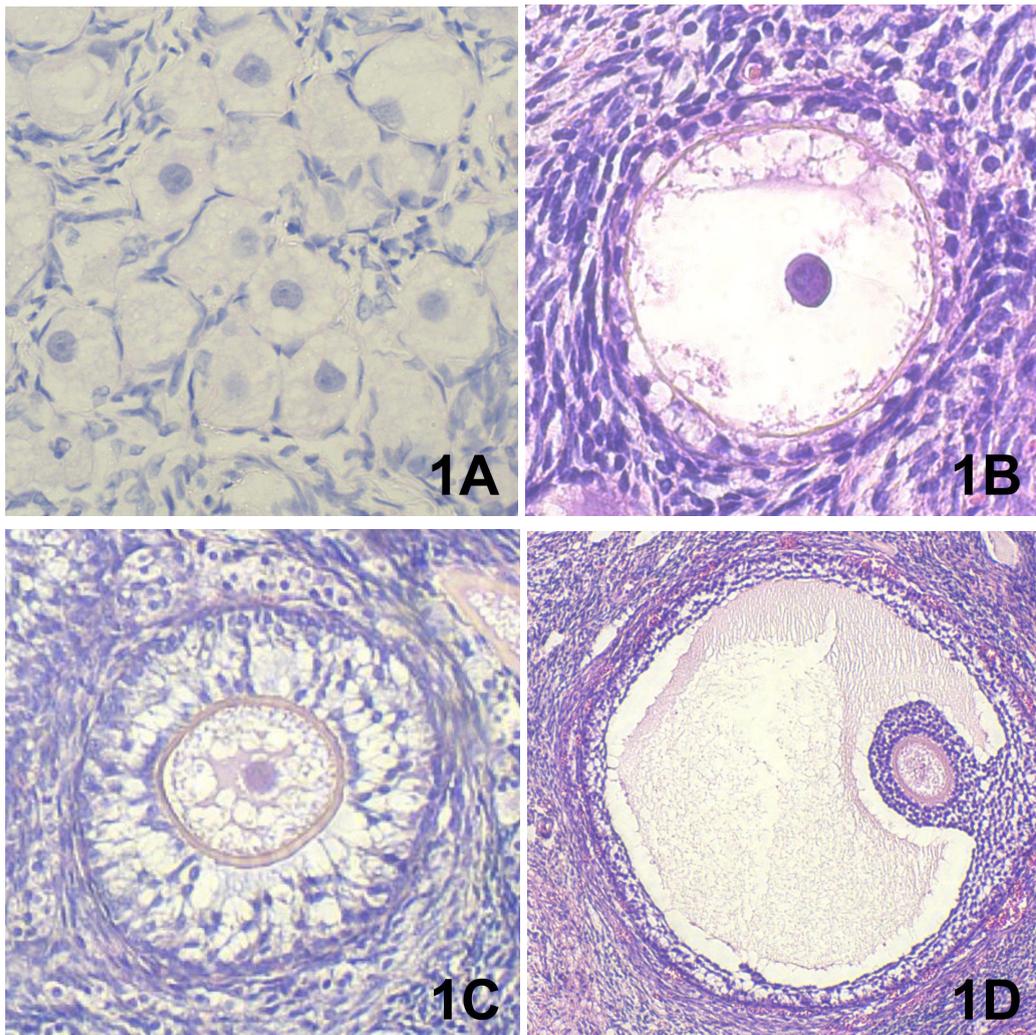
Os dados obtidos foram tabulados e submetidos a análise estatística utilizando-se o pacote estatístico SAS, considerando 5% de significância.

Realizou-se estatística descritiva, a fim de estabelecer o número médio, a frequência e a classificação de MOF e POF nos ovários direito e esquerdo. Esses dados foram correlacionados com o número de estros, gestações, idade e peso das gatas, utilizando o Teste t.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que todos os ovários, independente do antímero, apresentaram MOFs, conforme Figura 1. No ovário direito, a frequência de POFs revelou que 79,03% apresentaram folículos contendo dois oócitos, 16,12% apresentaram folículos contendo três oócitos e 3,22% folículos contendo quatro oócitos. Enquanto que 75,75% dos ovários esquerdos apresentaram folículos contendo dois oócitos, 27,27% contendo três oócitos e 4,54% contendo quatro oócitos, como observado na Tabela 1.

Figura 1 - Folículos monoocitários (MOFs) em ovários de gatas adultas.
1A: MOF primordial, ovário direito (Hematoxilina Eosina – HE e Aumento 40x);
1B: MOF primário, ovário esquerdo (HE 40x); 1C: MOF secundário, ovário esquerdo (HE 40x); 1D: MOF terciário, ovário esquerdo (HE 10x).



Fonte: Imagem registrada pela autora (2023).

Não se observou diferença na frequência de MOFs e POFs nos ovários direito e esquerdo ($p > 0,05$ – Tabela 1). Não se encontraram dados semelhantes em gatas. No entanto, Lunardon *et al.* (2015) relataram diferenças no número de folículos entre os ovários direito e esquerdo da mesma cadela, e concluíram que a avaliação de apenas um corte histológico por ovário pode subestimar ou superestimar a população folicular.

Tabela 1 - Frequência de folículos monoocitários (MOFs), contendo um oócito e polioocitários (POFs), contendo dois, três, quatro ou cinco oócitos, nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de gatas adultas.

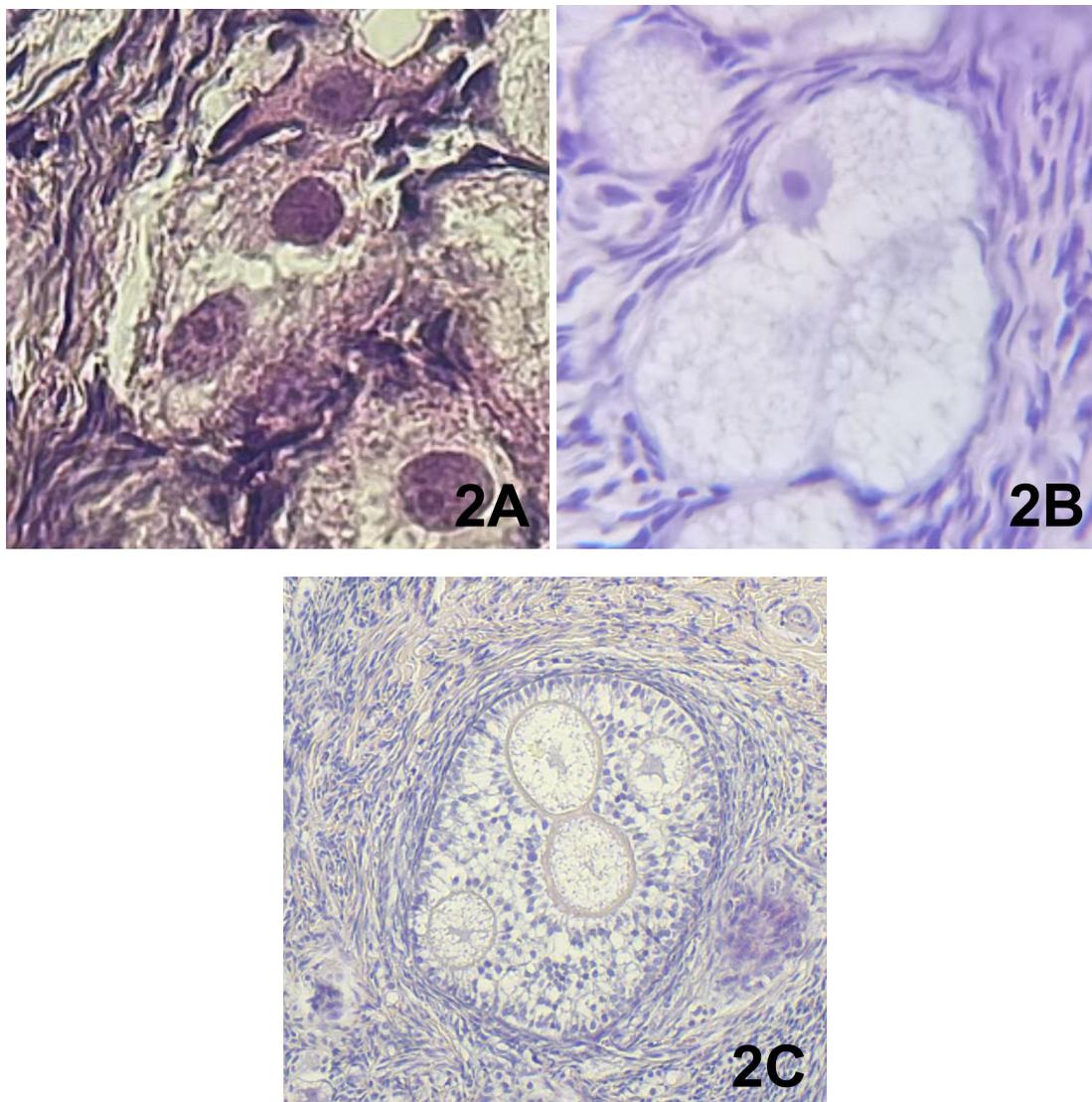
Ovário	Frequência de folículos mono e polioocitários (%)					
	Número de oócitos por folículo					
	Zero	Um	Dois	Três	Quatro	Cinco
OD	-	100,00	79,03	16,12	3,22	-
OE	-	100,00	75,75	27,27	4,54	-

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

A frequência de MOFs foi maior que a de POFs, de acordo com a Tabela 1. Telfer e Gosden (1987) relataram que folículos monoocitários são predominantes nos ovários de 15 espécies de mamíferos. Shehata (1979) também relatou a ocorrência de um pequeno número de POFs quando comparado ao número de folículos monoocitários na espécie felina.

Foram encontrados POFs contendo de dois a cinco oócitos (Figura 2). Observou-se que a frequência média de oócitos por folículo tendeu a diminuir em ambos os ovários (Tabela 1). Shehata (1979) e Cardoso (2017) também relataram a presença de POFs com dois a três oócitos nos ovários de gatas, sendo a maioria deles composta por POFs contendo dois oócitos.

Figura 2 - Folículos polioocitários (POFs) com dois, três e quatro oócitos, nos ovários de gatas adultas. 2A: POF primordial com dois oócitos no ovário direito (HE 100x); 2B: POF primordial com três oócitos no ovário esquerdo (HE 100x); 2C: POF secundário com quatro oócitos no ovário esquerdo (HE 40x).



Fonte: Imagem registrada pela autora (2023).

Hartman (1926) relatou a ocorrência de folículos contendo até oito oócitos em gata, sendo o máximo de oócitos por POF relatado na literatura. O estudo citado avaliou os ovários de apenas uma fêmea da espécie felina e não continha dados sobre a idade do animal. Dederer (1934) verificou POFs contendo até cinco oócitos ao analisar uma série completa de 316 lâminas correspondentes ao ovário de uma gata com quase um ano de idade, que continha 21 folículos com dois oócitos, nove com três oócitos e um com cinco oócitos. A série com o outro ovário estava incompleta, mas relatou que em 72 cortes, foram observados seis folículos com dois

oócitos, seis com três e dois com cinco oócitos.

O número médio de MOFs e POFs com dois, três ou mais oócitos, foi semelhante entre os ovários direito e esquerdo, das gatas estudadas ($p>0,05$), como mostra a Tabela 2.

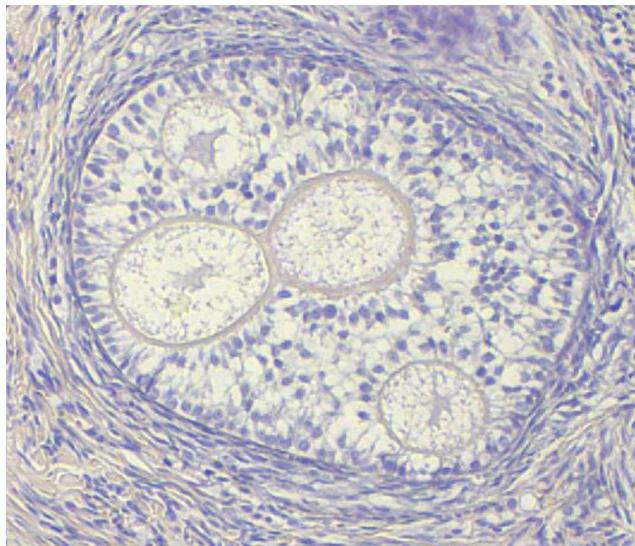
Tabela 2 - Número médio de folículos monoocitários (MOFs), contendo um oócito e polioocitários (POFs), contendo dois, três ou mais oócitos, nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de gatas adultas.

Ovário	Número médio de folículos mono e polioocitários			
	Número de oócitos por folículo			
	Zero	Um	Dois	Três ou mais
OD	6,58	310,5	3,25	0,29
OE	6,25	312,7	4,25	0,41
Valor de p	0,7569	0,9654	0,4785	0,5015

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Nos POFs foram encontrados oócitos em diferentes estádios de desenvolvimento (Figura 3).

Figura 3 - Folículo secundário com quatro oócitos em diferentes estádios do desenvolvimento, evidenciado pela espessura da zona pelúcida, ovário esquerdo (HE 40x).



Fonte: Figura registrada pela autora (2023).

Estudos realizados na espécie felina relataram que os oócitos encontrados no mesmo POF podem apresentar-se de diferentes tamanhos e degenerados, indicando que os estádios de desenvolvimento também são diferentes entre eles (MICLĂUȘ, GROZA e OANA, 2007). Shehata (1979) também mencionou a ocorrência de atresia de oócitos em POFs de gatas. Silva-Santos e Seneda (2011) apontaram que um atraso no desenvolvimento do oócito menor em relação aos outros pode desencadear degeneração oocitária nos POFs. Enquanto isso, outros autores relataram que, em seus estudos em gatas, todos os oócitos incluídos no mesmo folículo aparentavam estar no mesmo estágio de desenvolvimento (HARTMAN, 1926; SHEHATA, 1979; CARDOSO, 2017).

Todos os ovários das gatas estudadas apresentaram MOFs primordiais, 96,86% deles apresentaram MOFs primários, 91,31% MOFs secundários e 86,01% MOFs terciários (Tabela 3).

Tabela 3 - Frequência e classificação (primordiais, primários, secundários e terciários) de folículos monoocitários (MOFs), contendo um oócito e polioocitários (POFs), contendo dois, três, quatro ou cinco oócitos, nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de gatas adultas.

FREQUÊNCIA DE FOLÍCULOS PRIMORDIAIS (%)						
Ovário	Número de oócitos					
	Zero	Um	Dois	Três	Quatro	Cinco
OD	0,00	100,00	72,58	14,51	0,00	0,00
OE	0,00	100,00	71,21	18,18	4,54	1,51
FREQUÊNCIA DE FOLÍCULOS PRIMÁRIOS (%)						
Ovário	Número de oócitos					
	Zero	Um	Dois	Três	Quatro	Cinco
OD	0,00	96,77	22,58 ^a	1,61	0,00	0,00
OE	0,00	96,96	9,09 ^b	1,51	0,00	0,00
FREQUÊNCIA DE FOLÍCULOS SECUNDÁRIOS (%)						
Ovário	Número de oócitos					
	Zero	Um	Dois	Três	Quatro	Cinco
OD	0,00	88,70	11,29 ^a	0,00	3,22	0,00
OE	0,00	93,93	3,03 ^b	1,51	0,00	0,00
FREQUÊNCIA DE FOLÍCULOS TERCIÁRIOS (%)						
Ovário	Número de oócitos					
	Zero	Um	Dois	Três	Quatro	Cinco
OD	95,16	88,70	3,22 ^b	0,00	0,00	0,00
OE	95,45	83,33	13,63 ^a	0,00	0,00	0,00

^{ab}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem (p<0,05)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

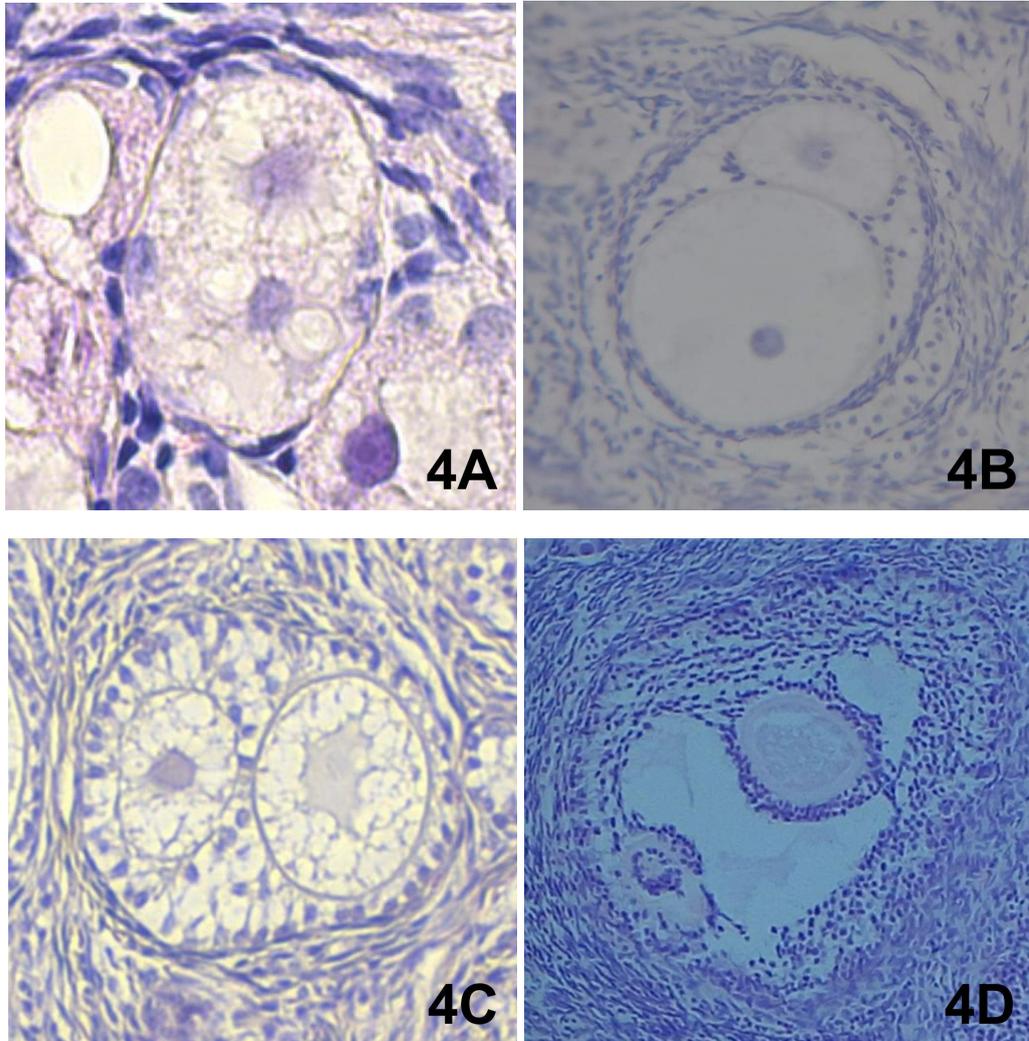
Carrijo Jr *et al.* (2010) relataram que a população folicular das gatas domésticas é composta por 87% de folículos primordiais, 10,4% de folículos primários e 2,3% de folículos secundários, o que corrobora com a menor ocorrência de folículos em estádios mais avançados de desenvolvimento observado nesse estudo.

POFs foram encontrados em todos os estádios de desenvolvimento, como pode ser observado na Tabela 3 e Figura 4. Relatos semelhantes foram descritos por Hartman (1926), Dederer (1934), Shehata (1979) e Miclăuș, Groza e Oana (2007).

No entanto, Uchikura, Nagano e Hishinuma (2010) e Cardoso (2017) observaram POFs apenas em estádios secundário, pré-antral e antral, enquanto Monteiro, Koivisto e Silva (2006) observaram somente folículos pré-antrais e antrais multiocitários.

Telfer e Gosden (1987) afirmaram ser mais provável encontrar POFs contendo dois a três oócitos, do que POFs pré-antrais com mais de cinco células germinativas. Proporção semelhante também foi observado nos ovários das gatas estudadas nesse estudo.

Figura 4 - Folículos polioocitários em diferentes estádios do desenvolvimento. 4A: POF primordial com dois oócitos, ovário esquerdo (HE 100x); 4B: POF primário com dois oócitos, ovário esquerdo (HE 100x); 4C: POF secundário com dois oócitos, ovário direito (HE 40x); 4D: POF terciário com dois oócitos, ovário esquerdo (HE 10x)



Fonte: Figura registrada pela autora (2023).

Ao se relacionar o número médio de oócitos por folículo com a idade das fêmeas, observou-se que a quantidade média de MOFs reduz com o avançar da idade das gatas, sendo que o número médio de MOFs diminui em gatas com idade superior a 48 meses, quando comparado àquele observado em gatas até 24 meses de idade ($p < 0,05$ – Tabela 4).

Tabela 4 - Número médio de folículos monoocitários (MOFs), contendo um oócito e polioocitários (POFs), contendo dois, três ou mais oócitos, nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de acordo com a idade de gatas adultas.

Idade	Número médio de MOFs e POFs			
	Número de oócitos			
	Zero	Um	Dois	Três ou mais
Até 12 meses	5,72	372,1 ^a	4,04	0,27
12-24 meses	7,21	376,7 ^a	2,67	0,17
24-48 meses	7,93	298,2 ^{ab}	2,37	0,37
Mais 48 meses	5,70	218,4 ^b	1,50	1,15
Valor de p	0,1830	0,0045	0,0656	0,5893

^{ab}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Miclăuș, Groza e Oana (2007) avaliaram os ovários de duas gatas, e relataram que naquela de quatro anos a reserva de folículos primordiais era significativamente menor, o número de folículos em crescimento era menor e havia folículos em diferentes estádios evolutivos em comparação aos ovários da gata de sete meses.

A formação primária dos oócitos ocorre nas fêmeas felinas aproximadamente até o oitavo dia de vida, porém não é totalmente esclarecido se a espécie possui um número pré-determinado de oócitos, ou se existem células indiferenciadas que podem se diferenciar durante a vida adulta (BRISTOL-GOULD e WOODRUFF, 2006; CARDOSO, 2017). Se há no ovário um número pré-determinado de oócitos, sem a ocorrência de diferenciação de novas células após sua formação primária, isso poderia explicar a redução do número de folículos, tanto monoocitários quanto polioocitários, com o avanço da idade, devido ao “uso” dessas células indiferenciadas, sem nova produção e/ou substituição, como o observado nos dados desse estudo (Tabela 4).

O número médio de POFs contendo dois ou três ou mais oócitos foi semelhante com o avançar da idade das gatas ($p > 0,05$ – Tabela 4), embora se observou uma tendência estatística ($p = 0,06$) de maior número médio de POFs com

dois oócitos em gatas de até 12 meses. Shehata (1979) relatou a ocorrência de POFs nos ovários de uma gatinha recém-nascida, mas não nos ovários de animais adolescentes ou adultas. Miclăuș, Groza e Oana (2007) ao analisarem os ovários de duas gatas, de sete meses e quatro anos, encontraram POFs em ambos animais sendo mais frequentes no animal mais jovem. Uchikura, Nagano e Hishinuma (2010) encontraram porcentagem de POFs semelhantes entre as faixas etárias estudadas, porém as faixas abrangeram ovários de gatas de menos de 20 dias a 120 dias de vida. Cardoso (2017), ao avaliar ovários de 11 gatas submetidas à OSH eletiva, evidenciou maior ocorrência de POFs em animais jovens. Porém, os estudos relataram a ocorrência de POFs nos animais de seus respectivos estudos, sem nenhuma correlação estatística com a idade dos animais, como observado na Tabela 4 desse estudo.

O número médio de MOFs foi maior ($p < 0,05$) nas gatas com histórico de duas ou mais gestações, do que nas gatas nulíparas ou com apenas uma gestação relatada (Tabela 5). Ao se considerar o número médio de POFs, não se observou diferença no número deles com dois oócitos ($p > 0,05$) entre gatas que nunca gestaram e aquelas com uma, duas ou mais gestações; embora gatas com duas ou mais gestações apresentaram número médio maior de POFs com três ou mais oócitos ($p < 0,05$).

Tabela 5 - Número médio de folículos monoocitários (MOFs), contendo um oócito e polioocitários (POFs), contendo dois, três ou mais oócitos, nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE), de acordo com o número de gestações de gatas adultas.

Número de gestações	Número médio de MOFs e POFs			
	Número de oócitos			
	Zero	Um	Dois	Três ou mais
Nenhuma	7,00	282,7 ^b	3,25	0,10 ^b
Uma	5,85	281,0 ^b	3,15	0,25 ^b
Dois ou mais	6,37	460,5 ^a	6,50	1,25 ^a
Valor de p	0,6218	0,0255	0,2125	

^{ab}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Monteiro, Koivisto e Silva (2006) avaliaram os ovários de dez gatas nulíparas e dez multíparas. No primeiro grupo, constataram-se dois ovários e, no segundo, apenas um ovário, com presença de folículos pré-antrais e antrais, com mais de um oócito por folículo.

Ao se considerar o número de estros, observou-se que, o número médio de MOFs foi maior nas gatas pré-púberes, que não haviam apresentado nenhum estro, do que nas gatas púberes com um, dois ou mais estros ($p < 0,05$ – Tabela 6). Gatas pré-púberes e púberes apresentaram número de POFs com dois oócitos semelhantes ($p > 0,05$), embora as gatas com dois ou mais estros apresentaram maior número de POFs com três ou mais oócitos ($p < 0,05$ – Tabela 6).

Tabela 6 - Número médio de folículos monoocitários (MOFs), contendo um oócito e polioocitários (POFs), contendo dois, três ou mais oócitos, nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE), de acordo com o número de estros de gatas adultas.

Número de estros	Número médio de MOFs e POFs			
	Número médio de oócitos			
	Zero	Um	Dois	Três ou mais
Nenhum	8,50	512,7 ^a	3,50	0,00 ^b
Um	5,40	261,7 ^b	3,67	0,21 ^a
Dois ou mais	7,68	348,7 ^{ab}	3,93	0,68 ^a
Valor de p	0,648	0,0118	0,9805	0,0265

^{ab}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Uchikura, Nagano e Hishinuma (2010) relataram frequência de 2,1 a 5,1% de POFs em 11 gatas pré-púberes, divididas em três grupos de acordo com o peso corporal do animal: grupos A (240, 250 e 290 g), B (450, 470 e 500 g) e C (1010, 1040, 1120, 1280 e 1310 g). As idades estimadas das gatas de cada grupo foram inferior a 20 dias, 20-40 dias e 100-120 dias, respectivamente. Shehata (1979) relatou a ocorrência de POFs nos ovários de uma gatinha recém-nascida, consequentemente pré-púbere, mas não nos ovários de animais adolescentes ou adultos (púberes).

O peso das gatas estudadas influenciou a ocorrência de MOFs e POFs, nos ovários, como mostra a Tabela 7. A ocorrência de maior número médio de MOF e POF com dois oócitos foi observado nos ovários de gatas com menos de dois quilos e acima de 3,1Kg ($p < 0,05$). No entanto, gatas com mais de 3,1 Kg apresentaram mais POFs com três ou mais oócitos do que as gatas mais leves ($p < 0,05$).

Tabela 7 - Número médio de folículos monoocitários (MOFs), contendo um oócito e polioocitários (POFs), contendo dois, três ou mais oócitos, nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE), de acordo com o peso de gatas adultas.

Peso	Número médio de MOFs e POFs			
	Número médio de oócitos			
	Zero	Um	Dois	Três ou mais
Até 2 Kg	7,66	398,2 ^a	6,16 ^a	0,08 ^b
2,1 – 3,0 Kg	6,37	247,1 ^b	1,79 ^b	0,16 ^b
3,1 Kg ou mais	5,25	354,1 ^{ab}	5,25 ^a	1,00 ^a

^{ab}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Não foram encontrados dados na literatura relacionando o peso dos animais à presença de POFs. Nesse estudo, nenhuma gata se encontrava em sobrepeso ou obesa, sendo que todas apresentavam entre 1,9 a quatro quilos. A pequena variação observada no peso dos animais poderia dificultar a interpretação fisiológica de um possível efeito do peso na dinâmica ovariana.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições desse estudo nos ovários de gatas observou-se que:

1. Os ovários apresentam POFs em todos os estádios do desenvolvimento folicular;
2. Os POFs analisados continham até cinco oócitos, sendo igualmente distribuídos nos ovários direito e esquerdo;
3. Os oócitos dentro de um mesmo POF podem se encontrar em diferentes estádios do desenvolvimento;
4. A ocorrência de POFs em gatas sofre influência da idade, número de gestações, número de estros e peso dos animais, e
5. Faz-se necessário a realização de estudos posteriores e complementares a fim de verificar a correlação da fertilidade e POFs na espécie felina, bem como o potencial de ovulação dos POFs e de fertilização de seus oócitos a fim de contribuir para elucidar a eficiência reprodutiva de felídeos em geral e/ou como ferramenta para preservação de felinos em extinção.

REFERÊNCIAS

AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. Ovarian Follicular Dynamics: a review with emphasis on the bovine species. part I. **Reproduction In Domestic Animals**, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 171-179, fev. 2010. Wiley. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01302.x>>. Acesso em: jun. 2023.

ASTUDILLO, I. *et al.* Meiotic Development of Canine Oocytes from Poly-Ovular and Mono-Ovular Follicles after In Vitro Maturation. **Animals**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 648, 13 fev. 2023. MDPI AG. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2615/13/4/648>>. Acesso em: ago. 2023.

BRISTOL, S.K.; WOODRUFF, T.K. Follicle-Restricted Compartmentalization of Transforming Growth Factor β Superfamily Ligands in the Feline Ovary. **Biology Of Reproduction**, [S.L.], v. 70, n. 3, p. 846-859, 1 mar. 2004. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.103.021857>>. Acesso em: ago. 2023.

BRISTOL-GOULD, S.; WOODRUFF, T.K. Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*). **Theriogenology**, [S.L.], v. 66, n. 1, p. 5-13, jul. 2006. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.019>>. Acesso em: jun. 2023.

CARDOSO, C.F.R. **Desenvolvimento folicular ao longo do ciclo éstrico na cadela e gata**. 2017. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2017. Disponível em: <<chromeextension://efaidnbmninnibpcajpcgclclefindmkaj/https://recil.ensinolusofona.pt/bitstream/10437/8257/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20de%20Mestrado%20-%20Modelo%20final>>. Acesso em: ago. 2023.

CARRIJO JR, O.A. *et al.* Morphometry, estimation and ultrastructure of ovarian preantral follicle population in queens. **Cells Tissues Organs**, [S.L.], v. 191, n., p. 152-160, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19546511/>>. Acesso em: ago. 2023.

CHOHAN, K.R.; HUNTER, A.G. *In vitro* maturation, fertilization and early cleavage rates of bovine fetal oocytes. **Theriogenology**, [S.L.], v. 61, n. 2-3, p. 373-380, jan. 2004. Elsevier BV. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0093-691x\(03\)00220-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00220-6)>. Acesso em: jun. 2023.

DEDERER, P.H. Polyovular follicles in the cat. **The Anatomical Record**, v. 60, n. 4, p. 391-397, 1934.

FAIR, T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. **Animal Reproduction Science**, [S.L.], v. 78, n. 3-4, p. 203-216, out. 2003. Elsevier BV. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320\(03\)00091-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320(03)00091-5)>. Acesso em: jun. 2023.

HARTMAN C.G. Polynuclear ova and polyovular follicles in the opossum and other mammals, with special reference to the problem of fecundity. **American Journal of Anatomy**, Baltimore, v. 37, p. 1-51, 1926.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Aparelho reprodutor feminino. *In*: (Eds.). **Histologia básica**. 12.ed. Guanabara Rio de Janeiro: Koogan, 2013. p.427-446.

LIMA, A.K.F. **Determinação da população folicular, criopreservação e cultivo de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais de gata doméstica**. 2006. 83 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2006. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-8250>>. Acesso em: jul. 2023.

LONERGAN, P. *et al.* Effect of Follicle Size on Bovine Oocyte Quality and Developmental Competence Following Maturation, Fertilization, and Culture *In Vitro*. **Molecular Reproduction And Development**, Newcastle, v. 37, p. 48-53, 1994. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8129930/>>. Acesso em: ago. 2023.

LUCCI, C.M. *et al.* Zebu (*Bos indicus*) ovarian preantral follicles: morphological characterization and development of an efficient isolation method. **Theriogenology**, [S.L.], v. 57, n. 5, p. 1467-1483, mar. 2002. Elsevier BV. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)00641-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00641-6)>. Acesso em: ago. 2023.

LUNARDON, N.T. *et al.* Population estimate of the preantral follicles and frequency of multioocyte follicles in prepubertal and adult bitches. **Theriogenology**, v.83, p.1015-1020, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25572648/>>. Acesso em: ago. 2023.

MICLĂUȘ, V.; GROZA, I.; OANA, L. Domestic cat (*Felis catus*) polyovular follicles. **Bulletin**, N. 64, 2007.

MONTEIRO, C.M.R; KOIVISTO, M.B.de; SILVA, A. Perfil histológico do útero e ovários de gatas submetidas à ovariosalpingohisterectomia. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 326-241, dez. 2006. Disponível em: <>. Acesso em: ago. 2023.

PAYAN-CARREIRA, R.; PIRES, M.A. Multioocyte follicles in domestic dogs: a survey of frequency of occurrence. **Theriogenology**, [S.L.], v. 69, n. 8, p. 977-982, maio 2008. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.013>>. Acesso em: jul. 2023.

REYNAUD, K. *et al.* Folliculogenesis and Morphometry of Oocyte and Follicle Growth in the Feline Ovary. **Reproduction In Domestic Animals**, [S.L.], v. 44, n. 2, p. 174-179, abr. 2009. Wiley. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.01012.x>>>. Acesso em: ago. 2023.

RODRIGUEZ, K.F.; FARIN, C.E. Gene transcription and regulation of oocyte maturation. **Reproduction, Fertility And Development**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 55, 2004. CSIRO Publishing. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1071/rd03078>>.

Acesso em: ago. 2023.

SADEU, J. *et al.* Morphological and ultrastructural evaluation of cultured frozen– thawed human fetal ovarian tissue. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 85, p. 1130- 1141, abr. 2006. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.09.038>>. Acesso em: jul. 2023.

SHEHATA, R. Polyovular Graafian follicles in a newborn kitten with a study of polyovuli in the cat. **Acta Anatomica**, Cairo, v. 89, p. 21-30, 1974.

SILVA-SANTOS, K.C.; SENEDA, M.M. Multiocyte follicles in adult mammalian ovaries. **Animal. Reproduction**, v. 8, n. 3/4, p. 58-67, 2011.

TELFER, E.; R.G. GOSDEN. A quantitative cytological study of polyovular follicles in mammalian ovaries with particular reference to the domestic bitch (*Canis familiaris*). **Journals Of Reproduction And Fertility Ltda**, Great Britain, v. 81, p. 137-147, 1987. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3668945/>>. Acesso em: jun. 2023.

UCHIKURA, K; NAGANO, M; HISHINUMA, M. Evaluation of Follicular Development and Oocyte Quality in Pre-pubertal Cats. **Reproduction In Domestic Animals**, [S.L.], v. 45, n. 6, p. 405-411, 19 fev. 2010. Wiley. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01590.x>>. Acesso em: jun. 2023.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717- 1751, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15763114/>>. Acesso em: jun. 2023.

VAN WEZEL, I.L.; RODGERS, R.J. Morphological Characterization of Bovine Primordial Follicles and Their Environment *In Vivo*. **Biology Of Reproduction**, Bedford Park, v. 55, p. 1003-1011, 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8902210/>>. Acesso em: jul. 2023.

WANG, Q.; SUN, Q. Evaluation of oocyte quality: morphological, cellular and molecular predictors. **Reproduction, Fertility And Development**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 1, 2007. CSIRO Publishing. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1071/rd06103>>. Acesso em: jul. 2023.

WLODARCZYK, R. *et al.* *In vitro* maturation and degeneration of domestic cat oocytes collected from ovaries stored at various temperatures. **Veterinárni Medicina**, [S.L.], v. 54, n. 10, p. 491-497, 2009. Disponível em: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/75_2009-VETMED.pdf>. Acesso em: jun. 2023.

ZOPPEI, A.P. *et al.* Quantification of multi-oocyte follicles in ovaries of bitches. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.L.], v. 73, n. 6, p. 1269-1277, dez. 2021. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-12385>>. Acesso em: jun. 2023.

ANEXO A - FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL “QUANTIFICAÇÃO DE FOLÍCULOS MULTIOOCITÁRIOS EM GATAS”

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - CAMPUS REALEZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, BEM-ESTAR E PRODUÇÃO
ANIMAL SUSTENTÁVEL NA FRONTEIRA SUL**

**FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL
“Quantificação de folículos multiocitários em gatas”**

O presente trabalho pretende avaliar folículos ovarianos provenientes de gatas submetidas a OSH, e quantificá-los de acordo com os dados abaixo:

Número de Identificação do Animal: _____

Nome: _____

Idade: _____

Raça: _____

Peso: _____

Em relação a categoria animal:

Pré-púbere (sem estro ou nunca teve estro)

Púbere (em estro ou já teve estro)

Senil (velha)

Motivo da OSH:

Eletiva

Terapêutica

Caso terapêutica, diagnóstico clínico: _____

Avaliação pós-cirúrgica:

1. Presença de alteração nos órgãos reprodutivos: SIM NÃO

a. Se sim, qual/quais: _____

b. Alguma outra doença: _____

Médico Veterinário Responsável