

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

ROBERTA RAMOS DOS SANTOS

Aspectos da foliculogênese em gatas domésticas (*Felis catus*)

PORTO ALEGRE

2022

ROBERTA RAMOS DOS SANTOS

Aspectos da foliculogênese em gatas domésticas (*Felis catus*)

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Rodrigues

PORTO ALEGRE

2022

Roberta Ramos dos Santos

Aspectos da foliculogênese em gatas domésticas (*Felis catus*)

Aprovado em 10 MAIO 2022

APROVADO POR

Prof. Dr. José Luiz Rodrigues

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Marcelo Bertolini

Membro da Comissão

M.V. Doutorando Higor Ferreira

Membro da Comissão

Dedico o presente trabalho à minha amada Dandara, que me presenteou com a missão mais desafiadora e linda da vida, a maternidade. Filha, tu foste a força que precisei quando pensei em fraquejar, esta conquista é por nós!

Ao meu querido avô Roberto (*in memoriam*), que nos deixou durante o desenvolvimento deste trabalho, que agora lá do céu me guia e me ilumina. “Vô nego”, agora celebramos juntos em meu coração a finalização da última etapa da tão sonhada graduação, te amo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo apoio, amor e cuidado prestado durante a execução do presente trabalho, isso foi fundamental para que eu pudesse concluí-lo. Em especial minha mãe, que sempre deu seu melhor por mim, minha avó sempre tão solícita e fraterna, minha tia e madrinha Leila que tanto me compreende e foi meu pilar de sustentação. Meu irmão Rhuan, que me incentiva a ser melhor a cada dia devido ao meu cargo de irmã mais velha. Meu companheiro Wellington, por seu apoio e sempre acreditar no meu potencial. Minha filha Dandara, alegria dos meus dias e razão pela qual me dedico à futura profissão. Gabi, minha prima pelo apoio emocional que me sustentou por tantas vezes. Meus padrinhos e Madrinhas, tios, tias e primos, obrigada pelo apoio e incentivo.

Ao professor Rodrigues, que orientou, auxiliou, incentivou e tranquilizou com suas palavras, me fazendo acreditar que tudo daria certo no final.

Aos meus amigos de infância sempre dispostos a me ouvirem, animarem ou até chorarem junto comigo: Andryus, Lucas, Sergio, Mari e Fabi. Amo vocês.

As minhas amigadas de graduação, que vão para além do *campus*. Em especial, a Carol, a quem eu conferi a tarefa de ser madrinha da minha filha. Também a Luciele, Bruna, Pietra e Priscila e a tantos outros colegas que tornaram essa jornada mais leve, foi uma honra trilhar esse caminho com vocês.

Aos professores, colegas e funcionários do curso, em especial aos professores Ana Cristina, Alan, Marcelo Bertolini, Anelise, Mary Jane, Verinha, Rui Lopes, Rui Campos, e João Fábio. Vocês são incríveis na arte de ensinar, é notória a dedicação empregada nas atividades de docência, e isto faz total diferença na nossa formação como médicos veterinários. Além das salas de aulas, foi satisfatório poder contar com o apoio do Seu João, da Ana da biblioteca, do Daniel da COMGRAD, do Luciano e da Adri do bar da Faculdade de Veterinária.

Aos meus queridos animais de estimação, que por vezes foram meus companheirinhos de estudo e modelos de sala de aula. Ao tutorá-los eu aprendi muito sobre amor, cuidado, carinho e lealdade. Em especial, minha gigante e gentil Ailah, que infelizmente não chegou até o final do curso comigo e virou uma das estrelinhas mais brilhantes lá no céu.

E a todos aqueles que acreditaram na minha vitória durante o processo, meu muitíssimo obrigada!

“Afinal, para que serve o conhecimento? Qual é o poder do saber? Não podemos perder a perspectiva de que a finalidade do poder é servir. Servir à vida, servir a uma comunidade, servir às pessoas.”

MARIO SERGIO CORTELLA

RESUMO

Esta revisão bibliográfica descreve os eventos que envolvem o processo da foliculogênese em gatas domésticas, espécie considerada poliéstrica sazonal e de ovulação induzida a partir de estímulo copulatório. Objetiva esclarecer ao leitor os diferentes aspectos da foliculogênese e suas relações com os eventos que ocorrem no sistema reprodutivo de felinos. O avanço do conhecimento neste cenário será útil no manejo reprodutivo de gatos domésticos. Ao mesmo tempo irá enriquecer o debate no âmbito dos estudos comparativos entre espécies e servir de alicerce para o desenvolvimento das biotécnicas da reprodução, como por exemplo, produzir embriões utilizando ovócitos cultivados *in vitro*. Esta área da reprodução animal também é de interesse dos grupos de pesquisa que trabalham com a finalidade de preservar outras espécies, como por exemplo, felinos não domésticos ameaçados ou em risco de extinção. Assim, o texto é dividido em duas etapas, a primeira discorre sobre as particularidades do sistema reprodutivo feminino, abordando características do ciclo estral e ovulação; e a segunda apresenta as etapas do desenvolvimento folicular desde o desenvolvimento embrionário, a partir da migração de células germinativas precursoras (CGPs), abordando também os processos de oogênese e de morfofisiologia dos folículos ovarianos. O texto apresenta ainda, alguns aspectos da utilização da MOIFOPA que surge como uma nova ferramenta capaz de elucidar questões fundamentais sobre a fase inicial de desenvolvimento e maturação dos gametas femininos na espécie. Avanços na área podem facilitar o entendimento da foliculogênese em felinos domésticos, podendo ser extrapolado para espécies de felinos ameaçadas ou em risco de extinção.

Palavras-Chave: Foliculogênese; Gata doméstica; Ciclo estral; Reprodução; FOPA.

ABSTRACT

This review describes the events that involve the folliculogenesis process in domestic cats, a species considered seasonally polyestrous, with ovulation induced by copulatory stimulus. Understanding follicular growth and its relationship with events involved in the female reproductive system of felines, present advantages to improve the reproductive management of domestic cats; enlighten the debate within comparative studies between species; and it is of importance for research groups working to preserve other species, such as endangered non-domestic cats. Thus, the text discusses the stages of follicular development from embryonic and fetal stages, from the migration of precursor germ cells (PGCs), also addressing the processes of oogenesis, morphophysiology of ovarian follicles, characteristics of the estrous cycle and ovulation. The text also presents the use of Manipulation of Oocytes Included in Pre-Antral Ovarian Follicles (MOIFOPA) which emerges as a new tool capable of elucidating fundamental issues involved in the initial phase of formation and growth of female gametes.

Keywords: Folliculogenesis; domestic cat; estrous cycle; Reproduction; FOPA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Efeito do fotoperíodo no eixo hipotálamo-hipófise-ovariano.....	16
Quadro 1: Características comportamentais e físicas das fases do ciclo estral.....	20
Figura 2: Ovário de gata adulta	23
Figura 3: Esquema ilustrativo das diferentes classes de desenvolvimento folicular.....	26
Figura 4: Esquema da formação do cisto germinativo	28
Figura 5: Folículos primordiais de gatas	31
Figura 6: Ovário de gata doméstica.....	32
Figura 7: Folículos secundários de gatas.....	33
Figura 8: Folículos antrais (pré-ovulatórios).....	34
Figura 9: Folículos multi-ovocíticos (MOFs) em ovário de gata.	35

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

CAPEs	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CG	Células da Granulosa
CGPs	Células Germinativas Primordias
CIV	Cultivo <i>in vitro</i>
CL	Corpo Lúteo
CO2	Dióxido de carbono
CT	Células da Teca
FIV	Fecundação <i>in vitro</i>
FOPA	Folículos Pré Antrais
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
H	Hora
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
hMG	Gonadotrofina Menopáusica Humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kg	Quilograma
LH	Hormônio Luteinizante
MIV	Maturação <i>in vitro</i>
ml	Mililitro
mm	Milímetro
MOIFOPA	Manipulação De Oócitos Inclusos em Folículos Ovarianos Pré Antrais
OSH	Ovariosalpingohisterectomia
pg	Picograma
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 MÉTODOS.....	13
3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	14
3.1 PARTICULARIDADES REPRODUTIVAS DE GATAS DOMÉSTICAS	14
3.1.1 Puberdade	14
3.1.2 Fotoperíodo.....	15
3.1.3 Ciclo estral.....	17
3.1.4 Influencia hormonal no ciclo estral	20
3.1.5 Ovulação induzida versus espontânea	21
3.2 ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS OVARIANOS	22
3.3 RETE OVARIII	23
4 FOLICULOGENESE.....	25
4.1 CÉLULAS GERMINATIVAS PRIMORDIAIS	27
4.2 OOGENESE	28
4.3 MORFOFISIOLOGIA FOLICULAR	30
4.3.1 Folículos primordiais e primários.....	30
4.3.2 Folículos Secundários.....	32
4.3.3 Folículos antrais.....	33
4.3.4 Folículos multi-ovocíticos	34
4.4 POPULAÇÃO DE FOLÍCULOS E ATRESIA FOLICULAR	35
5 MANIPULAÇÃO DE FOLÍCULOS PRÉ-ANTRAIS (MOIFOPA).....	37
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40

1 INTRODUÇÃO

Os felinos domésticos (*Felis catus*), segundo dados apresentados em uma pesquisa quinquenal realizada pelo IBGE, representaram em 2018, número equivalente a 23,9 milhões de indivíduos. Nos lares brasileiros os animais de estimação foram os que mais cresceram (8,1%) em relação ao censo do ano de 2013 (INSTITUTO PET BRASIL, 2019). Este aumento no número de animais, desperta interesse nos tutores em desenvolver a criação de felinos domésticos, por outro lado, estimula aos médicos veterinários a se prepararem para atender a tal demanda, compreendendo as características únicas da reprodução na espécie. Portanto, considerando o presente cenário, a difusão dos resultados de estudos que abordem tais aspectos, possui notória relevância, sendo úteis para auxiliar criadores na organização do manejo reprodutivo em gatis, sejam eles comerciais ou de pesquisa.

Contudo, à proporção que aumenta o número de gatos domésticos, há também um percentual destes animais que são submetidos a irresponsabilidade por parte de tutores e acabam gerando um grande número de animais abandonados. Assim, a castração ou esterilização é um procedimento que cresce na rotina de clínicas e hospitais veterinários, sendo considerada a melhor forma de evitar que animais procriem de forma descontrolada, principalmente a população de animais em situação de rua. Em contrapartida, tutores responsáveis, cada vez mais, buscam por uma melhora no bem-estar e qualidade de vida dos seus animais, investindo em procedimentos de esterilização a fim de evitar fugas e ninhadas indesejáveis (VIEIRA, 2008). Considerando estes dados e os associando aos benefícios que os ovários das gatas podem ofertar como modelo de foliculogênese ovariana, pode-se tornar o procedimento de ovariectomia (OSH), fonte de ovários a serem encaminhados para laboratórios que possuem rotina na aplicação de biotecnologias reprodutivas (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006).

Estudos da fisiologia reprodutiva felina e avanços na tecnologia reprodutiva podem ainda ser extrapolados para trabalhos que objetivem preservar espécies de felinos silvestres. Apesar de cada espécie apresentar suas particularidades, é importante examinar os mecanismos reprodutivos em modelos animais alternativos, pois há um grande número de espécies ameaçadas e em perigo de extinção que não se possui dados da biologia reprodutiva necessários para atuar auxiliando na sua sobrevivência a longo prazo (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006).

Para além disto, o uso de diferentes modelos animais, em substituição às espécies convencionais como bovinos e camundongos, poderá disponibilizar novos conhecimentos

sobre as etapas do processo, além de ampliar o cenário sobre o desenvolvimento fisiológico ou patológico do ovário e dos folículos em particular. Mouttham e Comizzoli (2016), destacam que o gato doméstico é um excelente modelo de estudo de preservação da fertilidade humana, superando outras, como por exemplo, o camundongo, devido ao compartilhamento de características entre as espécies humana e felina relacionadas a anatomia, fisiologia e patologia ovariana.

O aumento da proximidade do homem com o gato doméstico, selecionou ao longo dos anos, diversas características agradáveis à esta relação. Dentre estas características, sejam elas físicas ou genéticas, estão as relacionadas ao comportamento e fisiologia reprodutiva. Esta seleção resultou em maior diversidade na apresentação de comportamentos sexuais na espécie, mesmo em gatas de uma mesma raça (BEAVER, 2003). Apesar disso, o comportamento reprodutivo foi descrito ao longo dos anos, mas a base fisiológica envolvendo o ciclo reprodutivo, ainda carece de informações. Nas décadas de 1970 e 1980, foram esclarecidos diferentes aspectos dos mecanismos envolvidos no sucesso da reprodução felina cujos resultados são úteis até os dias atuais, como por exemplo, a função luteal durante a pseudogravidez (PAAPE *et al.*, 1975), os níveis de estradiol e progesterona plasmáticos em diferentes etapas do ciclo (VERHAGE *et al.*, 1976); duração do ciclo reprodutivo e a prenhez (JEMMET; EVANS, 1977); função folicular determinada pelas concentrações de estradiol e sua relação com o comportamento estral e cornificação do epitélio vaginal (SHILLE *et al.*, 1979a); efeito dos estímulos copulatórios na ovulação e reflexo de liberação de LH (WILDT *et al.*, 1980) bem como o comparativo entre cópula simples e múltiplas nesses eventos (CONCANNON *et al.*, 1980). À medida que avanços na compreensão de fenômenos reprodutivos são feitos, novas questões surgem. Mecanismos que atuam na ovulação induzida, o papel hormonal da placenta e o potencial de folículos multioocitários, são alguns exemplos de lacunas ainda a serem elucidadas na espécie (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006).

Assim, o texto discorre sobre o desenvolvimento folicular desde etapas embrionárias e fetais, a partir da migração de células germinativas precursoras (CGPs), abordando também os processos de oogênese e de morfofisiologia dos folículos ovarianos, característicos do ciclo estral e da ovulação. O texto apresenta ainda a utilização da MOIFOPA que surge como uma nova ferramenta capaz de explicar questões fundamentais envolvidas na fase inicial de formação e crescimento dos gametas femininos.

2 MÉTODOS

A elaboração desta revisão de literatura narrativa, foi baseada em levantamento e pesquisa bibliográfica em acervos virtuais na internet e biblioteca local da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A busca e seleção de literatura serviu de base à investigação e permitiu conhecer as diferentes formas de contribuição científica sobre a temática da foliculogênese em gatas domésticas.

Pesquisas foram realizadas em sistemas de informação computadorizados para obtenção de informações, como por exemplo, Google Acadêmico, PubMed, periódicos CAPES e SciELO. Nestas ferramentas de busca os termos empregados na língua inglesa foram: “Foliculogênese”, “Foliculogênese em Mamíferos”, “Células gaméticas femininas”, “folículos ovarianos”, “FOPA”, “MOIFOPA”, “Ciclo estral”, “Reprodução em Felinos domésticos” e seus equivalentes.

Através do título dos trabalhos, a leitura e a análise dos resumos, foram selecionados aqueles que abordavam o desenvolvimento dos gametas femininos em gatas domésticas ou mamíferos. Desta seletiva, resultaram artigos, publicados entre 1975 e 2021, que apresentavam informações contemporâneas e relevantes sobre a temática, contextualizando e enriquecendo a revisão em questão. Livros e revisões de literatura também foram utilizados para apresentar bases da reprodução e elaborar a introdução e a argumentação do tema.

Conforme foi progredindo a busca de dados, foi possível ao autor aprofundar o tema, permitindo conhecer o contexto histórico e as contribuições de outros autores selecionados, que por fim, tinham suas fontes citadas conforme normas e técnicas presentes na NBR 6023 da Associação Brasileira de normas técnicas (ABNT) (RODRIGUES, 2020).

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 Particularidades reprodutivas de gatas domésticas

3.1.1 Puberdade

Segundo Hyttel *et al.* (2012), a puberdade é definida como a aquisição da capacidade reprodutiva, a partir de uma série de eventos que atuam alterando padrões nervosos e endócrinos e desencadeando o início da atividade cíclica dos ovários, conferindo a manifestação do primeiro estro. Kustritz (2010) e Beaver (2003), concordam que o tempo exato para que a puberdade seja alcançada, é um dado que varia consideravelmente em gatas.

Para Little (2011), a ocorrência do primeiro ciclo é influenciada por vários fatores tais como raça, estação do ano e condição corporal da fêmea. Em relação a idade, para a maioria dos autores consultados como Burke (1975), Bristol-Gould e Woodruff, (2006), Kustritz, (2010) e Silva (2020) a idade ao primeiro estro é um fator de grande variação, ocorrendo na maioria das gatas entre os 4 e os 12 meses de idade. Christiansen (1988) descreve a ocorrência deste intervalo um pouco mais cedo, entre os 3 e os 12 meses. Já para Little (2011), a idade ao primeiro estro pode ocorrer ainda mais tarde, entre os 4 e os 18 meses de idade. Beaver (2003) destaca o fato da gata residir em ambiente domiciliar, confere a ocorrência do primeiro estro entre 3 e 12 meses de idade (geralmente entre 5 e 9 meses) e já em gatas de vida livre, a puberdade é atingida em uma idade mais avançada, podendo ocorrer dos 15 até os 18 meses de idade. No entanto, a autora considera a presença de um gato macho ou fêmea em estro, a época do ano e o clima como fatores influentes em relação a idade da puberdade.

Os sinais do primeiro estro podem estar associados à capacidade fisiológica de conceber, como quando as fêmeas atingem um peso corporal de 2,3 a 2,5 kg (GIMÉNEZ *et al.*, 2006). Fatores ambientais associados a essa capacidade, conferem a fêmeas que nascem no início da estação (primavera) apresentar estro no outono, ao invés do próximo inverno (BEAVER, 2003). Isto pode ocorrer devido à idade e ou peso adequados durante a estação reprodutiva, influenciando estes indivíduos a alcançar a puberdade mais precocemente do que as que atinjam tais características em épocas de anestro sazonal (SILVA, 2020).

Em relação ao fator racial, um questionário aplicado a criadores de gatos de raça no Canadá (POVEY, 1978), possibilitou identificar a influência desta variável na ocorrência da puberdade. Fêmeas que apresentem a característica de pelagem curta, como Siamês e Birmanês,

alcançam a puberdade mais precocemente (8,5 a 9 meses), do que aquelas que apresentam pelo longo e também do que fêmeas das raças Manx (10 a 12 meses).

3.1.2 Fotoperíodo

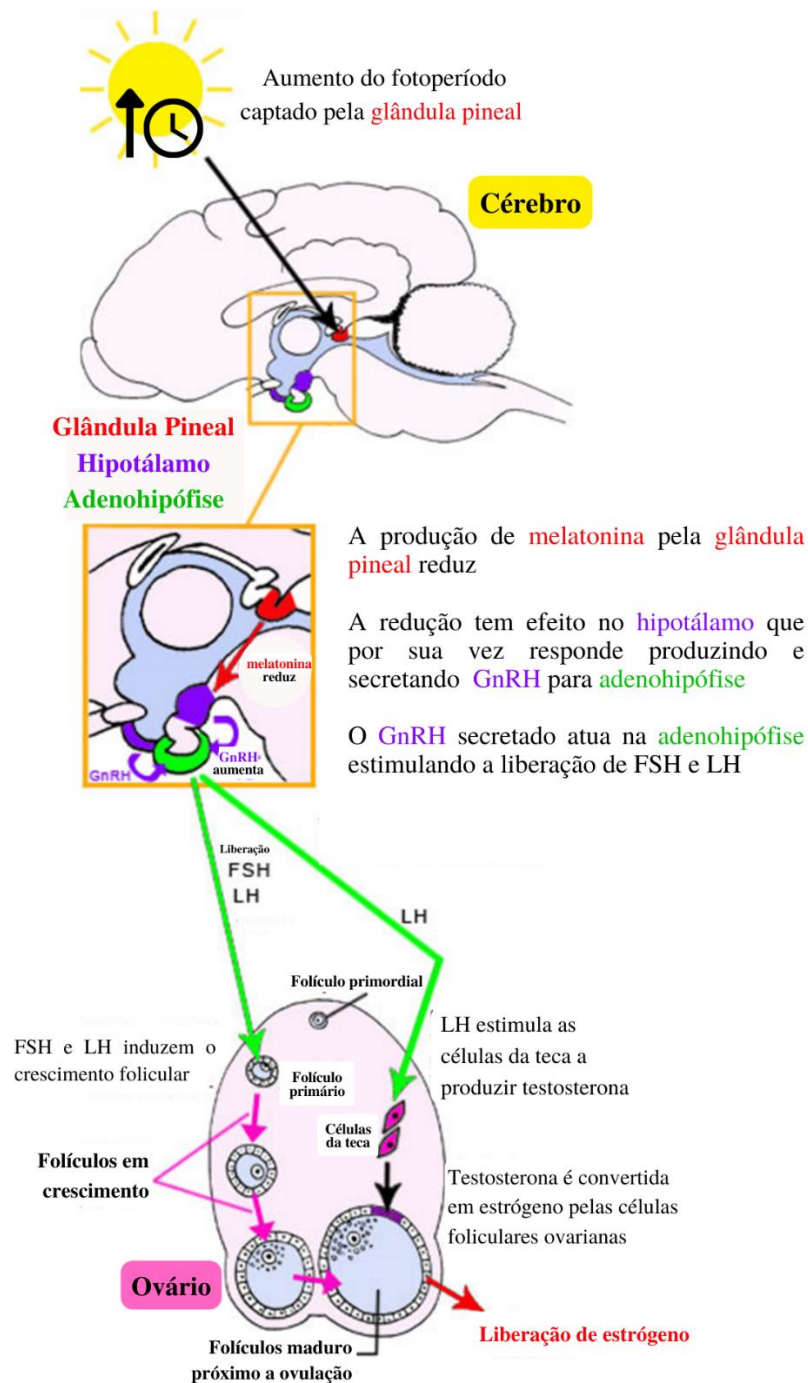
De acordo com Hurni (1981) e Toniollo *et al.* (1995) o fotoperíodo influencia o ciclo reprodutivo dos felinos domésticos em condições ambientais naturais, determinado pela latitude geográfica e possivelmente o clima local. O período de maior atividade sexual é a chamada estação reprodutiva, que ocorre durante a época de maior exposição a horas de luz diária (em média 14 horas). Esta época, em que a luminosidade diária aumenta tem início ao final do inverno e estende-se até o solstício de verão, correspondendo em zonas temperadas, como os estados do sul do Brasil aos meses de setembro ou de outubro até dezembro.

Para Schäfer-Somi (2017), esta influência é neuromodulada pela melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), um hormônio que desempenha um importante papel na iniciação sazonal do ciclo reprodutivo da gata. Ela é produzida durante a noite ou período escuro e secretada pela glândula pineal, que se encontra no sistema nervoso central (SNC). Ao aumentar as horas-luz do dia, a secreção de melatonina da glândula pineal é suprimida, conseqüentemente haverá estímulo da secreção hipotalâmica de GnRH. O GnRH liberado pelo hipotálamo da gata vai agir em outra região do cérebro chamada adenohipófise (indicada em verde na Figura 1). Em virtude disto, as células da glândula pituitária são estimuladas a liberar dois hormônios chamados, FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante). Esses dois hormônios glicoproteicos sexuais LH e FSH que atuam no ovário, induzindo o crescimento folicular e subsequente ovulação (Figura 1).

Silva *et al.* (2006) destacam que ao término desta estação, as gatas entram em anestro sazonal, que finalizará com o início da próxima estação reprodutiva. Segundo Beaver (2003), o uso de luz artificial para prolongar as horas de “luz do dia” tem se mostrado eficaz em colônias para fazer com que as fêmeas ciclem durante o ano todo. Estratégias como fornecer uma hora adicional de exposição à luz durante o período escuro possibilita a ocorrência do estro em 15 a 16 dias. Já em locais próximos ao equador, onde não ocorrem variações significativas do fotoperíodo, há menor influência da sazonalidade sobre o ciclo estral e a gata pode gestar diversas vezes ao ano, sem a ocorrência do anestro. A autora realizou um experimento na Universidade Estadual do Ceará, localizado na cidade de Fortaleza que possui clima equatorial semiúmido e aproximadamente 12 h de luz por dia e constatou que durante 06 meses de observação do ciclo estral de 25 gatas domésticas sem raça definida, nenhuma apresentou

anestro. No entanto, para Feldman e Nelson (2004) temperaturas demasiadamente altas podem desencadear um período de anestro, possibilitando a divisão da estação reprodutiva em dois períodos, um na primavera e outro no início do outono, havendo um período de inatividade sexual durante os dias mais quentes do verão. Para Little (2011), a ocorrência desta divisão é mais frequentemente associada a animais jovens.

Figura 1- Efeito do fotoperíodo no eixo hipotálamo-hipófise-ovariano



FONTE: Adaptado de SCHÄFER-SOMI (2017, p.1)

3.1.3 Ciclo estral

De acordo com Feldman e Nelson (2004), o ciclo reprodutivo da gata doméstica, considerado ciclo estral, consiste em uma série de eventos caracterizados por modificações ovarianas, hormonais e comportamentais a fim de que ocorra o estro, permita a cópula e o desenvolvimento da prenhez com o nascimento de prole viável. Assim, um ciclo estral é definido como o período entre dois sucessivos estros.

A gata, bem como outras fêmeas de mamíferos domésticos como éguas e ovelhas, apresenta a peculiaridade de ser poliéstrica sazonal. Para autores como Silva (2020), Little (2011) e Giménez *et al.* (2006), isto significa que o ciclo reprodutivo se organiza de maneira que as fêmeas apresentem atividade sexual durante um período limitado do ano (estação reprodutiva). Estes períodos consistem em apresentar repetidos ciclos estrais, com intervalos variáveis que somente serão interrompidos em caso de prenhez, pseudociese ou patologias. O comportamento reprodutivo estacional das fêmeas, propicia o nascimento da prole em época do ano mais favorável à sobrevivência (BEAVER, 2003).

Considerando as estruturas ovarianas é possível dividir o ciclo estral em duas fases, a fase folicular que consiste no proestro e no estro, na qual ocorre o desenvolvimento, maturação e ovulação dos folículos ovarianos; e a fase lútea, composta pelo metaestro e diestro, onde irá ocorrer a formação e o funcionamento de um corpo lúteo (SILVA, 2020). De acordo com Feldman e Nelson (2004), Little (2011) e Silva (2020) também fazem parte das etapas do ciclo o interestro, que se refere ao intervalo entre um estro e o próximo proestro. A duração e ocorrência destas etapas varia entre os autores e sofre influência da ovulação, sazonalidade ou prenhez. Quando não está ciclando, a gata apresenta um período de inatividade sexual de ocorrência fisiológica, denominado anestro.

Conforme Shille *et al.* (1979b) e Bristol-Gould e Woodruff (2006), o início do proestro coincide com o crescimento folicular, onde os folículos aumentam em torno de 0,5 mm até o início do estro. A manifestação do estro pode parecer súbita para o proprietário devido a curta duração da fase de proestro, que de 1 a 2 dias para Bristol-Gould e Woodruff (2006) e 1 a 3 dias para Shille *et al.* (1979b). Já para Griffin (2001), este período apresenta maior amplitude, podendo durar de 12 horas a 3 dias. Há irregularidade na observação do proestro de gatas, sendo observado em 16,1% das gatas em um estudo conduzido por Shille *et al.* (1979b).

Os sinais comportamentais apresentados pela gata durante o proestro, geralmente iniciam com um aumento sutil na atividade geral e progride para esfregar a cabeça e pescoço contra objetos. Este comportamento pode levar os donos a relatar que seu gato se tornou mais

afetuoso (BEAVER, 2003; LITTLE 2011), aumentando também a interação com os machos (DARDS, 1983). O esfregar progride para rolar, que geralmente está associado a ronronar, abertura e fechamento rítmico das garras, contorções e alongamentos. Ainda pode ser observada discreta secreção vulvar mucoide e polaciúria. Estes sinais são ocasionais e podendo ser bastante sutis, dificultando a identificação desta fase do ciclo (LITTLE, 2011). A fêmea começa a chamar o macho usando o “grito ou choro do cio”, uma vocalização exclusiva do proestro e do estro, embora para Dards (1983), algumas fêmeas em estro aparentemente não adotem este comportamento.

Em um primeiro momento, a aproximação do macho não resulta em esquiva da fêmea. Ela pode permitir a pega no pescoço e a monta, se agachando parcialmente, porém, os avanços por parte do macho iniciam a recusa agressiva na fêmea (BEAVER, 2003). Durante esse período a agressividade entre machos e fêmeas são mais observadas do que entre os gatos machos (DARDS, 1983). Assim, o proestro é a fase em que a gata passa a atrair os machos, mas não permite o acasalamento e termina quando a fêmea finalmente apresenta boa receptividade sexual, aceitando a monta e a cópula, o que configura o início do estro (GIMÉNEZ, 2006; LITTLE, 2011; SILVA, 2020)

A próxima etapa do ciclo é o estro ou cio, onde ocorre o amadurecimento folicular. Durante esta fase há uma correlação positiva entre pico de atividade folicular, com folículos atingindo de 2,5 a 3,5 mm de diâmetro, com a secreção e síntese de estradiol e a cornificação celular da mucosa vaginal, a fim de preparar a fêmea para prenhez. (TONIOLLO *et al.*, 1995; GIMÉNEZ, 2006; BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006). A duração desta fase pode variar de 2 até 19 dias, com média de 4 a 5 dias (SILVA, 2020), 5 a 8 dias (LITTLE, 2011) ou ainda 7 dias (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006), e pode ser afetada pela estação do ano, pelo clima, pela raça e pelo acasalamento. De acordo com Little (2011) ocasionalmente o período de duração do estro pode se estender devido a sobreposição de ondas foliculares, mantendo os níveis de estrógenos elevados, isto ocorre com mais frequência em fêmeas da raça Siamês. De acordo com Mialot (1988) a realização do acasalamento pode interferir encurtando a duração do estro, com a regressão dos sinais de 24 a 48 horas após a cópula. Ainda assim, múltiplos acasalamentos são mais frequentemente observados e apresentam melhores resultados em relação a desencadear ovulações, resultando em mais de um genitor em uma mesma ninhada (BANKS; STABENFELDT, 1982; GRIFFIN, 2001).

Uma gata em estro, caracteristicamente pode apresentar-se em posição agachada (patas dianteiras flexionadas e pelve elevada em posição de lordose) e a lateralização da cauda. Sinais como redução do apetite, vocalização para atrair a atenção dos machos, fricção do corpo ou

rolamento, corrimento vaginal, patinar de patas posteriores, tremor e rigidez do corpo ou cauda também podem ser comuns durante o estro.

Bristol-Gould e Woodruff (2006) e Little (2011) afirmam que, durante a estação reprodutiva se não houver o acasalamento ou ainda ocorrer, mas a gata não ovular, terá início o período de pós-estro, denominado interestro. O interestro pode apresentar duração de em média uma semana, antes que a fêmea regresse ao proestro. No entanto, a duração do interestro pode estender-se por várias semanas devido à ausência da convivência com machos.

Conforme Feldman e Nelson (2004), caso ocorra o acasalamento e subsequente ovulação, procederá a etapa do metaestro, que inicia quando a fêmea deixa de aceitar a monta do macho e finaliza com o estabelecimento de um CL funcional. O metaestro se refere ao tempo de desenvolvimento do corpo lúteo seguido por um período de dominância da progesterona, o diestro. Uma gata em diestro pode estar prenhe ou em pseudociese (ovulou, mas não ocorreu a fecundação) (SILVA, 2020).

Na ausência de acasalamento ou ovulação, tem início a fase de interestro. O comportamento da gata durante o interestro e o anestro é muito semelhante, no entanto a duração e importância desses períodos no ciclo apresenta notórias diferenças, já descritas anteriormente, sendo adequado descrevê-las de maneira distinta (GIMÉNEZ *et al.*, 2006; LITTLE, 2011; SILVA, 2020). Para Beaver (2003), a fêmea em anestro pode ser agressiva, repelindo o macho que se aproxima, assobiando e atacando na tentativa de se libertar de uma cópula indesejada. Os sinais olfativos de sua área vulvar aparentemente são repulsivos para alguns gatos, que rapidamente se afastam depois de cheirar seu períneo. Se o macho ainda assim insistir e a segura-la pelo pescoço, ela pode permanecer passiva pois se assemelha ao aperto de transporte usado pela mãe, mas flexiona a coluna quando ele monta e cobre o períneo firmemente com o rabo, quase alcançando uma posição sentada em vez da lordose vista durante o estro. De acordo com Giménez (2006), o anestro pode ocorrer de forma sazonal, quando a quantidade de luz por dia diminui para menos de 8 horas ou devido a lactação (anestro lactacional), que ocorre depois do parto perdurando em média 4 semanas (GRIFFIN, 2001) ou por 3 semanas (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006) após o desmame da ninhada. Para Griffin (2001) em muitas gatas a lactação não suprime o estro. Se a prenhez for interrompida ou se a ninhada for retirada no espaço de 3 dias após o parto, ela retornará ao estro em aproximadamente uma semana.

Quadro 1 – Características comportamentais e físicas das fases do ciclo estral

Atitude	PROESTRO	ESTRO	METAESTRO	ANESTRO/ INTERESTRO
Relação com machos	Atrai os machos, mas não permite cópula	Permite a cópula	Não permite mais a cópula	Indiferente/agressiva
Sinais comportamentais	Demonstra-se mais afetuosa, esfregar a cabeça e pescoço contra objetos	Afetividade, vocalização, apresentação da vulva, pouco apetite, fricção ou rolamento do corpo, patinar de patas posteriores, tremor e rigidez do corpo ou cauda	Nenhum comportamento sexual é observado	Nenhum comportamento sexual é observado
Alterações morfológicas	Secreção vulvar mucoide e polaciúria	Corrimento vaginal	-	-

Fonte: o próprio autor

3.1.4 Influencia hormonal no ciclo estral

Reece (2017) destaca que o estradiol-17 β é o estrogênio que predomina em animais cíclicos não gestantes e é produzido no ovário pelas células da granulosa folicular e córtex adrenal. Conforme Simsek, e Arikan (2018), o colesterol é o precursor dos hormônios esteróides, sendo o aumento do colesterol um fator no controle da esteroidogênese. A principal função deste hormônio é induzir a proliferação celular e o desenvolvimento dos tecidos relacionados com a reprodução. Para Verhage *et al.* (1976) e Shille *et al.* (1979a) as concentrações de estradiol aumentam durante o proestro à proporção que os folículos aumentam de tamanho, sintetizando e secretando os estrógenos. O pico de concentração ocorre no estro (com níveis acima de 20 pg/ml), com as concentrações plasmáticas de estradiol mais altas no meio do estro do que as que ocorrem no início. Já no anestro ou interestros as concentrações encontram-se abaixo de 15 pg/ml (SHILLE *et al.*, 1979a; FELDMAN; NELSON, 2004).

De acordo com Kustritz (2005), os corpos lúteos funcionais secretam progesterona, que é o hormônio responsável pela manutenção da gestação, promovendo a secreção de glândulas intrauterinas que fornecem suporte aos zigotos, bem como estimula o desenvolvimento das glândulas mamárias e induz o comportamento materno. Para o autor, a progesterona atua inibindo o comportamento sexual, possivelmente devido ao feedback negativo da progesterona sobre o hipotálamo e à hipófise, diminuindo a liberação pulsátil de GnRH e FSH. Um experimento realizado por JÖCHLE e JÖCHLE (1975) relatou que gatos selvagens submetidos a receber progesterona por via oral junto a alimentação, mostraram menos ciclos estrais, falta de interesse sexual e perda de “status social”. Se não houver prenhez, ocorre um processo luteolítico que causa regressão do corpo lúteo (CL) das gatas, fazendo com que as

concentrações de progesterona caíam à níveis basais com objetivo de constituir a nova onda de desenvolvimento folicular (LÚCIO, 2018).

Hormônios como a ocitocina e prolactina também possuem papéis coadjuvantes no controle e manutenção do ciclo reprodutivo. A ocitocina pode causar contrações na musculatura lisa presente no trato reprodutivo da fêmea, a fim de promover melhor deslocamento dos espermatozoides até o local da fertilização. Já a prolactina possui envolvimento no período refratário exibido por um tempo após o acasalamento pela maioria dos animais (Kustritz, 2005).

3.1.5 Ovulação induzida *versus* espontânea

De acordo com Shille *et al.* (1979b) as gatas são comumente referidas como espécies em que ocorre ovulação induzida por reflexo. De acordo com Wildt *et al.* (1980) existe uma probabilidade de a ovulação estar diretamente relacionada à amplitude da onda de LH, que por sua vez é associada ao número e intervalo entre as cópulas. Em espécies de ovulação espontânea, ao invés de ocorrer este fenômeno, a liberação pulsátil de LH apenas se intensifica pouco antes de ocorrer a ovulação. Para Feldman e Nelson (2004), as espículas presentes no pênis do gato são responsáveis por causar a estimulação hipotalâmica durante a cópula. Receptores presente na vagina, transmitem sinal através de via espinhal aferente liberando GnRH, que causará liberação de LH e FSH pela hipófise.

Concannon *et al.* (1980) e Wildt *et al.* (1981) acreditam que, para que ocorra o pico de LH suficiente para desencadear a ovulação, eram necessárias múltiplas cópulas com intervalos adequados entre elas. A maior probabilidade de ovulação foi associada a múltiplas cópulas em um curto período de tempo. Os autores atribuíam esse fato ao de aumento da liberação de GnRH desencadeados após as cópulas. Em contrapartida, um estudo realizado por Tsutsui *et al.* (2009), revelou ao comparar grupos submetidos a acasalamentos múltiplos e simples, que ambos apresentaram concentrações plasmáticas de LH adequados para induzir a ovulação em gatas, sugerindo que a resposta da hipófise à apenas uma estimulação copulatória foi suficiente. O estudo ainda revela haverem melhores taxas de ovulação e concepção (100% em ambos) em gatas submetidas a múltiplos acasalamentos por dia no quinto dia do estro, em comparação com as acasaladas apenas uma vez por dia ou no primeiro dia do estro, este último sendo o fator de maior baixa nas taxas apresentadas. Glover *et al.* (1985) sugerem haver considerável variação individual na capacidade de resposta do mecanismo de liberação de LH no início do estro.

Tem sido observado, embora com menos frequência, que as gatas podem apresentar ovulação espontânea. Em conformidade com autores como Lawler *et al.* (1993), Gudermuth *et*

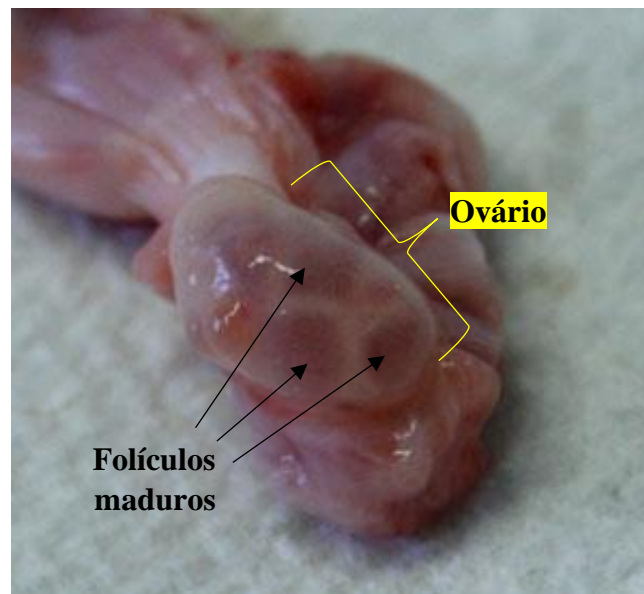
al. (1997), Kutzler (2007) e mais recente Binder *et al.* (2019) a ocorrência esporádica da ovulação espontânea nos ciclos estrais de gatas domésticas foi de, respectivamente, 35%, 87%, 60% e 30%. Little (2011) indica que este fenômeno é mais comumente associado a locais onde há presença de um gato macho no ambiente, ainda que não ocorra contato físico ou visual. Tal fato pode ser atribuído a comunicação feromonal, que exerce importante papel no comportamento reprodutivo das gatas, servindo para atrair os machos, particularmente em áreas onde os gatos vivem relativamente próximos. Outros fatores apontados como possíveis desencadeadores da ovulação espontânea, são a proximidade ao dono e também a outros animais da casa (BEAVER, 2003; BROWN, 2006).

3.2 Aspectos Morfofisiológicos Ovarianos

De acordo com Reece (2017), os ovários representam as gônadas femininas, consideradas glândulas de dupla atividade, que possibilitam o desenvolvimento dos ovócitos, armazenam as células germinativas e produzem hormônios. Cada ovário está localizado em posição distal ao seu respectivo rim, nas extremidades de cada um dos dois cornos uterinos da gata (JERICÓ *et al.*, 2015). O ovário é composto por uma região cortical localizada perifericamente, que contém massa expressiva de folículos em vários estágios de desenvolvimento e uma região medular, localizada ao centro que confere aporte sanguíneo nervoso e linfático. Byskov (1975) descreve a presença de células germinativas na zona média do córtex e na parte mais interna do córtex, conexões abertas entre os grupos de células germinativas e os cordões e túbulos intraovarianos. Nesses locais também há presença de muitos ovócitos. Já nos cordões e túbulos intraovarianos presentes na região medular muitas vezes contem oogônias em degeneração.

A unidade funcional ovariana é o folículo que através da esteroidogênese e posterior ovulação tem por objetivo garantir a reprodução. A ovulação, ou seja, liberação dos ovócitos maduros, ocorre por toda a superfície do ovário (REECE, 2017). Os folículos são compostos por dois tipos celulares, as células germinativas que geram os ovócitos (gameta feminino) e as células foliculares que tem origem em modificações das células do estroma. Assim, esta estrutura promove ambiente adequado para o crescimento e nutrição do ovócito durante todo o desenvolvimento folicular (SILVA *et al.*, 2006).

Figura 2 Ovário de gata adulta



Fonte: Adaptado de: Pet Informed (2009)

3.3 Rete Ovarii

De acordo com e Byskov (1975), o sistema ductal ovariano (*rete ovarii*, homóloga da *rete testis*) tem sido associada ao controle da meiose, organização precoce do folículo e foliculogênese, contribuindo para a população de células da granulosa. Em gatas domésticas, a rede forma-se durante o período embrionário concomitantemente a migração das células germinativas primordiais à crista gonadal e confere uma ampla ligação hilar ao mesovário através de uma ramificação de túbulos mesonéfricos com conexão aberta com grupos de células germinativas, revestidos por epitélio colunar baixo ou cuboide na medula (BYSKOV, 1975; GELBERG *et al.*, 1984). Conforme Byscov (1975), os cordões e túbulos celulares intra-ovarianos se distribuem em a *rete* intra-ovárica, com conexões abertas com oócitos e folículos; *rete* extra-ovárica no tecido peri-ovariano; e a rede de conexão entre as duas anteriores. As células presentes nesses túbulos são ciliadas com núcleo apresentando alta atividade citoplasmática. Para Gelberg *et al.* (1984) há dificuldade em identificar as células de revestimento, pois a pressão do fluido dentro dos cistos pode achata-las, causando confusão na identificação da célula de origem.

Para Byscov (1975), o sistema *rete ovarii* influencia ou interage com o córtex atuando como um gatilho para o início da meiose devido a secreção de substâncias que iniciarão o processo de diferenciação das células germinativas e células da granulosa. O início da meiose e a formação dos folículos que ocorrem no ovário da gata, estão ligados à área de contato com o sistema intra-ovariano, ou seja, naquelas áreas do córtex onde se estabelece o contato entre

as CG e as células da *rete*. Como as células germinativas estão em conexão aberta tanto com o epitélio de superfície quanto com o sistema, é possível uma dupla origem das células da granulosa, podendo ser recrutadas através desse sistema e outras podem derivar do epitélio superficial.

4 FOLICULOGENESE

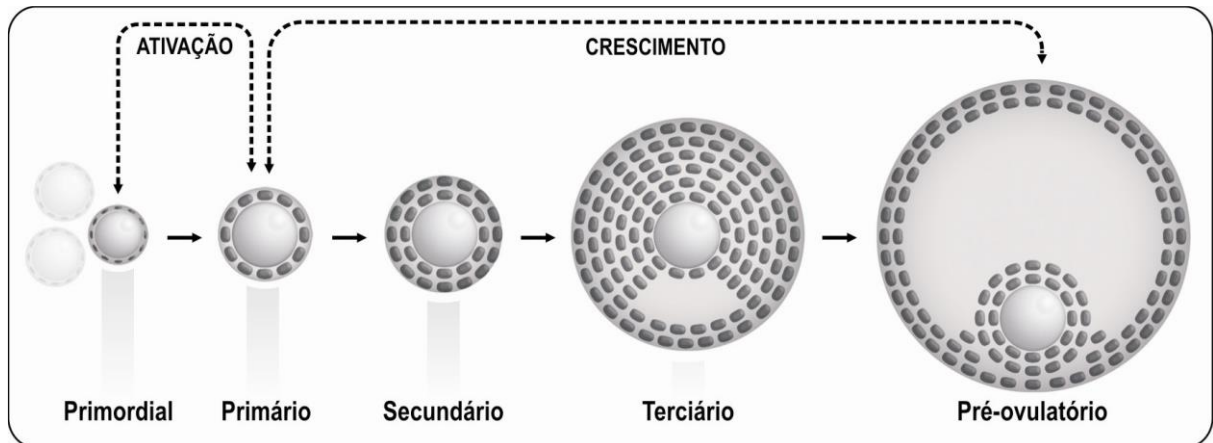
Conforme Adona *et al.* (2013), o folículo ovariano é considerado a unidade morfofuncional do ovário, cuja principal atividade é o desenvolvimento e maturação de um ovócito saudável nele incluso. Ele é constituído por células especializadas (granulosas e tecais) que sofrem alterações durante seu desenvolvimento a fim de atender a demanda do ovócito em crescimento, fornecendo condições ambientais adequadas para tal (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006). Além disto, ainda possui a função de produzir esteróide (esteroidogênese), considerado um dos principais hormônios associado a processos reprodutivos nas fêmeas. Seu crescimento e desenvolvimento é conhecido como foliculogênese e depende da sinalização endócrina do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, sendo regulado pelas gonadotrofinas hipofisárias (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006; APOLLONI *et al.*, 2016). Silva, *et. al* (2006) destacam que além dos anteriormente citados, há também um controle parácrino, mediado por comunicações entre o ovário e as células somáticas foliculares, e um controle autócrino exercido pelo ovário para a sua própria regulação.

Para Adona *et al.* (2013) o desenvolvimento dos folículos é composto por dois processos que ocorrem em associação, a oogênese que se refere à sequência de eventos em que as CGPs sofrem diferenciação, proliferação e maturação e a foliculogênese, caracterizada pela interação das células somáticas e demais estruturas que circundam e compõem os folículos ovarianos. Carvalho (2013) destaca que há um padrão bifásico na relação entre o crescimento folicular e oocitário em felinos domésticos. O crescimento oocitário acompanha a primeira etapa de desenvolvimento das células da granulosa em folículos pré-antrais (FOPA). No entanto, a partir da formação do antro e desenvolvimento de folículos secundários e pré-ovulatórios, o crescimento oocitário torna-se mais lento em relação ao crescimento dos folículos.

Bristol-Gould e Woodruff (2006) observaram que os folículos ovarianos, presentes ao longo de todo ciclo reprodutivo, encontram-se em três etapas: quiescência, crescimento ou atresia. Sendo que, no estado quiescente há uma grande população de folículos primordiais com um ovócito incluso parado na primeira prófase meiótica, podendo permanecer assim por tempo indeterminado em felinos domésticos. De acordo com os autores é somente após a ativação folicular, mecanismo este que ainda não é totalmente compreendido, que há seguimento no desenvolvimento do folículo primordial e subsequente retomada da meiose. Eles também destacam que não se sabe se os sinais de maturação são restritos a um único folículo e se não influenciam os folículos adjacentes. Já conforme Van Den Hurk e Zhao (2005) os folículos primordiais transformam-se em folículos primários de acordo com a ordem de formação e dentre os fatores relacionados à ativação do folículo primordial, algumas substâncias com

atividade parácrina e autócrina vêm sendo descritas como parte de um processo de intercomunicação entre o ovócito e as células somáticas foliculares incluindo membros da família TGF- β como a proteína morfogenética do osso (BMP), ativina e o fator de crescimento e diferenciação (GDF).

Figura 3: Esquema ilustrativo das diferentes classes de desenvolvimento folicular



Fonte: Lima-Verde *et al.* (2011, p. 473)

As gonadotrofinas (LH e FSH) são importantes para o desenvolvimento folicular. O ovócito, se torna sensível a gonadotropinas durante a formação do antro. Nesta fase, o FSH estimula a proliferação de células da granulosa, que por sua vez promovem aumento da expressão do número de receptores de LH em sua superfície, amplificando a ação desta gonadotropina. O FSH também ativa a enzima aromatase, responsável pela conversão dos andrógenos em estrógenos, iniciando assim a síntese de estradiol (SENEDA; BORDIGNON, 2007). De acordo com Silva *et al.* (2006) em relação à esteroidogênese, o LH atua sintetizando andrógenos através da teca, a partir do colesterol captado da circulação local. As funções do LH relacionadas a camada da teca são associadas à ovulação.

Orosz *et al.* (1992) avaliaram a atuação do FSH sobre a foliculogênese da gata, onde empregaram a estimulação exógena do ovário com a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e a gonadotrofina menopáusicas humana (hMG), mensurando as concentrações de estradiol e progesterona no soro. O resultado obtido foi um aumento abrupto na concentração de estradiol no grupo que recebeu hMG em conjunto com administração exógena de LH, mas não aumentou no grupo que recebeu somente hCG. Os resultados sugerem que uma pequena concentração de LH é necessária para elevar os níveis de estradiol associados ao estro na gata.

4.1 Células germinativas primordiais

De acordo com Hyttel *et al.* (2012) e Salmito-Vanderley e Santana (2015) as etapas que precedem a formação dos gametas maternos nos mamíferos, ocorrem em um período anterior ao desenvolvimento embrionário propriamente dito, a partir de um evento chamado gastrulação que originará além dos três folhetos germinativos, células pluripotentes indiferenciadas denominadas células germinativas primordiais (CGPs). Segundo Adona *et al.* (2013), estas células de aspecto ovalado ou arredondado e grande núcleo com nucléolos proeminentes, são consideradas precessoras das células da linhagem germinativa, diferenciando-se primeiramente em ovogonias e que posteriormente serão responsáveis por originar todos os ovócitos da gônada materna.

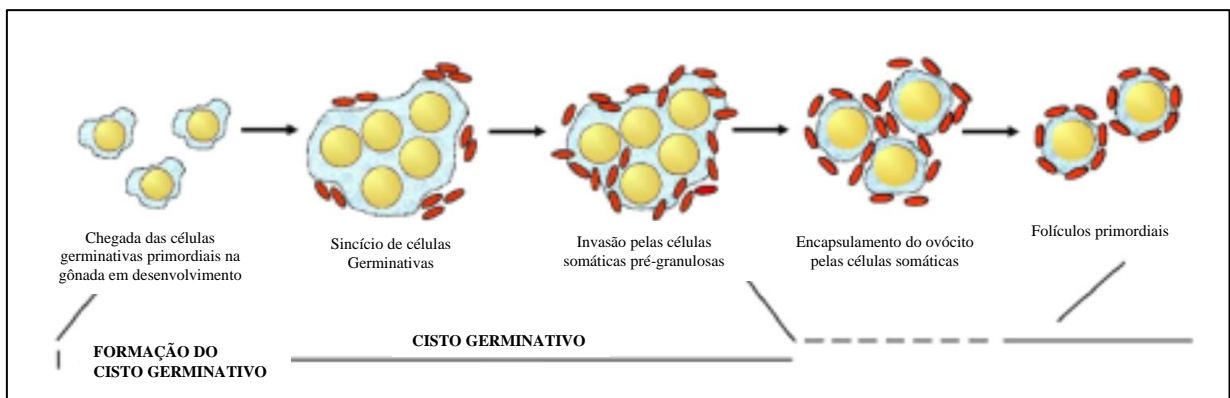
Para Hyttel *et al.* (2012) as CGPs precisam estar viáveis para que ocorra o deslocamento caudal, de forma ativa ou passiva, do saco vitelínico e alantóide até o interior das gônadas em desenvolvimento. Essas células chegam a uma região denominada crista genital (gonadal) medindo aproximadamente 10 mm em felinos domésticos e futuramente originarão a região cortical do ovário. Segundo Adona *et al.* (2013), ao povoarem as gônadas indiferenciadas, as células germinativas primordiais iniciam a fase proliferativa decorrentes de sucessivas mitoses, dando origem a novas células germinativas com cromossomos em pares homólogos (2n), apresentando um número igual a 38 em felinos domésticos (HYTTEL *et al.* 2012) chamados de cromossomos diploides.

Conforme Salmito-Vanderley e Santana (2015) as CGPs sofrerão citodiferenciação caracterizada basicamente por um aumento do volume celular caracterizando assim, as ovogonias, que darão início de fato aos eventos da formação dos ovócitos. Conforme Adona *et al.* (2013), a população de ovogônias ainda apresenta um número predeterminado de divisões mitóticas, espécie-específica. O conceito de origem e o crescimento dos gametas femininos, iniciaram a mais de 150 anos, acreditando-se que as particularidades que envolvem o desenvolvimento inicial destas células conferissem as fêmeas, sob circunstâncias normais, um potencial reprodutivo circunscrito devido a impossibilidade de formar novas células precursoras de folículos ovarianos e que a reserva folicular estaria limitada a embriogênese (SENEDA; SILVA, 2009).

De acordo com Van Den Hurk e Zhao (2005) após a chegada das CGPs nas gônadas em desenvolvimento e a ocorrência de uma onda de atresia, as CGPs sobreviventes se organizam formando uma massa multinucleada de citoplasma, o chamado cisto germinativo. Durante a formação do cisto, a divisão mitótica é acompanhada por citocinese incompleta, permitindo que

as células filhas permaneçam conectadas por pontes intercelulares. Células somáticas fusiformes em proliferação (células pré-granulosas) originadas do estroma, cercam e invadem o cisto. Ao penetrarem na estrutura, as células pré-granulosas dividindo o citoplasma, guiando a separação e encapsulando as oogonias individualmente. É a chamada degradação programada, que rompe o cisto e gera uma perda inicial de células germinativas. As células pré-granulosas se organizam de maneira a formar uma camada ao redor das oogonias que a partir de então sofrem divisão meiótica e originam o ovócito. Assim, após o nascimento, o ovócito formado encapsulado pelas células da pré-granulosa, constitui o chamado folículo primordial. Para os autores, nesta etapa os ovócitos e as células da granulosa ainda não são capazes receber estímulos e a regulação da esteroidogênese ocorre através de neurotransmissores. Bristol-Gould *et al.* (2006), sugere que um hormônio peptídico chamado ativina, possa regular o número de folículos formados a partir de cistos germinativos durante o período de degradação do cisto germinativo e formação de folículos.

Figura 4 Esquema da formação do cisto germinativo



FONTE: Adaptado de Bristol-Gould *et al.* (2006 p.133)

4.2 Oogenese

A oogenese refere-se à formação do ovócito que em mamíferos associa-se à foliculogênese por acontecer dentro dos folículos ovarianos. A formação primária do ovócito ocorre durante a vida fetal, apresentando em felinos domésticos um período de tempo bem definido, em torno dos 40 a 50 dias do desenvolvimento embrionário e possivelmente completando-se por volta de 8 dias após o nascimento (HYTTEL *et al.* 2012; BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006).

De acordo com Salmito-Vanderley e Santana (2015), após o crescimento populacional, as CGPs aumentam de volume e se preparam-se para dar início a meiose. Hyttel *et al.* (2012)

definem que o DNA contido nas CGPs dos gatos apresenta número igual a 38 cromossomos em pares homólogos, que incluem uma cópia materna e outra paterna, estabelecendo o complemento cromossômico diploide ($2n$). O objetivo da meiose é reduzir esse número pela metade, passando a configurar células com DNA haploide ($1n$), o que transforma essas células em ovócitos primários.

A divisão meiótica é composta por duas fases: a meiose reducional (meiose I) e a meiose equacional (meiose II). Em ambas as fases, ocorrem os estágios de prófase até telófase, excetuando a ocorrência de prófase na meiose II (HYTTEL *et al.* 2012). Segundo Adona *et al.* (2013), a prófase da meiose I é dividida em cinco etapas: leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese. Todavia, ao iniciar a prófase da meiose I, o processo de divisão celular é interrompido antes de completar o estágio de diplóteno, também chamado de dictióteno, fazendo com que a fêmea nasça com ovário repleto de ovócitos primários paralisados em meiose reducional.

Para Salmito-Vanderley e Santana (2015), a fêmea então passará por um período quiescente durante a fase pré-pubere e dará continuidade a divisão meiótica somente quando atingir a puberdade. Os autores referem ainda que o início da puberdade irá conferir uma série de alterações hormonais, especialmente relacionadas ao FSH (hormônio folículo estimulante), que atuará nos ovários causando o crescimento folicular, com a liberação de estrógenos que estimularão a liberação do GnRH no hipotálamo, que por sua vez agirá sobre a hipófise secretando LH (hormônio luteinizante). Isto induzirá a maturação dos folículos e a liberação de progesterona, desencadeando a ruptura e liberação do ovócito (deiscência folicular) para o interior das tubas uterinas através da motilidade das fímbrias (presentes na tuba), a chamada ovulação.

O ovócito contido no referido folículo, dará então continuidade a meiose I, originando duas células desiguais. Para Hyttel *et al.* 2012 devido a localização periférica dos fusos meióticos (pequenos agrupamentos de vesículas) em fêmeas, a etapa da telófase não promove uma citocinese em simetria, resultando em duas células filhas de diferentes tamanhos e características. A maior delas é o chamado ovócito secundário (ovócito II), célula haploide e contendo citoplasma competente que iniciará a segunda divisão meiótica; enquanto que a célula-filha de menor tamanho, chamada de primeiro corpúsculo polar, representa uma célula sem função e quase sem citoplasma que irá regredir em alguns poucos dias. O ovócito II procede a meiose equacional, paralisando-a em metáfase. Conforme Adona *et al.* (2013) durante reinício e regulação da meiose na maturação do ovócito, ocorrem diversas transformações no núcleo e no citoplasma, havendo envolvimento de várias proteínas, em especial, as do fator promotor da

maturação (MPF) e as proteínas cinase, ativadas por mitogenos (MAPK). Caso ocorra a união com o gameta masculino, o ovócito II então irá retomar a meiose equacional originando novamente, duas células-filhas desiguais, são elas a ovótide, que será a célula precursora do óvulo e o segundo corpúsculo polar que assim como o primeiro não possui função, regredindo posteriormente. A partir de então, tem início os processos de diferenciação celular, com a progressão da ovótide para óvulo, com o acúmulo de vitelo, que caracterizará o zigoto (SALMITO-VANDERLEY; SANTANA, 2015).

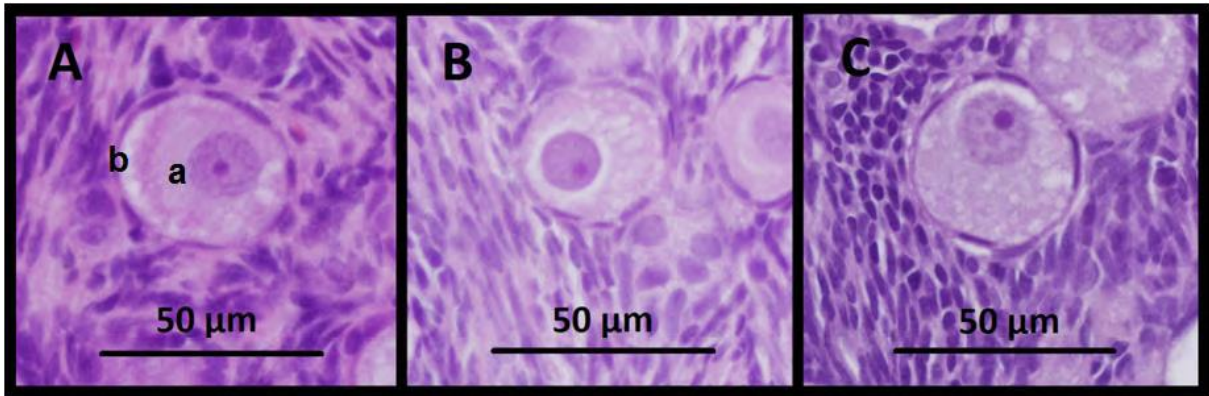
4.3 Morfofisiologia folicular

Durante a foliculogênese a morfologia folicular é alterada à medida que o ovócito cresce e as células circundantes se diferenciam (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006). Os folículos ovarianos são então classificados de maneira geral em pré-antrais, constituídos pelos folículos primordiais, primários e secundários e diferenciados entre si pela forma e número de camadas de células da granulosa; e os folículos antrais, caracterizados por presença do *antrum* repleto de líquido folicular, também denominados folículos terciários, pré-ovulatórios ou folículo de Graaf (JÚNIOR *et al.*, 2009; ADONA *et al.*, 2013). Durante todo o ciclo reprodutivo, folículos ovarianos em todos os estágios de desenvolvimento estão presentes, podendo ainda ser classificados geralmente em estado de quiescência, crescimento ou atresia (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006).

4.3.1 Folículos primordiais e primários

Após a realocação nas cristas gonadais e proliferação mitótica, as CGPs são circundadas por uma única camada de 4 a 8 células somáticas provenientes do mesonefro (JÚNIOR *et al.*, 2009) que possuem formato achatado e baixo metabolismo celular, as chamadas pré-granulosas, que associadas a uma lâmina basal formam a primeira categoria de folículo, uma estrutura denominada de folículo primordial (ADONA *et al.*, 2013). Os folículos primordiais são descritos como os menores folículos durante a foliculogênese e consistem principalmente de um ovócito de aproximadamente 20 a 30 μm de diâmetro (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006) e junto aos ovócitos primários compõem o estoque folicular ovariano (JÚNIOR *et al.*, 2009). Eles possuem amplo citoplasma paralisado em prófase I da meiose reducional e são encontrados em maior número nas fêmeas recém-nascidas.

Figura 5 Folículos primordiais de gatas



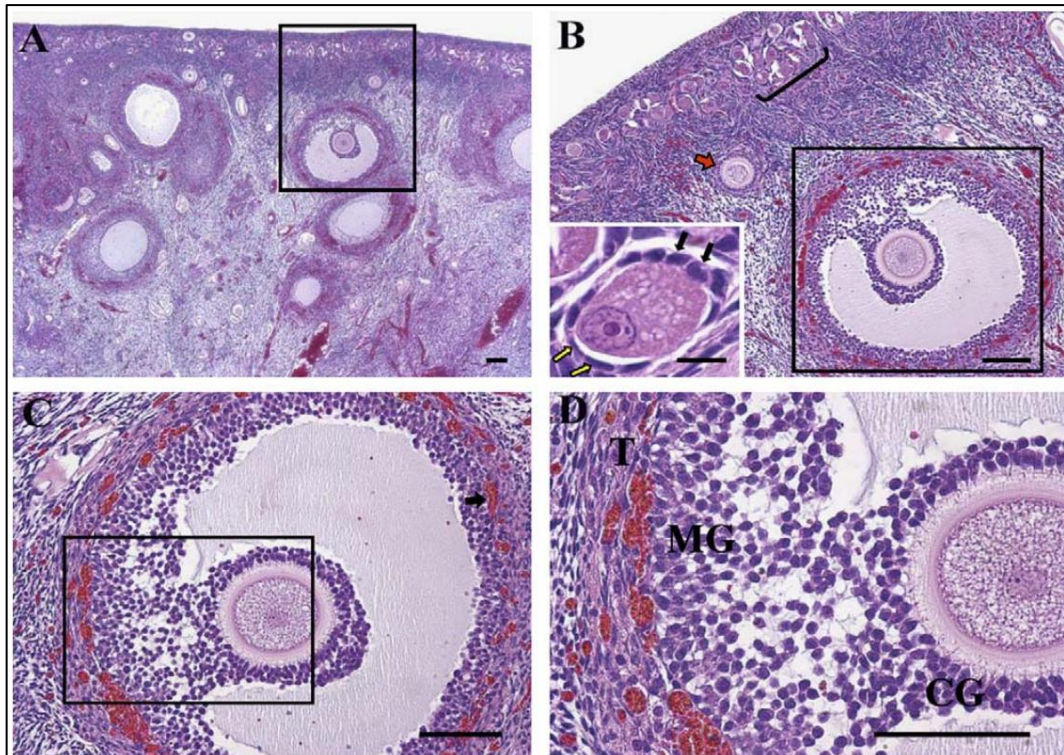
Fonte: Carvalho (2013, p. 13)

Cortes longitudinais de ovários de 3 gatas domésticas de diferentes faixas etárias (A- jovem, B- adulta, C- idosa), corados com HE, onde se observam folículos primordiais. A: (a) ovócito, (b) células da pré-granulosa.

De acordo com Bristol-Gould e Woodruff (2006), os folículos primordiais são divididos em classes B, B/C e C, conforme apresentado na figura 2. O folículo classe B, contém de uma a oito células pré-granulosas achatadas ou escamosas que circundam diretamente o ovócito. Os pertencentes a classe B/C, também chamados de folículos primordiais transitórios, contém uma única camada de células escamosas e cubóides da granulosa.

Já os folículos primários da classe C, são considerados folículos primários e contém ovócitos que variam de 30 a 50 μm de diâmetro e apenas uma camada de células granulosas cubóides, o que indica que elas possuem maior aptidão proliferativa sendo capazes de gerar camadas (JÚNIOR *et al.*, 2009). Assim, a presença destes folículos indica estado de desenvolvimento folicular em progressão. Podemos visualizar claramente a zona pelúcida a partir deste estágio, além de uma membrana basal separando a camada circundante de células da granulosa do estroma ovariano (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006).

Figura 6 Ovário de gata doméstica



Fonte: Bristol-Gould e Woodruff (2006, p. 9)

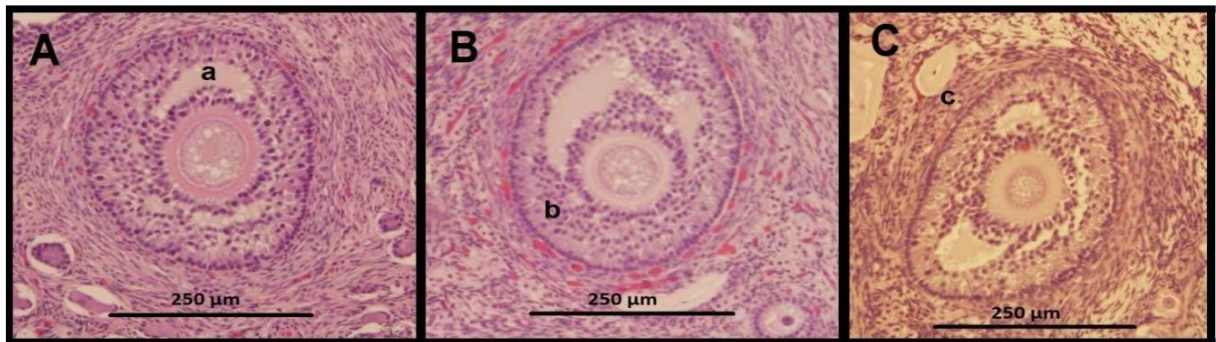
(A) Ovário de gata: As caixas pretas indicam a área que é expandida nos painéis a seguir. (B) Pools de folículos primordiais (colchete preto) povoam o córtex externo do ovário, logo abaixo da túnica albugínea. Um folículo primário (classe C) é designado pela seta vermelha. Dentro da inserção, um folículo primordial B/C é representado. As setas amarelas indicam células escamosas da granulosa, enquanto as setas pretas indicam células granulosas cubóides. A caixa preta está em torno de um pequeno folículo antral. (C) Pequeno folículo antral contendo numerosos vasos sanguíneos dentro da camada de células da teca que margeia a borda externa do folículo (seta preta). (D) Imagem de alta potência dos tipos de células presentes no pequeno folículo antral. As células do cumulus granulosa (CG) circundam diretamente o ovócito. As células da granulosa murais (MG) circundam o resto do folículo (dentro da membrana basal). No lado oposto da membrana basal, a camada de células da teca (T) envolve o folículo.

4.3.2 Folículos Secundários

Para Bristol-Gould e Woodruff (2006), a principal característica dos folículos secundários é a presença de pelo menos duas (mas geralmente mais) camadas de células da granulosa apresentando núcleo, conferindo aos folículos grande variedade de tamanho (de 100 a 400 μm). Geralmente as camadas são aparentes e uma camada de células da teca é agora depositada no lado oposto à membrana basal das células da granulosa. Entre a camada granulosa e o ovócito irá se estabelecer uma barreira constituída por glicoproteínas sintetizadas pelas células foliculares e pelos ovócitos, a chamada zona pelúcida. Também nessa fase do desenvolvimento folicular, começará a organização periférica das células do estroma derivadas das células mesenquimais que de acordo com Moore *et al.* (2016), desenvolvem uma cápsula

de tecido conjuntivo em torno do folículo que vão dar origem a camada da teca. Ocorre ainda aumento da vascularização do folículo, possibilitando a atuação de sinais endócrinos a partir da atuação do FSH sobre o ovócito, que agora torna-se sensível. As células da teca aumentam o número de receptores de LH, iniciando a síntese de andrógenos (SENEDA; BORDIGNON, 2007).

Figura 7 Folículos secundários de gatas



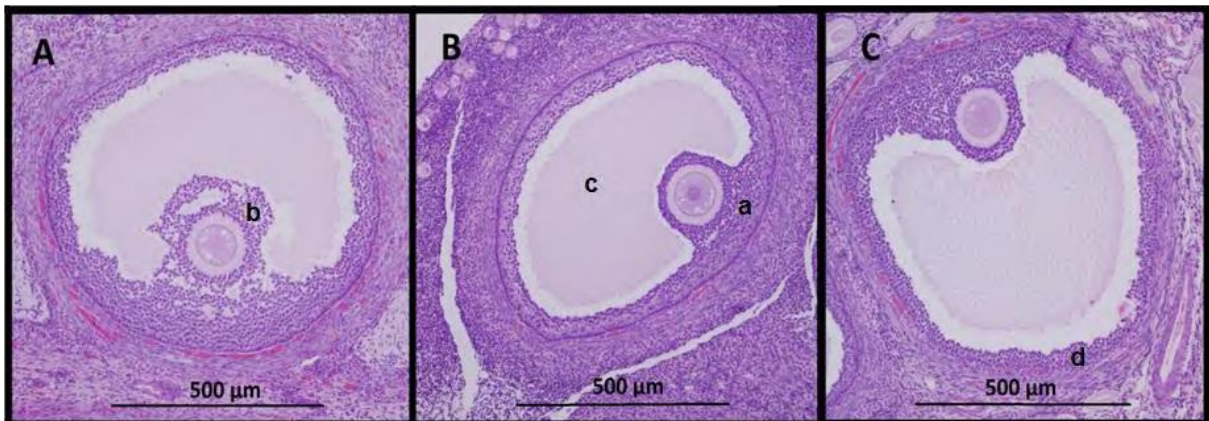
Fonte: Carvalho (2013, p. 14)

Cortes longitudinais de ovários de 3 gatas domésticas de diferentes faixas etárias (A- jovem, B- adulta, C- idosa), corados com HE, onde se observam folículos secundários. A: (a) antro, B: (b) células da granulosa, C: (c) Teca externa.

4.3.3 Folículos antrais

Bristol-Gould e Woodruff (2006) destacam que a principal característica do folículo é a presença de um grande espaço antral repleto de fluído originado a partir de pequenas cavidades que coalescem. O início do acúmulo de líquido antral ocorre em folículos a partir de 193,3 µm de diâmetro, passando a serem chamados de folículos antrais ou terciários, os quais evoluem para folículos pré-ovulatórios ou de Graaf. (CARVALHO, 2013). Essas cavitações têm origem na granulosa e são estimuladas pelos hormônios esteroides secretados pelas células da teca e granulosa (que nesta etapa estão presentes em grande número), e principalmente estrógeno. Os folículos antrais podem ser semelhantes em diâmetro aos folículos secundários, mas passam por um significativo aumento de tamanho ao passo que o líquido folicular se acumula, podendo atingir 2 a 3 mm de diâmetro. Internamente há um ovócito de aproximadamente 85 a 100 µm de diâmetro que é deslocado para um dos polos do ovário. Uma estrutura chamada de *Corona radiata*, composta por células foliculares ao redor da zona pelúcida, mantém o ovócito na periferia do ovário à espera de um estímulo adequado de LH. (JÚNIOR *et al.*, 2009; ADONA *et al.*, 2013).

Figura 8 Folículos antrais (pré-ovulatórios)



Fonte: Carvalho (2013, p. 14)

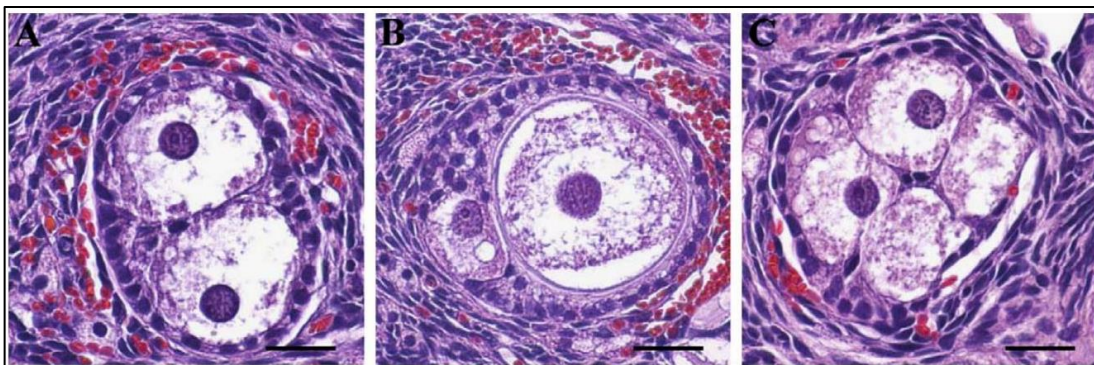
Cortes longitudinais de ovários de 3 gatas domésticas de diferentes faixas etárias (A- jovem, B- adulta, C- idosa), corados com HE, onde se observam folículos pré-ovulatórios. A: (b) corona radiata, B: (a) cumulus oophorus, (c) cavidade antral e C: (d) células da granulosa.

4.3.4 Folículos multi-ovocíticos

Como descrito anteriormente, a formação de folículos primordiais ocorre quando os ovócitos são individualizados, dando origem a folículos contendo apenas um único ovócito incluso. No entanto, conforme Bristol-Gould e Woodruff (2006), durante a manipulação folicular *in vitro* foi demonstrado que dois ou mais ovócitos podem estar contidos em um único folículo sem uma membrana basal de separação, dando origem a estrutura chamada de folículos multi-ovocíticos (MOFs). Segundo a Silva-Santos e Seneda (2011) o fenômeno já foi descrito em diversas fêmeas de animais domésticos, como vacas, cadelas, camundongas, coelhas e porcas; além de em humanos em associação com a FIV, embora em menor escala (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006). A espécie é considerada fator determinante para variabilidade no número de ovócitos inclusos dentro dos MOFs. Na figura 9, é possível observar folículos multi-ovocíticos (MOFs) em ovário de gata, sendo (A) referente a um folículo pré-antral contendo dois ovócitos de tamanho semelhante; (B) Folículo pré-antral contendo dois ovócitos, um deles significativamente maior que o outro; e (C) Folículo pré-antral contendo um total de quatro ovócitos. Em relação a frequência de observação destes folículos ocorre durante o desenvolvimento fetal, sendo sua documentação em ovários de fêmeas adultas uma observação ainda não esclarecida. Bristol-Gould e Woodruff (2006) relatam em felinos domésticos, que a presença de MOFs são descritas em gatas recém-nascidas e pré-pubescentes. Para Jewgenow e Goritz (1995), aproximadamente 10 % dos folículos das gatas contenham dois ovócitos. Se especula que a origem destas estruturas ocorre a partir da quebra incompleta ou equivocada de

cistos de células germinativas durante os estágios iniciais da formação do folículo; ou ainda que a taxa de desenvolvimento do ovócito supere a diferenciação das células somáticas, resultando em um número desproporcional de células somáticas para cada ovócito (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006). Silva-Santos e Seneda (2011) observam que a quebra das células germinativas e a montagem do folículo primordial pode ocorrer devido a fatores que interfiram em componentes da via apoptótica, podendo ser fatores locais, hormônios circulantes e fatores esteroidogênicos. Os autores também informam que o potencial desses ovócitos em ovular não é claro. Eles indicam que é possível que ovócitos de MOFs após a fecundação *in vitro*, sejam capazes de se desenvolver até o estágio de blastocisto, mas ainda não se tem conhecimento se eles seriam capazes *in vivo* de atingir a ovulação e liberar um ovócito viável, ou ainda mais, se a sua presença indicaria a incapacidade desses folículos de ovular.

Figura 9 Folículos multi-ovocíticos (MOFs) em ovário de gata.



Fonte: Bristol-Gould e Woodruff (2006, p. 11)

Folículos multi-ovocíticos (MOFs) em ovário de gata. (A) Folículo pré-antral contendo dois ovócitos de tamanho semelhante. (B) Folículo pré-antral contendo dois ovócitos, um dos quais é significativamente maior que o outro. (C) Folículo pré-antral contendo quatro ovócitos.

4.4 População de folículos e atresia folicular

Em felinos domésticos a população folicular é estabelecida ainda na vida fetal até 8 dias após nascimento (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006). Durante a fase proliferativa mitótica, as gatas produzirão milhões de ovogônias. No entanto, estima-se que apenas uma parcela localizada na superfície do ovário imaturo não sofre apoptose e consegue estar presente no ovário da fêmea recém-nascida. (HYTTEL *et al.* 2012). Em gatas adultas estima-se que esta parcela se refere a 74.540 mil folículos primordiais por ovário (GOSDEN; TELFER, 1987).

Cerca de 99,9% dos folículos sofrem um processo fisiológico conhecido como atresia, que causa a morte do folículo, por via degenerativa e ou apoptótica. FOPAs de gatas

representam por volta de 90 a 95% da população folicular (JEWGENOW e GORITZ,1995). Um estudo estimou em de 300 a 24.500 FOPAs por ovário em gatas domésticas com diâmetros de 40-90 μm (JEWGENOW, 1998). Já de acordo com Carrijo Jr. *et al.* (2010) a estimativa supera a do autor anterior, apresentando um número de aproximadamente 37 mil FOPAs por ovário, divididos em primordiais (87%), primários (10,4%) e secundários (2,3%).

De acordo com Jewgenow e Goritz (1995) e Carvalho (2013), a população folicular no ovário diminui com o avançar da idade e ao atingir a fase idosa, os folículos remanescentes apresentam baixa qualidade quando comparados aos presentes no início da vida reprodutiva. O processo de atresia folicular nos animais domésticos tem início ainda na vida fetal (HYTTEL *et al.* 2012) e usualmente ocorre de forma diferenciada entre folículos pré-antrais e antrais. Para Wood *et al.* (1997) as características atrésicas das gatas, são similares as das cadelas, sendo a deterioração ovocitária o primeiro sinal de degeneração em folículos pequenos e médios (≤ 1 mm de diâmetro), enquanto que em folículos maiores geralmente este sinal está associado às células da granulosa mural. Além disto, durante a análise dos autores, aproximadamente 65% dos complexos folículo-ovócito de tamanho normal, indicaram algum nível de atresia histologicamente detectável, concluindo assim que as gatas apresentam uma alta incidência de atresia folicular contínua. Para os autores, fatores como condições ambientais estressantes podem contribuir para este fato.

5 MANIPULAÇÃO DE FOLÍCULOS PRÉ-ANTRAIS (MOIFOPA)

Os FOPAs armazenam em torno de 90% dos ovócitos presentes no ovário. Considerando a quantidade mínima desses folículos que consegue sobreviver e se desenvolver até o estágio de folículo préovulatório, a biotécnica do ovário artificial, chamada MOIFOPA objetiva recuperar os ovócitos inclusos nesses folículos (MAX *et al.*, 2004). Além de colaborar no esclarecimento da morfofisiologia das fêmeas, a biotécnica permite através da criopreservação e cultivo *in vitro*, conservar e melhor aproveitar os gametas femininos. (LIMA *et al.*, 2018). É ainda uma ferramenta que possibilita testar e avaliar o efeito de diferentes substâncias e fatores com atuação intraovarianos, de relevância para estudo do desenvolvimento folicular (Figueiredo *et al.*, 2007).

Em geral, os ovários utilizados para isolamento de folículos pré-antrais, são obtidos de gatas domésticas submetidas à OSH em clínicas ou hospitais veterinários (BRISTOL-GOULD; WOODRUFF, 2006). Conforme Carvalho (2013) para obter sucesso na MIV, um dos parâmetros é o diâmetro oocitário que deve ser de no mínimo 100 μm . O autor destaca que para garantir estas características, os ovários devem provir de doadoras jovens com idades entre 1 e 6 anos.

A etapa do isolamento pode ser feita de duas maneiras, uma mecânica e outra enzimática e consiste em dissociar ou separar folículos pré-antrais dos demais componentes do estroma ovariano como fibroblastos, fibras colágenas e elásticas, fibronectina, etc. (MAX *et al.*, 2004). Um método descrito por Jewgenow e Goritz (1995) combina elementos mecânicos e químicos ou enzimáticos. A partir desta técnica de isolamento, os autores relataram de forma inédita o isolamento bem-sucedido de FOPAs de gatas domésticas, bem como sua cultura *in vitro*.

O cultivo *in vitro* (CIV) de FOPAS objetiva o desenvolvimento folicular, assegurando o crescimento e a maturação dos ovócitos, bem como a multiplicação e posterior diferenciação das células da granulosa, artificializando condições similares às encontradas no ovário (MAX *et al.*, 2004). A composição dos meios utilizados para o cultivo varia em decorrência da função do estudo realizado. Um dos primeiros cultivos de FOPA de gatas domésticas foi realizado em 1989, apresentando como resultado maior incidência de maturação folicular quando os ovócitos eram recuperados de ovários de gatas em anestro (54%) ou em fase folicular (56%) em comparação aos recuperados em gatas durante a fase lútea (29%) ou prenhez (35%). Também foi relatado que o percentual dos folículos que amadureceram com sucesso *in vitro* em meio sem suplementação hormonal (37%) foi menor do que os cultivados apenas com FSH (48%) ou FSH e LH (54%) (JOHNSTON *et al.*, 1989).

Jewgenow e Goritz (1995) utilizaram Meio 199 (Sigma) suplementado com bicarbonato de sódio, lactato de sódio, piruvato de sódio, solução antibiótico-antimicótica e de soro fetal bovino para o cultivo de FOPA de felinos domésticos. Os folículos foram alocados em uma placa de cultura de 96 poços e cultivados a 37,5° C em 5 % CO₂ durante 1 a 3 semanas. A cada semana, o meio era substituído e os folículos sobrenadantes eram coletados e corados para avaliação da viabilidade com azul de tripano. Ao final do período de cultura, os folículos que permaneciam fortemente ligados foram avaliados quanto a número de células da granulosa circundantes e a sua estrutura (cromatina desintegrada e encolhida era um sinal de atresia). As vesículas germinativas e o citoplasma dos ovócitos foram classificados com base em uma estimativa visual de integridade. O sucesso da cultura foi caracterizado pela manutenção da viabilidade folicular e pelo aumento do diâmetro dos folículos.

Missio *et al.* (2014), comprovaram a ocorrência inédita da integridade morfológica de FOPAs em ovários de gatas transportados a 4° C por 24 h, utilizando o meio TCM 199. Em outro estudo realizado por Jewgenow *et al.* (1998), desta vez objetivando avaliar a toxicidade da solução crioprotetora e o potencial de sobrevivência de FOPAs de gatos submetidos a criopreservação, resultou em sobrevivência de 19 % dos folículos avaliados durante um período de aproximadamente uma semana, após à exposição aos crioprotetores dimetilsulfóxido ou 1,2-propandiol. A viabilidade folicular foi estimada pela coloração com azul de Tripano e Hoechst. O parâmetro utilizado para constatar sobrevida foi a visualização de um ovócito saudável e presença de células da granulosa.

Um estudo mais recente, realizado por Simsek e Arikan (2018) examinou os efeitos do colesterol (22R-HC), FSH e LH na produção de estradiol e progesterona pelas células da granulosa em gatas. Foi constatado a eficácia do 22R-HC para continuar uma secreção de estradiol e progesterona de alto nível durante a cultura. No entanto, o mesmo sucesso não foi obtido em relação ao efeito do FSH ou LH nas células da granulosa. O nível de produção basal de progesterona não foi afetado com o tempo, mas a produção basal de estradiol aumentou significativamente durante cinco dias de cultivo de células da granulosa, e pela primeira estabeleceu-se um protocolo de cultura destas células.

Relacionado a conservação de felinos ameaçados de extinção à MOIFOPA permite utilizar um grande número de FOPAs a partir de um único ovário, o que pode contribuir para a multiplicação e restabelecimento destas populações de animais. Para Figueiredo *et al.* (2007), a partir de poucas fêmeas é possível obter um grande número de ovócitos a serem utilizados em diferentes biotécnicas, como por exemplo, a fecundação *in vitro*, a transferência de embriões, a clonagem e a transgenia. Técnicas como xenotransplante ovariano (SANTOS, 2015) e

vitricação de FOPAs (MARTINS *et al.*, 2018) foram descritas com sucesso em felinos domésticos e podem ser extrapoladas para outras espécies, auxiliando na instituição de bancos de germoplasma animal.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O texto foi organizado em duas partes, na primeira esclarecemos as particularidades do sistema reprodutivo feminino, abordando características do ciclo estral e da ovulação; e a segunda iluminou as etapas do desenvolvimento folicular desde o desenvolvimento embrionário, a partir da migração de células germinativas precursoras (CGPs). Também se levou em consideração os processos de oogênese e da morfofisiologia dos folículos ovarianos. No texto ainda destacamos alguns aspectos da utilização da MOIFOPA, que surge como uma nova ferramenta capaz de elucidar questões fundamentais sobre a fase inicial de desenvolvimento e maturação dos gametas femininos na espécie *Felis catus*. A revisão procurou chamar a atenção do leitor para aspectos relevantes do conhecimento que podem facilitar o entendimento da foliculogênese em felinos domésticos, podendo ser extrapolado para espécies de felinos ameaçadas ou em risco de extinção. Sou de opinião que o domínio e o emprego com eficiência das biotécnicas da reprodução, como por exemplo a MOIFOPA, serão no futuro importantes ferramentas para empregar em diferentes cenários da reprodução das espécies felinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADONA, P. R. *et al.* Ovogênese e foliculogênese em mamíferos. **Journal of Health Sciences**, v. 15, n. 3, 2013.
- APOLLONI, L. B. *et al.* Papel dos andrógenos na foliculogênese em mamíferos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1-15, 2016.
- BANKS, D. H.; STABENFELDT, G. Luteinizing hormone release in the cat in response to coitus on consecutive days of estrus. **Biology of Reproduction**, v. 26, n. 4, p. 603-611, 1982.
- BEAVER, B. V. *Feline Behavior-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2003.
- BINDER, C.; CHRISTINE AURICH, C.; REIFINGER, M.; AURICH, J. Spontaneous ovulation in cats - Uterine findings and correlations with animal weight and age. **Animal Reproduction Science**, v.209, n.106167, p.1-9, 2019.
- BRISTOL-GOULD, S. *et al.* Postnatal regulation of germ cells by activin: the establishment of the initial follicle pool. **Developmental biology**, v. 298, n. 1, p. 132-148, 2006.
- BRISTOL-GOULD, S.; WOODRUFF, T. K. Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*). **Theriogenology**, v. 66, n. 1, p. 5-13, 2006.
- BROWN, J.L. Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. **Theriogenology**, v. 66, p.25-36, 2006.
- BYSKOV, A. G. The role of the rete ovarii in meiosis and follicle formation in the cat, mink and ferret. **Reproduction**, v. 45, n. 2, p. 201-209, 1975.
- CARRIJO JR, O. A. *et al.* Morphometry, estimation and ultrastructure of ovarian preantral follicle population in queens. **Cells Tissues Organs**, v. 191, n. 2, p. 152-160, 2010.
- CARVALHO, I. R. Histomorfometria ovariana de felinos domésticos (*Felis catus*) em distintas faixas etárias. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. XVI, p. 33, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/98167>> Acesso em 06 abr. 2022.
- Censo Pet: 139,3 milhões de animais de estimação no Brasil. **Instituto Pet Brasil**, 2019. Disponível em: < <http://institutopetbrasil.com/imprensa/censo-pet-1393-milhoes-de-animais-de-estimacao-no-brasil/#:~:text=De%20acordo%20com%20n%C3%BAmeros%20levantados,de%20r%C3%A9pteis%20e%20pequenos%20mam%C3%ADferos> >. Acesso em 13 abr. 2022.
- CHRISTIANSEN, I.J. **Reprodução no Cão e no Gato**. 1ª ed., São Paulo: Manole Ltda., 1988. 362p.
- CONCANNON, P *et al.* Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulations. **Biology of Reproduction**, v. 23, n. 1, p. 111-117, 1980.
- DARDS, J. L. "The behaviour of dockyard cats: interactions of adult males." **Applied Animal Ethology**, 10, p. 133-153, 1983.

FELDMAN, E.C., NELSON, R.W. **Canine and Feline Endocrinology and Reproduction**. 3th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2004. 1089 p.

Female Cat in Heat, **Pet Informed**, 2009. Disponível em: <www.pet-informed-veterinary-advice-online.com> Acesso em 23 abr. 2022.

FIGUEIREDO J. R., *et al.* Importância da biotécnica de MOIFOPA para o estudo da foliculogênese e produção *in vitro* de embriões em larga escala. **Rev Bras Reprod Anim**, v.31, n.2, p.143- 152, 2007.

FIGUEIREDO, J. R.; *et al.* Manipulação de ovócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, p.227-260, 2001.

GELBERG, H. B. *et al.* Feline cystic rete ovarii. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 3, p. 304-307, 1984.

GIMÉNEZ, F. *et al.* Fisiología reproductiva y control de los ciclos estrales en la gata doméstica. **Analecta Veterinaria**, v. 26, 2006.

GOSDEN, R. G.; TELFER, E. Numbers of follicles and oocytes in mammalian ovaries and their allometric relationships. **Journal of Zoology**, v. 211, n. 1, p. 169-175, 1987.

GRIFFIN, B. Prolific Cats: The Estrous Cycle. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Vol. 23, No. 12, p. 1049-1057. Auburn: Scott-Ritchey Research Center, 2001.

GUDERMUTH, D.F., NEWTON, L., DAELS, P., CONCANNON, P. Incidence of spontaneous ovulation in young, group-housed cats based on serum and faecal concentrations of progesterone. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.51, p.177-184, 1997.

HURNI, H. Daylength and breeding in the domestic cat. **Laboratory animals**, v. 15, n. 3, p. 229-233, 1981.

HYTELL, P. *et al.* Gametogênese. In: HYTTEL, P. *et al.* **Embriologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. Cap. 3. p. 25-31.

JEMMET, J. E.; EVANS, J. M. A survey of sexual behaviour and reproduction of female cats. **Journal of Small Animal Practice**, v.18, n.1, p.31-37, 1977.

JERICÓ, M. M. *et al.* **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015.

JEWGENOW, K. *et al.* Viability of small preantral ovarian follicles from domestic cats after cryoprotectant exposure and cryopreservation. **Reproduction**, v. 112, n. 1, p. 39-47, 1998.

JEWGENOW, K.; GORITZ, F. The Recovery of Pré-antral Follicles from Ovaries of Domestic Cats and Their Characterization before and after Culture. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p.285-297, 1995.

- JÖCHLE, W.; JÖCHLE, M. Reproductive and behavioral control in the male and female cat with progestins: Long-term field observations in individual animals. **Theriogenology**, v. 3, n. 5, p. 179-185, 1975.
- JOHNSTON, L. A.; O'BRIEN, S. J.; WILDT, D. E. *In vitro* maturation and fertilization of domestic cat follicular oocytes. **Gamete research**, v. 24, n. 3, p. 343-356, 1989.
- JÚNIOR, P. H. A.C. *et al.* Foliculogênese: da migração das células germinativas primordiais à aplicação de tecnologias reprodutivas em mamíferos. **CES Revista**, v. 23, n. 1, p. 35-44, 2009.
- KUSTRITZ, M. V. R. Feline reproductive physiology. In: KUSTRITZ, M. V. R.. **Clinical Canine and Feline Reproduction: evidence-based answers**. St. Paul: John Wiley & Sons, cap. 6. p. 209-215, 2010.
- KUSTRITZ, M. V. R. Reproductive behavior of small animals. **Theriogenology**, v. 64, n. 3, p. 734-746, 2005.
- KUTZLER, M.A. Estrus induction and synchronization in canids and felids. **Theriogenology**, v.68, n.3, p.354-374, 2007.
- LAWLER, D. F. *et al.* Ovulation without cervical stimulation in domestic cats. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 47, p. 57-61, 1993.
- LIMA, G. L. *et al.* Adaptação da tecnologia do ovário artificial para os animais silvestres. **R. bras. Reprod. Anim.**, p. 146-151, 2018.
- LIMA-VERDE, I. B. *et al.*. Influência dos hormônios esteroides na foliculogênese. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 35, n. 4, p. 472-482, 2011.
- LITTLE, S. E. Feline Reproduction and Pediatrics: feline reproduction. In: LITTLE, S. E.. **The Cat: Clinical Medicine and Management**. Ottawa: Saunders Elsevier, 2011. Cap. 8. p. 1195-1226.
- LÚCIO, F. M. S. **Apoptose folicular em cadelas e gatas ao longo do ciclo éstrico**. 2018. Dissertação de Mestrado. Disponível em: <<https://recil.ensinulusofona.pt/handle/10437/8800>> Acesso em 03 abr. 2022.
- MARTINS, J. L. A. *et al.* Cat preantral follicle survival after prolonged cooled storage followed by vitrification. **Cryobiology**, v. 81, p. 94-100, 2018.
- MAX, M. C. *et al.* Principais aspectos da manipulação de ovócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 7, n. 1/3, p. 66-72, 2004.
- MIALOT, J.P. Patologia da Reprodução dos Carnívoros Domésticos. 1ª ed., Porto Alegre: Metrópole, 1988. 160p.
- MISSIO, D. *et al.* Conservação de folículos pré-antrais de felinos domésticos (*Felis catus*) refrigerados por 24 h em TCM 199 e PBS. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, n. 3, p. 176-181, 2014.

- MOORE, K. L. *et al.* Reprodução Humana. In: MOORE, Keith L. *et al.* **Embriologia Básica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. Cap. 2. p. 24-40.
- MOUTTHAM, L.; COMIZZOLI, P. The preservation of vital functions in cat ovarian tissues during vitrification depends more on the temperature of the cryoprotectant exposure than on the sucrose supplementation. **Cryobiology**, v. 73, n. 2, p. 187-195, 2016.
- OROSZ, S. E. *et al.* Stimulation of folliculogenesis in domestic cats with human FSH and LH. **Theriogenology**, v. 37, n. 5, p. 993-1004, 1992.
- PAAPE, S. R. *et al.* Luteal activity in the pseudopregnant cat. **Biology of Reproduction**, v.13, n.4, p.470-474, 1975.
- POVEY, R. C. Reproduction in the pedigree female cat. A survey of breeders. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 19, n. 8, p. 207, 1978
- REECE, W. O. Reprodução Feminina dos mamíferos. In: REECE, W. O. **Dukes | Fisiologia dos Animais Domésticos**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Cap. 53. p. 1465-1521
- RODRIGUES, A. V. F. Normas para apresentação de trabalhos técnico-científicos regras básicas para alunos de graduação. **BIBLIOTECA DA FACULDADE DE VETERINÁRIA**. Porto alegre: UFRGS, 2020.
- SALMITO-VANDERLEY, C. S. B.; SANTANA, I. C. H. Gametogênese e ciclo reprodutivo feminino. In: SALMITO-VANDERLEY, C. S. B.; SANTANA, I. C. H. **Histologia e Embriologia Animal Comparada**. 2. ed. Fortaleza: EdueCE, 2015. Cap. 2. p. 15-21.
- SANTOS, F. A. Xenotransplante ovariano de gatas domésticas em camundongas C57BL/6 SCID e sua resposta á gonadotrofina coriônica equina. **UFERSA**, Biblioteca Central Orlando Teixeira, 53 f., 2015.
- SCHÄFER-SOMI, S. Effect of melatonin on the reproductive cycle in female cats: a review of clinical experiences and previous studies. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 19, n. 1, p. 5-12, 2017.
- SCHMIDT, P.M; CHAKRABORTY, P.K.; WILDT, D.E. Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I- Relationships during the pregnancy, parturition, lactacion and postpartum estrus. **Biology of Reproduction**, v.28, n.3, p.657-671, 1983.
- SENEDA, M. M.; BORDIGNON, V. New concepts on folliculogenesis. **Acta Science Veterinarie**, v. 35, p. 863-868, 2007.
- SENEDA, M. M.; SILVA, K. C. F. Epigenética e neo-oogênese: novos conceitos em foliculogênese. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, p. 11-117, 2009.
- SHILLE, V. M *et al.* Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol-17 β concentrations in plasma: relation to estrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium. **Biology of reproduction**, v. 21, n. 4, p. 953-963, 1979a.

- SHILLE, V.M.; STABENFELDT, G.H. Luteal function in the domestic cat during pseudopregnancy and after treatment with prostaglandin F_{2α}. **Biology of Reproduction**, v.21, n.5, p.1217-1223, 1979b.
- SILVA, A. C. J.S. R. *et al.* Aspectos fisiológicos do LH na foliculogênese. **Femina**, p. 469-476, 2006.
- SILVA, L. D. M. Considerações sobre a reprodução da gata. **Ciência Animal**, v.30, n.4, p.57-69, 2020.
- SILVA-SANTOS, K. C. Seneda, M. M Multioocyte follicles in adult mammalian ovaries. **Anim Reprod**, v. 8, p. 58-67, 2011.
- SIMSEK, O.; ARIKAN, S. Effects of cholesterol, FSH and LH on steroidogenic activity of cat granulosa cells cultured *in vitro*. **Animal Reproduction (AR)**, v. 12, n. 4, p. 931-938, 2018.
- TONIOLLO, G. H. *et al.* Colpocitologia do ciclo estral em gatas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 32, n. 2, p. 125-129, 1995.
- TSUTSUI, T. *et al.* Plasma LH, ovulation and conception rates in cats mated once or three times on different days of oestrus. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, suppl.2, p. 76-78, 2009.
- TSUTSUI, T.; STABENFELDT, G. H. Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.47, suppl.1, p.29-35, 1993.
- 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
- VERHAGE, H. G. *et al.* Plasma levels of estradiol and progesterone in the cat during polyestrus, pregnancy and pseudopregnancy. **Biology of reproduction**, v. 14, n. 5, p. 579-585, 1976.
- VIEIRA, A. M. L. Controle populacional de cães e gatos: Aspectos técnicos e operacionais. **Ciência Veterinária Tropical, Recife-PE**, v. 11, n. suplemento 1, p. 102-105, 2008.
- WILDT D. E., *et al.*, Ovarian Activity, Circulating Hormones, and Sexual Behavior in the Cat. I. Relationships During the Coitus-Induced Luteal Phase and the Estrous Period Without Mating, **Biology of Reproduction**, Volume 25, P. 15–28, 1981.
- WILDT, D. E *et al.* Effect of copulatory stimuli on incidence of ovulation and on serum luteinizing hormone in the cat. **Endocrinology**, v. 107, n. 4, p. 1212-1217, 1980.
- WOOD, T. C.; MONTALI, R. J.; WILDT, D. E. Follicle-oocyte atresia and temporal taphonomy in cold-stored domestic cat ovaries. **Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research**, v. 46, n. 2, p. 190-200, 1997.