HENRIQUE RIBEIRO ALVES DE RESENDE

**Avaliação morfo-quantitativa da glândula pineal de éguas em atividade
reprodutiva e em anestro fisiológico**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientadora:

Prof^a. Dr.^a Irvênia Luiza de S. Prada

São Paulo

2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1687
FMVZ

Resende, Henrique Ribeiro Alves de

Avaliação morfo-quantitativa da glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva e em anestro fisiológico / Henrique Ribeiro Alves de Resende.- São Paulo: H. R. A. de Resende, 2006.

260 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Profª. Dra. Irvênia Luiza de Santis Prada.

1. Anatomia. 2. Glândula pineal. 3. Equinos. 4. Microscopia.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Aspectos anatômicos da glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva e em anestro fisiológico", Protocolo nº479/2004, utilizando 36 cadáveres de eqüinos, sob a responsabilidade da Profª Drª Irvênia Luiza de Santis Prada, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendun".

(We certify that the Research "Anatomical aspects of the pineal gland of mares in reproductive activity and in physiological anestrus" protocol number 479/2004, utilizing 36 equines, under the responsibility of Profª Drª Irvênia Luiza de Santis Prada, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendun", meeting.

São Paulo, 14 de junho de 2004

Profª Drª Julia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: RESENDE, Henrique Ribeiro Alves de

Título: Avaliação morfo-quantitativa da glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva e em anestro fisiológico

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
-----------	-------	--------------	-------

Assinatura:	_____	Julgamento:	_____
-------------	-------	-------------	-------

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
-----------	-------	--------------	-------

Assinatura:	_____	Julgamento:	_____
-------------	-------	-------------	-------

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
-----------	-------	--------------	-------

Assinatura:	_____	Julgamento:	_____
-------------	-------	-------------	-------

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
-----------	-------	--------------	-------

Assinatura:	_____	Julgamento:	_____
-------------	-------	-------------	-------

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
-----------	-------	--------------	-------

Assinatura:	_____	Julgamento:	_____
-------------	-------	-------------	-------

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Fernando e Aparecida; e ao Sr. Luiz Grato e D. Mercedes, que também se tornaram;

À Flávia, minha esposa amada, a quem devo mais esta conquista; você, Lora, me mostrou a leveza da vida;

À Ana, que, mesmo de longe, com certeza continua a me abençoar;

Ao amigo Fábio Maurício Cardoso, responsável por me mostrar os segredos e encantos da Anatomia. Mesmo distante e no silêncio, esteja certo: se não fosse você, esta conquista não teria acontecido!

Ao Alonso, meu colega de trabalho, amigo e companheiro; você amenizou bastante esta jornada, tornando-a possível;

Aos meus filhos de coração, Ox, Holf e Uik, companhias fiéis: da Flavinha, na minha ausência; e minhas, nas frias madrugadas quando chegava em casa.

Ao Lucas, meu maior presente hoje; e quem me ensina, a cada dia, que a vida é muito mais do que nossos olhos vêem.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e a esta, pela oportunidade concedida e pelo apoio, para realização deste treinamento;

Aos Professores João e Luciano, sem a colaboração dos quais não me seria possível mais esta conquista;

Ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela oportunidade a mim concedida;

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pelo suporte financeiro;

À Professora Maria Angélica Miglino, pela oportunidade concedida, e pelo apoio e compreensão durante o término deste trabalho;

Às secretárias da Pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pelo agradável convívio, amizade, sempre prontas a nos auxiliar;

Aos professores do curso de pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, pelos ensinamentos e amizade;

Ao Prof. Dr. Francisco Xavier Hernandez Blazquez, que nunca mediu esforços para me ajudar, sempre que precisei. A você Professor, minha eterna gratidão;

Aos funcionários e amigos do Departamento de Anatomia Veterinária, nas pessoas do Diogo, Graça, Índio, Jackie, Kazue, Maicon, Patrícia, Ronaldo e Wanderlei (*in memoriam*), pela colaboração e amizade;

Aos técnicos Cláudio, Edson, Gaspar, Gerson, Luciano, Magna, Marguite e Marta, pela inestimável colaboração e profissionalismo demonstrados;

A todos os colegas da pós-graduação, aqui representados pela Adriana Rodrigues, André Filadelpho, Arley, Cadú, Meninas do “Litman”, Rafael e Roseâmely, pelo agradável convívio e amizade;

Aos funcionários do Frigorífico Belo Vale, em Campo Belo (MG), na pessoa do diretor, Sr. Heliomar Cambraia Rogana, que tornaram possível a execução do presente trabalho. A vocês, meus sinceros agradecimentos pela colaboração e amizade;

Ao Sr. Marcos Antônio, meu amigo e companheiro de trabalho, o qual nunca mediu esforços para me auxiliar na busca do conhecimento;

Aos meus fiéis colaboradores, Bruno Loiacono, Caio César, Daniel Gomes, Daniela Oliveira, Everton Lopes, Juliana Mourão e Juliana Leal, que contribuíram muito para a elaboração deste trabalho;

Aos Professores Alessandra Querino, Joel Muniz, Luiz Edson Mota, Marcelo Oliveira e José Camisão, pela inestimável ajuda, sempre prontos a me atender;

À minha família paulistana, representada pelo Tio Daniel, “Tia” Maria Lígia e primos; Cláudio e Camila, e Luciano e Thais, que sempre me acolheram, independentemente da hora e distância, minha eterna gratidão;

Ao Professor Edson Liberti: você, meu querido amigo, me ensinou muito mais do que elaborar um bom trabalho; mostrou-me, com seu dom, a arte de fazer com a alma, dignificando, acima de tudo, o ser humano;

À Professora Irvênia Prada; desde o início do curso preocupava-me como poderia externar meus agradecimentos por tudo aquilo que fizera por mim, pois sabia que as palavras me faltariam neste momento. Ainda assim Professora, deixo registrados aqui minha admiração, respeito e carinho por um dos espíritos mais puros e evoluídos que já tive a oportunidade de conhecer. Muito me orgulha poder chamá-la de amiga, a quem devo muito do que hoje imagino saber a respeito da vida;

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela amizade, convivência, orientação e serviços prestados, meus sinceros agradecimentos;

Ao Helder e ao Wirton, amigos e irmãos nesta caminhada. Vocês, hoje, geograficamente distantes, moram no meu coração. Agradeço-lhes, do fundo de minha alma, por terem me acolhido quando eu mais precisei;

Ao Lucão, companheiro das tarefas extra-escolares, que me ajudou a tornar mais amena esta jornada;

Aos amigos do “VQM”, pela amizade, colaboração e carinho com os quais me acolheram, sempre;

Às Sr.^{as} Érika e Priscila, e aos Prof. Cláudio Oliveira e Keico, sem os quais não seria possível a realização das dosagens hormonais;

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste treinamento.

"A janela não é a vista;
a janela permite a vista."
(Hugh Prather)

RESUMO

RESENDE, H. R. A. de **Avaliação morfo-quantitativa da glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva e em anestro fisiológico.** [Morpho-quantitative evaluation of the pineal gland in reproductive active and physiologically anestrus mares]. 2006. 260 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

A glândula pineal (GP) integra o epitélamo, mostra-se sensível à luz e secreta um hormônio, a melatonina. Em vertebrados sua secreção é estimulada na ausência de luminosidade e parece interferir na adaptação das funções reprodutivas às condições de luminosidade, especialmente em animais que se reproduzem sazonalmente, possibilitando o nascimento dos filhotes em época mais favorável. Considerando a importância econômica dos eqüinos, tais particularidades tornam-se alvo de pesquisas, justificadas pela ação da GP sobre a reprodução. Objetivou-se avaliar aspectos macro e microscópicos do órgão, como características qualitativas referentes a fibras colágenas (FC) e elásticas (FE); número (NP) e tamanho (PP) de pinealócitos (Pnlct), e eventuais correlações entre estas e os períodos reprodutivos. Para tanto, utilizaram-se 24 éguas, selecionadas por palpação retal e idade, e distribuídas em duas fases: atividade reprodutiva (AR) e anestro fisiológico (AF), cada uma com 2 grupos (3-8 e 15-20 anos). Os animais foram medidos à cernelha (H) e pesados (PV). Colheu-se amostra de sangue para dosagem de estrógeno (E_2), progesterona (P_4) e melatonina (Mlt), bem como procedeu-se à retirada do sistema genital (SG) para comprovação da fase reprodutiva; do encéfalo e GP para mensurações, e desta para análises histológicas. Nos espécimes, além da avaliação visual do SG, foram determinados o comprimento (CE) e largura (LE) dos encéfalos; o comprimento (CO), largura (LO) e altura (AO) dos ovários e das GP (CGP, LGP e AGP). Após documentação fotográfica as GP foram seccionadas em seu maior eixo, obtendo-se 4 quadrantes. Adotou-se esquema de rodízio para imersão destes em soluções de Bouin, glutaraldeído, Metacar e McDowell. Utilizaram-se colorações por hematoxilina-

eosina, fucsina básica/azul de toluidina, Verhoeff e técnica específica para microscopia eletrônica de transmissão. Para estudo morfométrico foi determinado o perímetro de 480 Pnlct por animal e avaliado o número destes em 2,48 mm² de tecido glandular. Os dados foram analisados utilizando-se estatística descritiva, correlação de *Pearson*, teste “F” e de *Scott-Knott*. A GP localizou-se no plano sagital mediano, dorso-caudalmente à aderência intertalâmica e ventralmente ao esplênio do corpo caloso, apresentando formato ovóide ou piriforme (tipo A ou sub-calosa). Está envolvida por cápsula de tecido conjuntivo (TC), da qual partem septos que, acompanhados por vasos sanguíneos, dividem o parênquima em lóbulos. Os principais componentes glandulares são Pnlct e astrócitos. O PV, H, concentrações de E₂, Mlt, CE, LE, CGP, LGP, AGP e PP não diferiram entre idades e/ou fases. Não foram encontradas interações entre PV, H, tamanhos de ovários, encéfalo e GP. Concentrações de P₄ foram maiores nos animais em AR. O NP foi maior naqueles em AF, em ambas idades. Observaram-se FE em éguas em AR e AF, mas em maior quantidade nas jovens. Naquelas em AR observou-se maior quantidade de TC e de FC do tipo I. Nas em AF foi maior a quantidade de FC do tipo III e de Pnlct. Fibras nervosas e vesículas granulares e agranulares foram identificadas tanto no citoplasma de Pnlct quanto fora dele. Concreções calcáreas foram evidenciadas no núcleo, citoplasma ou espaço extracelular de todas GPs, independentemente da idade e/ou fase reprodutiva.

Palavras-chave: Anatomia. Glândula pineal. Equinos. Microscopia.

ABSTRACT

RESENDE, H. R. A. de **Morpho-quantitative evaluation of the pineal gland in reproductive active and physiologically anestrus mares**. [Avaliação morfo-quantitativa da glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva e em anestro fisiológico]. 2006. 260 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

The pineal gland (PG) is part of the epithalamus, is sensitive to light and secretes the hormone melatonin. In vertebrates its secretion is stimulated by lack of luminosity and appears to interfere with reproductive functions adaptation to luminosity, especially in seasonal breeding animals, directing births to periods more favorable for offspring survival. Considering the equine industry economical importance, research targets, focused on PG action in reproduction becomes very relevant. The objective was to evaluate macro and microscopic aspects of the PG, qualitative characteristics pertaining to collagen (CF) and elastic (EF) fibers; pinealocyte (Pnlct) number (PN) and size (PS) and eventual correlations between these variables and distinct reproductive periods. Twenty four mares were selected by rectal palpation and age, and classified as physiologically anestrus (PA) or reproductively active (RA). Furthermore, within PA and RA mares, two age subgroups (3 – 8 and 15 – 20 years old) were formed. Whither height (WH) and body weight (BW) were also recorded. Blood samples were taken for estradiol (E_2), progesterone (P_4) and melatonin (Mlt) measurements, as well as collection of the reproductive tract (RT), of the encephalon and PG for gross measurements and histological analysis. Macroscopic evaluation of the RT, length (EL) and width (EW) of the encephalon were determined. Ovary and PG lengths, widths and heights (OL and PGL, OW and PGW, and OH and PGH, respectively) were also measured. After photographic documentation PGs were sectioned along their major axis resulting in four quadrants. A rotational scheme was adopted for PG tissue immersion in Bouin's, glutaraldehyde, metacar and McDowell solutions. The following staining procedures were

used: haematoxylin-eosin, basic fuchsin/toluidine blue, Verhoeff and a transmission electron microscopy specific technique. For the morphometric study, the diameter of 480 Pnlct per animal was determined. PN was determined in 2.48mm^2 of PG tissue. Data was analysed by descriptive statistics, Pearson's correlation and F and Scott-knott tests were performed for mean comparisons. PG was located in the median sagittal plane, dorsocaudally to the inter-thalamic adherence and ventrally to the corpus callosum esplenium, showing an ovoid or piriform (type A or sub-callosum). The PG is surrounded by connective tissue (CT), from which septa originate, followed by blood vessels that divide the parenchyma in lobules. The main glandular components are Pnlct and astrocytes. Body weight, WH, E₂, Mlt, EL, EW, PGL, PGW, PGH and PS did not differ between age group and reproductive status. No interactions between BW, WH, ovarian, encephalon and PG sizes were observed. Progesterone concentrations were higher in RA mares. Pinealocyte number was greater for RA mares from either age group. EF content was similar between RA and PA mares, but higher in the younger groups. Higher CT and type I CF were observed in RA mares. Higher type III CF and PN were found in FA mares. Nervous fibers and granular and agranular vesicles were identified either in the Pnlct cytoplasm or in the extra-cellular space. Calcium concretions were observed in the nucleus, cytoplasm or extra-cellular space of all PGs, independently of age and/or reproductive status.

Keywords: Anatomy. Pineal Gland. Equine. Microscopy.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Peso vivo (kg) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	101
Tabela 2	–	Idade (anos) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	102
Tabela 3	–	Altura (cm) à cernelha, de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	106
Tabela 4	–	Concentrações séricas de estradiol (pg/ml) em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	107
Tabela 5	–	Concentrações séricas de progesterona (ng/ml) em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	108
Tabela 6	–	Concentrações séricas de melatonina (pg/ml) em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	108
Tabela 7	–	Medidas (mm) do comprimento (C), largura (L) e altura (A) dos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de éguas em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	109
Tabela 8	–	Medidas (mm) do comprimento (C), largura (L) e altura (A) dos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de éguas em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	110

Tabela 9	–	Medidas (mm) do comprimento (C) e largura (L) dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	111
Tabela 10	–	Medidas (mm) do comprimento (C), largura (L) e altura (A) das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	113
Tabela 11	–	Médias (μm^2) da área de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	118
Tabela 12	–	Médias do número de pinealócitos em 1,0 e 2,48 mm^2 de tecido glandular, de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	120

LISTA DE GRÁFICOS

Apêndice A, Gráfico 1	– Médias do peso vivo (kg) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	178
Apêndice A, Gráfico 2	– Médias da altura (cm) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	178
Apêndice A, Gráfico 3	– Médias (mm) do comprimento, largura e altura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	179
Apêndice A, Gráfico 4	– Médias (mm) do comprimento, largura e altura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	179
Apêndice A, Gráfico 5	– Médias (mm), por faixa etária, da largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	180
Apêndice A, Gráfico 6	– Médias (mm), por fase reprodutiva, da largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	180
Apêndice A, Gráfico 7	– Médias (mm) do comprimento e largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	181

Apêndice A, Gráfico 8	– Médias (mm) do comprimento, largura e altura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	181
Apêndice A, Gráfico 9	– Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas jovens em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	182
Apêndice A, Gráfico 10	– Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas idosas em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	183
Apêndice A, Gráfico 11	– Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas jovens em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	184
Apêndice A, Gráfico 12	– Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas idosas em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	185
Apêndice A, Gráfico 13	– Médias das áreas (μm^2) de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	186
Apêndice A, Gráfico 14	– Médias, por fase reprodutiva, das áreas (μm^2) de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	186
Apêndice A, Gráfico 15	– Médias, em $2,48\text{ mm}^2$ de tecido glandular, do número de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	187

Apêndice A, Gráfico 16	– Médias, por fase reprodutiva, do número de pinealócitos em 1,0 e 2,48 mm ² de tecido glandular de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	187
Apêndice F, Gráfico 17	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	247
Apêndice F, Gráfico 18	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	247
Apêndice F, Gráfico 19	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	248
Apêndice F, Gráfico 20	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	248
Apêndice F, Gráfico 21	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	249
Apêndice F, Gráfico 22	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	249

Apêndice F, Gráfico 23	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	250
Apêndice F, Gráfico 24	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	250
Apêndice F, Gráfico 25	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à altura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	251
Apêndice F, Gráfico 26	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à altura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	251
Apêndice F, Gráfico 27	– Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à altura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	252
Apêndice F, Gráfico 28	– Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	252
Apêndice F, Gráfico 29	– Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	253

Apêndice F, Gráfico 30	– Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	253
Apêndice F, Gráfico 31	– Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	254
Apêndice F, Gráfico 32	– Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	254
Apêndice F, Gráfico 33	– Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	255
Apêndice F, Gráfico 34	– Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	255
Apêndice F, Gráfico 35	– Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	256
Apêndice F, Gráfico 36	– Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à altura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	256

Apêndice F, Gráfico 37	– Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à altura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	257
Apêndice F, Gráfico 38	– Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e à altura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	257
Apêndice F, Gráfico 39	– Dispersão entre dados relativos ao comprimento das glândulas pineais e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	258
Apêndice F, Gráfico 40	– Dispersão entre dados relativos à largura das glândulas pineais e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	258
Apêndice F, Gráfico 41	– Dispersão entre dados relativos à altura das glândulas pineais e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004....	259
Apêndice F, Gráfico 42	– Dispersão entre dados relativos ao comprimento das glândulas pineais e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	259

Apêndice F, Gráfico 43	– Dispersão entre dados relativos à largura das glândulas pineais e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	260
Apêndice F, Gráfico 44	– Dispersão entre dados relativos à altura das glândulas pineais e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	260

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1	– Pesagem de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	87
Fotografia 2	– Paquímetro digital utilizado para mensuração das dimensões dos ovários, encéfalos e glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Laboratório de Anatomia Veterinária da Universidade Federal de Lavras, município de Lavras (MG) – 2004.....	89
Fotografia 3	– Utilização de paquímetro digital para mensuração das dimensões dos ovários de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Laboratório de Anatomia Veterinária da Universidade Federal de Lavras, município de Lavras (MG) – 2004.....	90
Fotografia 4	– Dentes incisivos inferiores de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	103
Fotografia 5	– Dentes incisivos inferiores de éguas jovens e idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	104
Fotografia 6	– Mensuração da altura de uma das éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	105
Apêndice C, Fotografia 7	– Sistema genital de égua jovem, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	206

Apêndice C, Fotografia 8	– Sistema genital de égua jovem, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	207
Apêndice C, Fotografia 9	– Sistema genital de égua idosa, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	208
Apêndice C, Fotografia 10	– Sistema genital de égua jovem, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	209
Apêndice C, Fotografia 11	– Sistema genital de égua jovem, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	210
Apêndice C, Fotografia 12	– Sistema genital de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	211
Apêndice C, Fotografia 13	– Sistema genital de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	212
Apêndice D, Fotografia 14	– Glândula pineal de égua jovem, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	214
Apêndice D, Fotografia 15	– Glândula pineal de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	215
Apêndice D, Fotografia 16	– Glândula pineal de égua idosa, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	216

LISTA DE FIGURAS

Apêndice E, Figura 1	– Micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	218
Apêndice E, Figura 2	– Micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em atividade (1ª FASE) reprodutiva, oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	220
Apêndice E, Figura 3	– Micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	222
Apêndice E, Figura 4	– Eletron-micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se concreções calcáreas.....	224
Apêndice E, Figura 5	– Eletron-micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	226
Apêndice E, Figura 6	– Eletron-micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	228
Apêndice E, Figura 7	– Micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	230
Apêndice E, Figura 8	– Micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	232

Apêndice E, Figura 9	– Micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	234
Apêndice E, Figura 10	– Eletron-micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens e idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	236
Apêndice E, Figura 11	– Eletron-micrografias da glândula pineal (GP) de éguas jovens, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	238
Apêndice E, Figura 12	– Eletron-micrografias da glândula pineal (GP) de éguas idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	240
Apêndice E, Figura 13	– Eletron-micrografias da glândula pineal (GP) de éguas idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	242
Apêndice E, Figura 14	– Micrografia da glândula pineal (GP) de égua idosa, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	244
Apêndice E, Figura 15	– Micrografia da glândula pineal (GP) de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.....	245

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	altura
a. C.	antes de Cristo
B	Bouin
C	comprimento ou concreções calcáreas
°C	grau centígrado
cm	centímetro
D	degeneração
d. C.	depois de Cristo
diff	Difusa
D	Degeneração
E	esquerdo
EA	estações do ano
et al.	e colaboradores
F	Fibroblasto ou zona fibrilar
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
G	Glutaraldeído ou zona granular
GP	glândula pineal
GI	grupo I
GII	grupo II
H. E.	hematoxilina-eosina
I	íntegro
iv	intra-ventricular
I ¹²⁵	Iodo radioativo
kg	Quilograma
L	largura
LTDA	Limitada
M	mitocôndrias
Md	McDowell
MG	Minas Gerais
ml	mililitro
mm	milímetro
Mt	metacar

M I A ^{1ª}	animal jovem 1ª fase
M I B ^{1ª}	animal jovem 1ª fase
M II A ^{1ª}	animal idoso 1ª fase
M II B ^{1ª}	animal idoso 1ª fase
M I A ^{2ª}	animal jovem 2ª fase
M I B ^{2ª}	animal jovem 2ª fase
M II A ^{2ª}	animal idoso 2ª fase
M II B ^{2ª}	animal idoso 2ª fase
N	núcleo
ng/ml	nanograma por mililitro
OD	ovário direito
OE	ovário esquerdo
ov	ovário
°	grau(s)
P	pinealócitos
p/	para
pg/ml	picograma por mililitro
Q	blocos casualizados
qsp	quantidade suficiente para
REL	retículo endoplasmático liso
RER	retículo endoplasmático rugoso
RIE	radioimunoensaio
rpm	rotações por minuto
<i>Sic</i>	assim
SRD	sem raça definida
µm	micrômetro
USP	Universidade de São Paulo
V	vaso(s) ou espaço(s) vascular(es)
<	menor que
>	maior que

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	31
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	37
2.1	Histórico sobre a glândula pineal.....	38
2.2	Considerações gerais sobre aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal.....	40
2.3	Classificação da glândula pineal.....	42
2.4	Aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal em eqüinos.....	45
2.5	Aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal em outras espécies.....	45
2.6	Inervação da glândula pineal.....	49
2.7	Irrigação da glândula pineal.....	50
2.8	Considerações gerais sobre aspectos histológicos da glândula pineal.....	51
2.9	Aspectos histológicos da glândula pineal em eqüinos.....	54
2.10	Aspectos histológicos da glândula pineal em outras espécies.....	57
2.11	Considerações gerais sobre concreções calcáreas.....	66
2.12	Gênese das concreções calcáreas.....	67
2.13	Composição das concreções calcáreas.....	70
2.14	Tipos de concreções calcáreas.....	70
2.15	Funções das concreções calcáreas.....	72
2.16	Concreções calcáreas e idade.....	73
2.17	Concreções calcáreas em eqüinos.....	74
2.18	Concreções calcáreas em outras espécies.....	74
2.19	Processos secretórios da glândula pineal.....	77
2.20	Aspectos fisiológicos da glândula pineal.....	80
3	MATERIAL E MÉTODO.....	85
3.1	Seleção dos animais.....	86
3.2	Comprovação da fase reprodutiva.....	87
3.3	Dosagem sorológica de hormônios.....	90
3.4	Mensuração dos encéfalos e das glândulas pineais.....	91
3.5	Processamento das glândulas pineais.....	92
3.6	Microscopia de luz e análises qualitativa e quantitativa.....	94

3.7	Ultra-estrutura.....	94
3.8	Morfometria de pinealócitos.....	95
3.9	Avaliação da densidade de pinealócitos no tecido glandular.....	96
3.10	Forma de análise dos resultados.....	97
4	RESULTADOS.....	99
4.1	Peso dos animais.....	100
4.2	Idade dos animais.....	102
4.3	Altura dos animais.....	105
4.4	Dosagens hormonais.....	107
4.5	Aspectos macroscópicos e morfométricos do sistema genital.....	109
4.6	Encéfalo.....	111
4.7	Aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal.....	112
4.8	Aspectos histológicos da glândula pineal.....	113
4.9	Morfometria de pinealócitos.....	117
4.10	Avaliação da densidade de pinealócitos no tecido glandular.....	119
5	DISCUSSÃO.....	121
6	CONCLUSÕES.....	152
	REFERÊNCIAS.....	156
	APÊNDICES.....	176

Definida por Pellegrini (1914) como “pequeno órgão enigmático”, e descoberta desde os anos 300 a.C., a glândula pineal foi descrita por Galeno (130-200 d.C.), o qual a considerou como sendo uma estrutura cerebral independente das demais. Recebeu este nome devido ao fato de, em humanos, assemelhar-se ao fruto do pinheiro, denominado, em latim, “pineale” (CARVALHO; SANTOS, 1998).

Localizada no cérebro, integra o epítalamo, uma das porções do diencefalo. Segundo Kolb (1984), em animais pecilotérmicos ela desempenha papel de órgão sensível à luz, possibilitando a adaptação da cor da pele ao meio ambiente, devido a um hormônio por ela secretado, denominado melatonina. Em vertebrados superiores a síntese desta substância ocorre somente na ausência de luminosidade, e parece interferir na atividade sexual dos animais. Assim, Reiter (1981) sugeriu que este órgão esteja envolvido na adaptação, a longo prazo, das funções reprodutivas às condições de luminosidade ambientais, especialmente em mamíferos que se reproduzem sazonalmente, e esta influência seria mediada pela melatonina.

Recentes publicações sugerem a existência de um padrão circadiano de secreção da melatonina pela glândula pineal (ADAMS; BOSU, 1988; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; KILMER et al., 1982), sendo considerada, portanto, como órgão neuroendócrino que exerce efeitos regulatórios diretos e indiretos sobre a concentração hormonal, modulando ritmos reprodutivos sazonais (DELLMAN; BROWN, 1982).

Dentre as espécies animais observam-se características peculiares a cada uma delas, algumas apresentando variações sazonais na atividade sexual, geralmente influenciadas pela temperatura ambiente, disponibilidade alimentar e fotoperíodo. Como exemplo, os pequenos ruminantes (HING-SING; REITER, 1993) e os eqüídeos (EBLING; HASTINGS, 1992) apresentam maior susceptibilidade e, conseqüentemente, período anual de acasalamento bem definido, denominado “estação de monta”.

Paralelamente é sabido que variações de luminosidade interferem no metabolismo do órgão. Assim, animais que dependem do fotoperiodismo para iniciar sua época de acasalamento mostram modificações na glândula, as quais favorecem a procriação (SILVINO, 1999).

Se considerarmos que no reino animal a perpetuação da espécie constitui o principal objetivo da reprodução, torna-se compreensível que alguns animais tenham desenvolvido estratégias reprodutivas que lhes restrinjam a estação de monta à época em que os fatores ambientais sejam mais propícios. Tal comportamento é regido pelo meio ambiente, e tem como objetivo limitar o período de nascimento dos filhotes àquele em que o clima seja mais favorável, e a disponibilidade de alimentos abundante, assegurando-lhes maior possibilidade de sobrevivência (ADAMS; BOSU, 1988; COZZI, 1986; ORTAVANT et al., 1985; SILVINO, 1992).

Embora seja relatada a participação da glândula pineal neste evento (CHEMINEAU, 1993; EBLING; HASTINGS, 1992; GINTHER, 1979; MORROW, 1986), pela ação do hormônio melatonina (BANKS, 1992; DELLMAN; BROWN, 1982; KOLB, 1984; REITER, 1984; SILVINO, 1999), são escassas as informações disponíveis sobre os mecanismos envolvidos, bem como sobre as características morfométricas, mesoscópicas, microscópicas e constituintes celulares desta glândula, principalmente em eqüinos (COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b).

Neste sentido, estudos têm sido conduzidos na tentativa de que sejam elucidados os aspectos funcionais da pineal, bem como os mecanismos envolvidos na interferência por ela exercida no ciclo reprodutivo.

Considerando-se que o cavalo é um animal cuja reprodução é sazonal, Kilmer et al. (1982) e Reiter (1981) acreditam que este órgão participe do controle reprodutivo desta espécie, influenciado pela luminosidade ambiental.

Neste contexto, a glândula pineal tem sido objeto de estudos sob vários aspectos, entre eles o macroscópico e, mais recentemente, o microscópico e o ultraestrutural (CARVALHO, 1997; CARVALHO; SANTOS, 1998; COZZI, 1986; GOMES, 2003; HOLANDA-BARROS, 2002; SILVINO, 1999, 1992), e numerosas investigações sobre aspectos morfológicos e histopatológicos deste órgão, em várias espécies de mamíferos, tem sido conduzidas, buscando-se o entendimento do seu papel endócrino (PEARSE; TAKOR-TAKOR, 1979; WURTMAN; ANTON-TAY, 1969), suas correlações entre o eixo hipotalâmico-hipofisário e o sistema genital, bem como sua participação na percepção da luz e, conseqüentemente, no estabelecimento do ritmo circadiano.

Entretanto, a maioria do conhecimento sobre estrutura e função da glândula pineal provém de insetívoros, roedores, coelhos, carnívoros e primatas. Pouca informação sobre características morfométricas, mesoscópicas e ultra-estruturais da glândula pineal de animais domésticos de grande porte é disponível (ANDERSON, 1965; KARASEK; WYRZYKOWSKI, 1980), constituindo-se em um desafio para a neurociência. A pouca literatura existente refere-se a estudos sobre morfologia, histopatologia e ultra-estrutura da glândula pineal de artiodáctilos (ANDERSON, 1965; GODINA, 1938; GOMEZ DUMM; ITURRIZA, 1979; GUTTE; GRUTZE, 1977, 1979; LUKASZYK; REITER, 1975; PAVEL, 1971; VRIEND; HINKLE, 1980). Ao contrário, escassos dados são verificados no caso de perissodáctilos em geral, e particularmente sobre eqüídeos, no que tange à correlação entre estrutura e função endócrina deste órgão.

Considerando que o cavalo foi um dos primeiros animais a serem domesticados pelo homem, devido ao seu potencial físico para o trabalho e lazer, tais características despertaram o interesse econômico pela criação desta espécie, tornando-a alvo de pesquisas que visem melhorar sua eficiência reprodutiva.

Como o Brasil possui o segundo maior rebanho eqüino do mundo (TORRES; JARDIM, 1987), a busca de conhecimentos que melhorem a produtividade, nesta espécie, tem sido uma constante. Para isto, torna-se indispensável o entendimento não apenas da fisiologia do sistema reprodutivo, mas principalmente de outros órgãos aos quais está relacionado; e grande ênfase deve ser dada às interferências do sistema nervoso sobre os órgãos genitais, haja vista a inter-relação existente entre eles (ANDRADE, 1986; GINTHER, 1979; HAFEZ, 1988; MORROW, 1986; ROBERTS, 1984; ROBINSON, 1992).

Neste contexto, a glândula pineal de várias espécies, inclusive a de animais com reprodução sazonal (REITER, 1974, 1978), vem sendo estudada com o auxílio da microscopia eletrônica, embora maiores informações sobre este órgão ainda sejam necessárias, para melhor entendimento de sua fisiologia.

Diante do exposto, e considerando-se a escassez de trabalhos envolvendo a glândula pineal de eqüinos domésticos, sobre aspectos histofisiológicos, bem como suas relações com o desenvolvimento das gônadas, estudos mais aprofundados sobre este órgão são necessários.

Tal fato justifica a abordagem deste tema, por um lado devido à reconhecida ação da glândula pineal sobre o controle sazonal da reprodução de mamíferos, pela sua sensibilidade à luz (REITER, 1981); e, por outro lado, à insuficiência de informações sobre suas características morfológicas em eqüinos (ANDERSON, 1965; KARASEK; WYRZYKOWSKI, 1980). Neste contexto, estudos ultra-estruturais da pineal mostram-se relevantes e devem mesmo ser priorizados, por se constituírem em potenciais formas de melhor entendimento desse órgão, com conseqüentes maiores possibilidades de elucidação dos mecanismos endógenos de controle da sazonalidade reprodutiva. Tais conhecimentos, além da importância de seu valor intrínseco, poderão subsidiar futuras ações que permitam, de maneira mais eficaz, o controle e a maximização da eficiência reprodutiva das espécies, particularmente dos eqüinos.

Assim, com os procedimentos empregados na análise da glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva e em anestro fisiológico, o presente trabalho pretendeu avaliar:

- ✚ as particularidades macroscópicas, relativas à localização e forma do órgão;
- ✚ possíveis correlações entre suas dimensões e as do encéfalo correspondente;
- ✚ as características qualitativas referentes à presença e arranjo de fibras colágenas e elásticas;
- ✚ a ultra-estrutura dos constituintes glandulares;
- ✚ a distribuição, o número e o tamanho dos pinealócitos.

E os objetivos dessa avaliação foram:

- ✚ melhor conhecer a glândula pineal de éguas, em suas características anatômicas;
- ✚ detectar eventuais correlações entre as características anatômicas analisadas e os períodos reprodutivos considerados;
- ✚ oferecer subsídios para o entendimento do papel dessa glândula nesta espécie, bem como para estudos ulteriores;
- ✚ contribuir para análise comparativa sobre o assunto.

2.1 Histórico sobre a glândula pineal

No que diz respeito aos primeiros estudos sobre a glândula pineal, há relatos que estes datam da época antes de Cristo.

De acordo com a literatura consultada, a glândula foi descoberta pelo anatomista egípcio Herófilos (325-280 a.C.) e pelo fisiologista Erasistratus (BINKLEY, 1988). Estes pesquisadores sugeriram que a mesma funcionaria como uma “torneira”, a qual regularia o fluxo de “ar” ou “espírito vital” entre o terceiro e quarto ventrículos do encéfalo, pois acreditavam que tais estruturas eram o sítio da mente e da alma.

Segundo Binkley (1988), Berengario da Carpi (1460-1530) postulou que o órgão seria responsável pela filtração do líquido cérebro espinhal; e Francastor (1483-1553) presumiu que ela coordenaria as informações dos órgãos sensoriais pares (visão e audição) e, de acordo com este filósofo, essas informações subsidiaram Descartes (1596-1650) para que este propusesse que a glândula pineal desempenhava função enigmática, sendo a sede da alma, além de conectá-la ao corpo (FAVILLI, 1931; OLIVEIRA, 1998).

Acredita-se que os primeiros vertebrados possuíam quatro olhos: dois para captarem o reflexo da luz refletida por objetos do meio ambiente, localizados lateralmente, e os outros relacionados à pele, como “órgãos pineais primitivos”, para captarem modificações de intensidade da luz solar. Deste modo, dois órgãos pineais formam um complexo pineal em alguns ciclóstomos, teleósteos, anuros e répteis, enquanto que em outros vertebrados eles são representados por única estrutura ou duas análogas, as quais se unem durante a ontogênese, como em humanos (VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992). Segundo Moller (1974), a ocorrência de duas pineais não foi registrada em nenhum mamífero adulto.

Em contrapartida, em alguns vertebrados inferiores o aparato pineal é tão desenvolvido que parte dele diferencia-se no chamado “terceiro olho” (LERNER, 1962) ou órgão parapineal (MACHADO, 1965), ímpar e mediano, localizado entre os dois olhos laterais, o qual não está presente nos vertebrados superiores. Segundo Legait et al. (1978), a função do terceiro olho era a de camuflar a cor da pele, já que estes animais habitavam águas marinhas rasas.

Cronologicamente, Kappers (1962) dividiu as pesquisas sobre a glândula em três eras, enquanto Kitay e Altschule (1954) consideraram quatro períodos. Todos incluem, na primeira fase (300 a.C. até o fim do século XIX), a descoberta, bem como as possíveis funções da glândula. A segunda era, que correspondeu à primeira metade do séc. XX, foi caracterizada pelos estudos preliminares sobre Anatomia, Histologia e Embriologia comparadas do órgão, os quais foram possíveis devido aos avanços da microscopia, à época. Na(s) última(s) fase(s), coincidente(s) com a segunda metade daquele século, foram realizadas investigações sobre a Fisiologia e Farmacologia da pineal, e estabeleceram-se as relações desta com outros órgãos do corpo, destacando-se a influência do ciclo luz/escuro sobre ela.

Posteriormente, no período entre 1954 e 1965, ficou demonstrado o papel da glândula pineal como transdutor neuro-endócrino, em contraste com a proposta anterior que a considerava apenas um órgão vestigial. Tal época foi caracterizada por várias pesquisas sobre esta glândula (ANDERSON, 1965; ANGERVALL, 1958; BLIN; MAURIN, 1956; EARLE, 1965; FASSBENDER, 1962; HOPSON; ARSTILA, 1965; KAPPERS et al., 1960; KITAY; ALTSCHULE, 1954; LERNER, 1962; LERNER et al., 1958; SCHARENBERG; LISS, 1965; STEEL; TORRIE, 1960; WOLFE, 1965) e, por isso, ficou conhecida como a “década da transformação”, no que se refere aos trabalhos sobre este órgão.

2.2 Considerações gerais sobre aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal

Nos mamíferos a glândula pineal, corpo pineal ou epífise situa-se no encéfalo, em correspondência ao plano sagital mediano, entre os hemisférios cerebrais e cerebelares, na depressão situada rostralmente aos colículos rostrais, próximo à borda dorso-caudal do terceiro ventrículo. Juntamente com os núcleos das habênulas e comissuras caudal e habenular, entra na formação do epitálamo, o qual é parte do diencéfalo (REITER, 1973; VENZKE, 1986).

Conforme relato de Cutore (1910), a glândula pineal está presente em todos os vertebrados, exceto anfioxos. Entretanto esta afirmação é contestada por Vollrath (1981), o qual não considera o órgão como típico em crocodilianos, edentatos e sirênios, mas sugere a existência de células pineais, em meio ao tecido conjuntivo e vasos presentes na glândula pineal destes animais.

Segundo Oliveira (1998), em répteis, aves e mamíferos a glândula pineal é uma estrutura composta, e não somente fotorreceptor endócrino, embora continue a ser influenciada pela luz.

De acordo com Kappers et al. (1960), ela é pouco desenvolvida em cetáceos, elefantes, marsupiais, roedores e ungulados, mas bem desenvolvida em equídeos, marsupiais, roedores e ungulados.

Machado (2002) e Venzke (1986) relataram que a origem da glândula pineal se dá a partir de um divertículo endimário no teto do terceiro ventrículo. Durante o desenvolvimento embrionário o órgão é invadido por tecido conjuntivo derivado da pia-máter, formando assim a cápsula, a qual penetra no seu interior e constitui os septos. Segundo o

primeiro autor, nos peixes, anfíbios e alguns répteis aquele divertículo permanece, e células de sua parede diferenciam-se em fotorreceptores semelhantes aos cones e bastonetes da retina. Assim, nesses animais, a pineal é um órgão sensorial que recebe estímulos luminosos que atravessam a pele e crânio. Em aves e mamíferos há diferenciação em células parenquimatosas características do corpo pineal, os pinealócitos. Deste modo, nestas espécies, o órgão passou de sensorial para parenquimatoso e secretor. Conclui, o último autor, que a estrutura da glândula pineal é complexa, devido à existência de elementos mesodérmicos derivados da pia-máter, bem como daqueles derivados do epêndima.

Bruni e Zimmerl (1947) descreveram a glândula pineal nos mamíferos como um corpúsculo alongado, com o eixo maior voltado caudo-dorsalmente. Sua coloração é marrom claro, e seu tamanho de 8-10 mm de comprimento, 6 mm de largura e 5 mm de espessura. Encontra-se presa ao terceiro ventrículo por um pedúnculo, no qual há o recesso pineal, uma expansão daquele, para o interior da glândula. Esta última situação também foi observada em humanos (BARGMANN, 1943), cães (GOMES, 2003) e serpentes (HOLANDA-BARROS, 2002).

Segundo Dyce et al. (1987), nos animais domésticos ela é uma pequena estrutura sólida, pigmentada, situada na extremidade dorso-caudal do teto do terceiro ventrículo, imediatamente rostral aos colículos rostrais, oculta entre os hemisférios cerebrais e o vérmis do cerebelo. Sua base está voltada rostralmente, e ligada a um pedículo que se continua dorsalmente com a comissura das habênulas e, ventralmente, com a comissura caudal. Entre estas, o terceiro ventrículo projeta-se para o interior da glândula, formando o já citado recesso pineal (GOMES, 2003; REITER, 1973).

Excetuando-se a região com que diretamente se relaciona com o terceiro ventrículo, a superfície da glândula é recoberta por projeções da pia-máter, a qual forma uma cápsula, e desta partem septos de tecido conjuntivo que penetram no órgão, dividindo-o em lóbulos,

algumas vezes bem definidos (BANKS, 1992; REITER, 1973), como será descrito oportunamente.

Dellman e Brown (1982) a descreveram-na, em mamíferos, como sendo um órgão sólido, parenquimatoso ou folicular, circundado por delgada camada de tecido conjuntivo frouxo.

2.3 Classificação da glândula pineal

Segundo Reiter (1981), a forma da glândula pineal é muito variável entre as espécies e, por isso, foram propostos alguns padrões para classificá-la quanto à sua forma, tamanho e localização.

Destes, o mais utilizado é o sugerido por Vollrath (1981), como pode ser verificado no quadro 1. Segundo este autor a glândula deve ser classificada somente pelo seu formato (alongado, cônico ou piriforme), tomando-se como referência anatômica o terceiro ventrículo; assim, será do tipo proximal (ou A) se o maior volume se concentrar em sua base. Caso seja alongada, com seu comprimento próximo ao dobro da largura, será do tipo próximo-intermediário (ou AB). Quando muito longa, atingindo até o cerebelo, e sua maior parte localizar-se oposta à sua base, será do tipo próximo-intermédio-distal (ou ABC). Entretanto, quando uma de suas medidas for significativamente reduzida, as letras maiúsculas devem ser substituídas pelas minúsculas do alfabeto grego. Como exemplo, a denominação “ α BC” representa uma glândula pineal cuja porção proximal, embora presente, é bastante reduzida. Quando não houver uma classificação precisa, a glândula é considerada difusa, com a sigla

“diff” acompanhando a(s) letra(s). Caso se localize no interior do terceiro ventrículo é chamada “intraventricular” (ou iv). Quando côncava, é referida como “côncava” (ou hollow). De acordo com Blin e Maurin (1956) a pineal dos animais domésticos pode também ser classificada baseando-se na sua localização, utilizando-se o esplênio do corpo caloso como ponto de referência; desta forma, as pineais serão supra-calosas em roedores e lagomorfos; sub-calosas em carnívoros e primatas, e pós-calosas em ruminantes, eqüinos e suínos. Entretanto, segundo Okshe (1981), a glândula deve ser classificada apenas pelo seu formato: alongado, cônico ou piriforme (formato de pêra).

ORDEM	TIPO	AUTOR(ES)
<u>PRIMATAS</u>		
Homem	A	Kopsch, 1953
Orangotango	A	Bargmann, 1943; Quay, 1970a, b
Gibão	A	Bargmann, 1943
Chimpanzé	AB	Bargmann, 1943
Macaco Rhesus	A β ou AB γ	Wartenberg, 1943
<u>ARTIODÁCTILA</u>		
Bovinos	AB	Lang, 1959; Maurin, 1956
Ovinos	A	Lang, 1959; Blin e Maurin, 1956
Caprinos	A	Blin e Maurin, 1956
Suínos	AB	Blin e Maurin, 1956
<u>PROBOSCÍDEA</u>		
Elefantes	A diff	Haug, 1972
<u>PERISSODÁCTILA</u>		
Eqüinos	A	Blin e Maurin, 1956
Asininos	AB	Blin e Maurin, 1956
Muare	AB	Blin e Maurin, 1956
<u>LOGOMORFA</u>		
Coelho	$\alpha\beta C$	Romijn, 1973
<u>CARNÍVOROS</u>		
Cães	AB	Zach, 1960
	A	Blin e Maurin, 1956
Gatos	AB	Zach, 1960
<u>RODENTIA</u>		
Rato	$\alpha\beta C$; αC	Kappers, 1960; Vollrath e Boeckmann, 1978
	C; βC	Gregorek et al., 1977
Camundongo	ABC; $\alpha B\gamma$	Collier, 1943; Upson et al., 1976
Quadro 1 – Classificação de glândulas pineais em mamíferos (Maçaneres, 2004; Vollrath, 1979 – modificado)		

2.4 Aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal em eqüinos

Como mencionado, a maioria do conhecimento sobre este órgão advém de pesquisas com invertebrados, vertebrados de pequeno porte ou primatas, existindo pouca informação sobre perissodáctilos domésticos, particularmente os eqüídeos. Além disso, os poucos trabalhos existentes se referem ao estudo da glândula pineal em eqüinos portadores de patologias, os quais não se adequam ao nosso propósito.

Cozzi (1986) e Cozzi e Ferrandi (1984a) citaram que a glândula de animais de ambos os sexos, provenientes de matadouro, apresentou-se cônica, medindo 7-8 mm de comprimento e 4 mm de largura. Estes autores, assim como Vollrath (1981), classificaram a glândula pineal, nesta espécie, como proximal (ou A), uma vez que o maior volume do órgão se encontra próximo ao terceiro ventrículo; segundo Blin e Maurin (1956), esta é considerada pós-calosa.

2.5 Aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal em outras espécies

Ao contrário do que se observa nos eqüinos, a glândula pineal em outras espécies tem sido exaustivamente pesquisada.

Jordan (1911) afirmou que a pineal de gambás apresenta grande diferença morfológica, e também histológica, quando comparada à de outros mamíferos; segundo o autor, este fato a caracteriza como sendo um órgão primitivo ou rudimentar.

Samarasinghe e Delahunt (1980), por sua vez, afirmaram que, nesta espécie, o órgão é representado somente por uma fina parede do recesso pineal, não havendo uma porção exteriorizada nem uma haste, como em outros mamíferos.

Ainda em gambás, Mançanares (2004) relatou que a glândula localiza-se também no plano sagital mediano, entre os hemisférios cerebrais, próxima à comissura habenular e rostralmente aos colículos rostrais, sendo representada por uma discreta evaginação do teto do diencéfalo, em formato de “U” invertido. Mencionou, ainda, que o órgão possui dimensões microscópicas, fato que impossibilitou, inclusive, a realização de avaliações morfométricas.

Em humanos Bargmann (1943) a descreveu como esférica e conóide, de superfície tuberosa e base unida ao terceiro ventrículo pela comissura habenular. O recesso pineal penetra em sua base e é pouco profundo. Embora as variações existentes quanto à forma sejam freqüentes, seu comprimento médio é aproximadamente 8 mm (ERHART, 1962).

De acordo com a literatura consultada, em humanos ela se constitui numa estrutura ímpar, piriforme, e que se prende às comissuras habenular e posterior. Participa da formação do epitálamo e está localizada no plano sagital mediano, entre o cerebelo e os hemisférios cerebrais, na depressão formada pelos colículos superiores, e ventralmente ao esplênio do corpo caloso. Está separada deste pela tela coróide do terceiro ventrículo e pelas veias cerebrais nela contidas (DIDIO, 2002; LIMA et al., 2003; MACHADO, 2002; OLIVEIRA, 1998).

Nos cães, Venzke (1986) relatou que a glândula pineal está cranialmente aos colículos rostrais, e imediatamente caudal ao corpo habenular. É pequena, alongada em forma de lança, de coloração cinza-esbranquiçada e mede cerca de 2 mm de comprimento. Evans e Miller (1993) a descreveram, nesta espécie, como uma estrutura ímpar, de coloração creme, localizada na região caudal do teto do terceiro ventrículo, medindo aproximadamente 3 mm de comprimento, 1,5 mm de largura e 1 mm de espessura.

Em estudo mais recente, Gomes (2003) analisou esta glândula em cães SRD e observou que a mesma situa-se no plano sagital mediano, rostralmente aos colículos rostrais. A consistência era gelatinosa, a coloração de bege a castanho-acinzentado, e o formato, visto dorsalmente, foi predominantemente triangular; já numa visão lateral apresentou-se glossóide ou cilindróide, com o ápice em bisel. As médias do comprimento e largura foram, respectivamente, 2,05 mm e 1,78 mm.

Em martas, mamífero cuja pele é bastante valorizada, Vigh e Vigh-Teichmann (1992) relataram a existência de um complexo pineal ventralmente ao esplênio do corpo caloso, composto por uma parte dorsal e outra ventral, maior. Ambas são separadas e cobertas por prolongamentos das meninges encefálicas (aracnóide e pia-máter) e conectadas, individualmente, ao epitálamo.

Em cutias, o órgão apresentou-se alongado, de cor acinzentada ou castanho escuro, situado dorsalmente ao teto do terceiro ventrículo, no sulco entre os colículos rostrais, voltado para a confluenta dos seios (*sic*). Numa visão dorsal a glândula insinua-se entre os lobos occipitais e o vérmis do cerebelo. O comprimento variou de 9 a 12 mm, enquanto as larguras da base, haste e ápice variaram, respectivamente, de 0,3 a 1,2mm; 0,2 a 0,8mm, e 0,5 a 1,5mm (SILVINO, 1992; SILVINO et al., 1995).

Em búfalos, Carvalho (1997) verificou que a pineal é grande, globosa, situada entre os dois colículos rostrais, e apresenta uma haste com luz visível. É dividida em dois lobos (direito e esquerdo), com coloração bege clara e, às vezes, pigmentada externamente. O comprimento variou entre 7 a 10 mm, a largura entre 7 e 9 mm, e a haste entre 2 a 15 mm. A autora cita, ainda, que a classificação do órgão, segundo Vollrath (1981) é do tipo A, e de acordo com Blin e Maurin (1956), ela pode ser considerada pós-calosa.

Já Rao e Saigal (1971) afirmaram que, em animais adultos desta espécie, o órgão mediu 7,1 mm de comprimento e 7,0 de largura; os valores correspondentes em bezerros foram, respectivamente, 5,5 e 5, mm. A glândula pesou, em média, 205 mg nos adultos.

Branco et al. (1997), analisando a glândula pineal de capivaras, observaram que a mesma é bastante desenvolvida, de formato alongado, coloração branca perolada ou ligeiramente acastanhada. Situa-se no teto do terceiro ventrículo, dorsalmente aos colículos rostrais, e é constituída por três partes distintas: ápice, o qual chega a ultrapassar os limites cerebrais e, por ser a porção mais dilatada, quando seccionado, apresenta uma bem desenvolvida cavidade; a base, pela qual se fixa no teto do terceiro ventrículo, e o corpo, cilíndrico e delgado, responsável pela conexão entre as anteriores.

Em ratos e coelhos a glândula pineal situa-se entre os hemisférios cerebrais e o vérmis do cerebelo, e apresentou-se em forma de bastão, sendo sua parte superficial arredondada e desenvolvida, circundada por vários vasos oriundos do plexo coróide. Em ambas as espécies estudadas a glândula une-se ao teto do terceiro ventrículo; nos ratos por uma única haste, caracterizando o recesso pineal típico, e nos coelhos por dois pedúnculos (SILVINO, 1999). Segundo a autora o comprimento do órgão, e suas larguras no ápice e na haste variaram, respectivamente, para ratos e coelhos, de 3,31 a 4,97 e de 7,44 a 9,47 mm; 1,04 a 1,59 e de 1,06 a 2,65 mm; 0,30 a 0,56 e de 0,33 a 1,13 mm.

Em relação a vertebrados não mamíferos podemos citar os estudos de Holanda-Barros (2002) o qual relatou que, em serpentes, a pineal apresentou-se como uma pequena estrutura dorsal, mediana, ovóide, de coloração cinzenta ou castanho-escura na região parietal do diencefalo, localizada entre os lobos óticos rostralmente, e os hemisférios cerebrais, caudalmente.

2.6 Inervação da glândula pineal

A principal inervação do órgão se dá por fibras pós-ganglionares simpáticas, provenientes do gânglio cervical cranial – ou superior, nos primatas (KARASEK; HANSEN, 1982; LIMA et al., 2003; OLIVEIRA, 1998; SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995; VOLLRATH, 1981). Entretanto, Arendt (1995) sugeriu que, além de fibras nervosas simpáticas, há inervação diretamente do sistema nervoso central. Segundo o autor, a presença de neuro-transmissores na glândula comprova tal afirmação.

Em contrapartida, Junqueira e Carneiro (1999) afirmaram que não há participação de fibras nervosas funcionais do cérebro, na inervação da glândula pineal; e que, além das fibras simpáticas pós-ganglionares, em primatas admite-se a presença também de fibras parassimpáticas.

Dellman (1982) citou que o significado funcional do suprimento nervoso simpático advém do fato de que tais fibras transmitem impulsos nervosos oriundos de estímulos luminosos para a pineal, controlando a atividade secretora dos pinealócitos.

De acordo com Vigh e Vigh-Teichmann (1988, 1989) a glândula pineal de mamíferos recebe fibras nervosas viscerotoras e vasomotoras, oriundas das meninges que a revestem.

Trautman e Fieberg (1942) citaram que, pelo pedúnculo da pineal, penetram fibras nervosas no seu interior, as quais se distribuem por todo o órgão.

Segundo Junqueira e Carneiro (1999), ao penetrarem na glândula, estas fibras perdem a bainha de mielina; assim, os axônios amielínicos terminam entre os pinealócitos, apresentando pequenas vesículas contendo noradrenalina.

2.7 Irrigação da glândula pineal

No que tange ao suprimento sangüíneo, Reiter (1973) descreveu que, em humanos, a glândula pineal apresenta uma rede de capilares sangüíneos bem desenvolvida, sendo intensamente vascularizada. Segundo o autor, este órgão possui uma das maiores médias de fluxo sangüíneo por unidade de peso, sendo inferior apenas ao renal. Esta abundante vascularização também foi encontrada em cães (ELLSWORTH et al., 1985), búfalos (CARVALHO, 1997), capivaras (BRANCO et al., 1997), ratos e coelhos (SILVINO, 1999), serpentes (HOLANDA-BARROS, 2002), humanos (LIMA et al., 2003) e gambás (MAÇANARES, 2004).

De acordo com Venzke (1986), o principal suprimento sangüíneo para a pineal, em cães, advém da artéria cerebral profunda, uma tributária da comunicante rostral; sua extremidade distal se bifurca constituindo a rede pineal. A drenagem venosa se dá no sistema ventral de seios da dura-máter e, segundo Didio (2002), daí segue para a veia magna do cérebro.

Entretanto, Trautman e Fieberg (1942) descreveram uma pobre irrigação na glândula pineal de bovinos.

Dellman (1982) afirmou que todos os vasos sangüíneos intrapineais estão localizados entre o tecido conjuntivo, e são predominantemente cercados pelos processos dos astrócitos presentes na glândula.

Segundo Lesson e Lesson (1977), não há barreira hemato-encefálica na glândula pineal, e os capilares são delgados, do tipo fenestrado.

2.8 Considerações gerais sobre aspectos histológicos da glândula pineal

Ao contrário dos aspectos morfométricos, os quais são altamente dependentes da espécie abordada, as características microscópicas da glândula pineal obedecem, tanto nos eqüinos (COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b; PÉVET, 1979) quanto na maioria de outros mamíferos (CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; GOMES, 2003; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN 1982; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1992, 1999; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992), a um padrão com pequenas variações.

Segundo Dellman e Brown (1982), a glândula pineal dos mamíferos mostra-se como um órgão sólido, parenquimatoso ou folicular, circundado por uma delgada camada de tecido conjuntivo frouxo.

Esta é derivada das meninges encefálicas (aracnóide e pia-máter), e forma projeções denominadas septos, que divide o órgão internamente em lóbulos (BANKS, 1992; BARGMANN, 1943; CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b; GOMES, 2003; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN 1982; PÉVET, 1979; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1992, 1999; TRAUTMAN; FIEBERG, 1942; VENZKE, 1986; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992).

Segundo Trautman e Fieberg (1942), estes septos formam uma rede no interior do órgão, incompleta no centro, cujas características variam conforme a espécie e idade do animal. Acompanhando esta rede há células gliais e grupamentos de células pineais. Relataram que estas células possuem núcleos claros e volumosos, com inclusões homogêneas em forma de gotas, as quais são direcionadas para a periferia e alcançam, posteriormente, o citoplasma.

No que diz respeito aos constituintes celulares, e em contraste com o conceito de que a glândula pineal seja somente um órgão exclusivamente glandular ou ainda, para alguns, uma estrutura vestigial decorrente do processo evolutivo, muitos pesquisadores a consideram como um tecido nervoso complexo, não somente pelo seu grau de especialização, mas também pela sua intrigada composição histológica.

Junqueira e Carneiro (1999) comentaram que, na pineal humana, predominam dois tipos celulares: os pinealócitos e os astrócitos. Os primeiros apresentam-se com citoplasma claro e grandes núcleos esféricos e constituem 95% das células da pineal. Entre eles observam-se núcleos alongados e fortemente corados, os quais pertencem aos astrócitos.

Em mamíferos este órgão apresenta-se densamente celularizado, compreendendo a presença de pinealócitos e células da glia como sendo seus constituintes predominantes, além de fibras e terminações nervosas (com vesículas granulares e agranulares), bem como diversas organelas (BARGMAN, 1943; CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; GOMES, 2003; HUMBERT; PÉVET, 1991; KARASEK; HANSEN, 1982; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1992, 1999; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992).

De acordo com Dellman e Brown (1982), os astrócitos circundam os pinealócitos e mantêm contato com a lâmina perivascular, impedindo, assim, que os pinealócitos tenham contato direto com tecido vascular.

Entretanto, há alguma discordância acerca da nomenclatura das categorias de células que compõem o parênquima da glândula pineal de mamíferos.

Trautman e Fieberg (1942) citaram que a glândula pineal de mamíferos é composta por pinealócitos e astrócitos; estes, também denominados células intersticiais, células escuras ou da glia (CALVO et al., 1988; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN, 1982; PÉVET, 1977; REITER, 1973, 1984; VIGH;

VIGH-TEICHMANN, 1992), constituem a segunda maior população da glândula e situam-se perivascularmente. Segundo estes autores, fibroblastos, plasmócitos, mastócitos e macrófagos também foram encontrados.

Paralelamente, Kappers et al. (1960) sugeriram que a pineal é constituída por três tipos celulares: células neurogliais (ou células da glia), células parenquimatosas e células espalhadas (*sic*), referindo-se a estas como sendo células ganglionares não funcionais.

Segundo Pévet (1977), as células mais abundantes no parênquima da pineal de mamíferos foram os pinealócitos, também chamados pinealócitos do tipo I, pinealócitos claros, pinealócitos limpos, células parenquimais ou células principais (claras ou escuras), cujo citoplasma é caracterizado pela presença de vesículas granulares. Em ratos o autor identificou, morfológicamente, dois tipos de pinealócitos (claros e escuros), os quais parecem representar diferentes tipos funcionais (ARSTILA, 1967). Entretanto, Karasek (1971) interpretou este fato como sendo o resultado de diferentes estágios funcionais de um mesmo tipo de célula. Sugeriu, assim, a existência de um processo secretório em todos os pinealócitos, e a unificação fisiológica desta categoria celular.

Além das estruturas já mencionadas, Machado (1965) identificou as chamadas “fitas sinápticas”. Estas localizam-se no citoplasma dos pinealócitos, geralmente próximo ou em íntima relação com a membrana celular. Consistem em um bastão eletrodenso, rodeado por vesículas agranulares e foram observadas, pela primeira, vez em anfíbios. Posteriormente foram descritas também em células fotorreceptoras da pineal de outros vertebrados, bem como em órgãos sensoriais de mamíferos, tais como vestibulo-coclear e retina.

Segundo Dellman (1982), à microscopia eletrônica estas estruturas apresentaram-se como lamelas densas, dispostas de forma paralela, associadas a vesículas semelhantes às sinápticas. O autor salienta a importância das mesmas para a elucidação da(s) função(ões) dos pinealócitos.

Concreções calcáreas, formadas por cristais de hidroxiapatita (ou por concreções de fosfato e carbonato de cálcio, segundo JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999), cuja origem parece ser glial ou do estroma, podem ser encontradas na glândula pineal de alguns mamíferos (CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; GOMES, 2003; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN 1982; LIMA et al., 2003; OLIVEIRA, 1998; PÉVET, 1979; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1992, 1999; TRAUTMAN; FIEBERG, 1942; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992).

No que se refere aos pigmentos presentes na glândula pineal, Quay et al. (1968) identificaram, em mamíferos, três tipos: melanina, lipofuccina e hemossiderina.

2.9 Aspectos histológicos da glândula pineal em eqüinos

A microscopia de luz foi muito utilizada para estudo da organização geral, morfologia e localização de células na glândula pineal de eqüinos, além da relação desta com outras estruturas cerebrais (BLIN; MAURIN, 1956; CUTORE, 1910; DEL RIO-HORTEGA, 1922; FASSBENDER, 1962; GERLACH, 1917; GODINA, 1938; HÜLSEMAN, 1967; LANZ, 1941; LASZLO, 1934, 1935; MIKAMI, 1951; UEMURA, 1917). Entretanto, no que diz respeito às pesquisas sobre ultra-estrutura deste órgão, escassos são os conhecimentos (COZZI; FERRANDI, 1984b).

No parênquima da glândula pineal de eqüinos é possível distinguir dois tipos principais de células: pinealócitos e células intersticiais. As primeiras estão distribuídas difusamente por todo o órgão, enquanto as últimas são, em geral, encontradas próximas aos vasos (COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; PÉVET, 1979).

Além disso, este órgão apresentou-se isotrópico, septado e com pigmentos, estes mais comumente presentes ao longo do curso dos vasos sanguíneos, sendo que alguns se agrupam constituindo um pigmento maior (COZZI; FERRANDI, 1984b).

Trabalhos clássicos sobre microscopia da glândula pineal eqüina são aqueles conduzidos por Cozzi e colaboradores. Em 1986 observaram, neste órgão, uma lobulação pronunciada. O parênquima é composto principalmente por dois tipos de pinealócitos, claros e escuros, com diferentes graus de eletrondensidade no núcleo e citoplasma. Em ambos os tipos os núcleos são ovais ou redondos, e raramente lobulados. O nucléolo está freqüentemente localizado junto à borda do núcleo, cuja cromatina é dispersa, com discreta agregação próxima à membrana nuclear e ao nucléolo. Sugeriram que materiais secretados pela célula sejam depositados em vesículas do complexo de Golgi; e que o citoplasma dos pinealócitos é geralmente reduzido a uma estreita faixa ao redor do núcleo, e a maioria destas células emite um (ou dois) prolongamento(s) ou processo(s) citoplasmático(s), de formato largo e curto, como um cone, o qual se estreita gradualmente. Estas extensões geralmente chegam muito próximas a outros pinealócitos e os envolvem, sem, contudo, estabelecerem contato direto e/ou sinapses; entretanto, máculas podem ser vistas entre as extensões de uma célula e o citoplasma de outra, vizinha. Mitocôndrias ovais ou alongadas, bem como microfilamentos aparecem distribuídos no citoplasma dos pinealócitos; aquelas alongadas são em menor quantidade, menores e mais eletrondensas que as ovais, mas ambas podem ser encontradas na mesma célula.

Além destas organelas, ribossomos livres, corpos lamelares canaliculados e retículo endoplasmático liso (REL) também estão presentes no citoplasma destas células. Retículo endoplasmático rugoso (RER) pode ser encontrado, em geral, próximo a pigmentos granulares. Um bem desenvolvido complexo de Golgi é evidente, especialmente nas células cujo citoplasma é mais desenvolvido.

No que diz respeito aos corpos eletrondensos citoplasmáticos, Cozzi (1986) observou a presença de alguns muito grandes (superiores a 600 nm de diâmetro) e densos, semelhantes a pigmentos granulares ou de lipofuccina; outros apresentaram uma estrutura lamelar, típica dos grânulos de melanina. Um terceiro tipo foi identificado envolvendo uma gota eletro-lucente.

Em relação às células intersticiais este autor cita que usualmente estas se localizam próximas aos espaços perivasculares, e geralmente não invadem as áreas parenquimais. Suas características morfológicas e imuno-histoquímicas sugerem que possam ser classificadas como astrócitos. O núcleo é oval, menor e mais eletrondenso que o de pinealócitos. A cromatina é menos dispersa e forma uma borda definida ao longo da membrana nuclear. O nucléolo, raramente é visível. O citoplasma geralmente também é mais eletrondenso que o de pinealócitos, devido à presença de grânulos de glicogênio. Dendritos, quando existentes, podem algumas vezes dificultar a identificação destas estruturas no parênquima. Entretanto, quando se trata de células intersticiais, estes grânulos apresentam mais microfilamentos do que os prolongamentos dos pinealócitos; além disso, podem agregar-se em feixes.

Quanto aos tipos de pinealócitos, e de acordo com a literatura consultada, há controvérsias sobre a existência de mais de uma população de pinealócitos, inclusive em trabalhos conduzidos por um mesmo grupo de pesquisadores. Cozzi e Ferrandi, em estudo realizado no ano de 1984(a) consideraram, de acordo com o aspecto do núcleo, dois tipos de pinealócitos, morfológica mas não histoquimicamente distintos: os da população I, cujos núcleos são maiores, claros e com cromatina nuclear dispersa; e os da população II, com núcleos menores, escuros e cromatina firmemente condensada. Porém, em ambos os tipos o citoplasma é escasso, e os limites celulares bem definidos devido aos longos processos citoplasmáticos.

Posteriormente, em 1986, embora Cozzi tenha novamente identificado pinealócitos claros e escuros, não mais afirmou que na glândula pineal de eqüinos haja uma ou mais populações destas células. Muitas delas mostraram núcleo e citoplasma relativamente claros, enquanto outras eram consideravelmente eletrondensas. Ambos tipos de pinealócitos estavam homogeneamente distribuídos por toda a glândula. Entretanto, de acordo com o pesquisador, e excetuando-se os diferentes graus de eletrondensidade entre os pinealócitos, nenhuma outra diferença que suporte a hipótese de mais de uma população foi encontrada. Desta vez o autor atribuiu as diferenças de eletrondensidade entre as células, às técnicas de fixação utilizadas.

Pévet et al. (1977), por sua vez, sugeriram que até mesmo as células da glia podem corresponder a uma destas populações de pinealócitos.

Embora Cozzi (1986) não tenha identificado sinapses ou outra forma de contato direto entre os prolongamentos e/ou citoplasmas de pinealócitos vizinhos, o autor atribuiu esta ausência ao fato dos animais trabalhados terem sido abatidos durante o dia, visto que em outros mamíferos a presença destas estruturas obedeceu a um ritmo circadiano bem definido, com maior ocorrência durante a noite (MARINEZ SORIANO et al., 1984). Contrariamente, Vollrath (1981) afirmou que muitos mamíferos não as possuem.

2.10 Aspectos histológicos da glândula pineal em outras espécies

Em gambás, Jordan (1911) observou que a glândula pineal é composta por células densamente organizadas, dispostas na parte central do órgão; e por uma camada externa, formada por estas mesmas células, porém dispostas em folículos. Paralelamente Machado (1965) afirmou que, nesta espécie, o órgão é rico em células da glia e endimárias

modificadas, as quais não caracterizam pinealócitos típicos. Foram identificados também cílios sensoriais e hastes, o que, segundo o autor, sugere que os pinealócitos estejam filogeneticamente relacionados às células fotorreceptoras nos órgãos pineais de vertebrados inferiores.

Já McNulty e Hazlett (1980) identificaram, na glândula pineal desses animais, dois tipos celulares predominantes. Os pinealócitos, caracterizados pela abundância de RER e de complexo de Golgi, com várias vesículas claras e escuras; e as células da glia, por estes classificadas como astrócitos fibrosos. Relataram, ainda, a presença de outras células, algumas semelhantes a neurônios e outras densamente coradas, mas sem identificação precisa. Além destas, foram também observados cílios sensoriais que, segundo os autores, indicam que os pinealócitos, nesta espécie, estão filogeneticamente relacionados às células fotorreceptoras encontradas nos órgãos pineais de vertebrados inferiores.

Em recente trabalho, Mançanares (2004) verificou que a glândula pineal de gambás não apresenta cápsula de tecido conjuntivo evidente e, conseqüentemente, não há divisão distinta da glândula em lóbulos, como em outros mamíferos. Ao contrário, verificou-se delgada camada de mesotélio envolvendo fina rede de fibras colágenas, as quais se encontravam em contato com o parênquima da pineal.

No parênquima glandular a autora identificou a presença de células, por ela classificadas como pinealócitos. Estes possuíam citoplasma reduzido, núcleos grandes e arredondados, com cromatina bem individualizada e, na maioria das vezes, mais de dois nucléolos. Além destes elementos, foram também evidenciadas fibras nervosas, principalmente mielínicas.

Em glândulas pineais de humanos, Szymonowicz e Krauze (1935) relataram a presença de depósitos de carbonato e fosfato de cálcio e magnésio, caracterizando as

concreções calcáreas, as quais, segundo os autores, evidenciaram processos degenerativos do órgão.

Posteriormente, Bargmann (1943), Gartner e Hiatt (1994) e Junqueira e Carneiro (1999) a descreveram como um órgão envolvido por cápsula derivada da pia-máter, da qual partem septos que dividem o parênquima em lóbulos incompletos. Vasos sanguíneos penetram no parênquima por estes septos, e os principais componentes identificados foram, também, pinealócitos e células intersticiais (ou da glia). Os primeiros apresentaram núcleos esféricos, com único nucléolo proeminente e um ou dois longo(s) prolongamento(s) citoplasmático(s), cujas dilatações terminais se aproximavam de capilares ou outras células parenquimatosas. As características dos astrócitos foram as mesmas já descritas, acrescidas da observação de um bem desenvolvido RER.

Oliveira (1998) relatou, nesta espécie, a existência de duas regiões glandulares distintas: uma com predomínio de células e fibras conjuntivas, e outra com maior quantidade de células parenquimatosas.

Segundo Junqueira e Carneiro (1999) os pinealócitos perfazem 95% dos constituintes celulares da pineal humana, sendo o restante representado pelos astrócitos (ou células da glia). Os primeiros apresentam grandes núcleos esféricos e nucléolos evidentes. O citoplasma é claro e abundante, com prolongamentos cujas extremidades são dilatadas. Como organelas citoplasmáticas, os autores evidenciaram moderada quantidade de ribossomo, pouco RER, mas REL em abundância, além de numerosas vesículas de função desconhecida, bem como feixes de microtúbulos; estes últimos foram mais freqüentes nos prolongamentos dos pinealócitos. Os astrócitos, por sua vez, apresentaram núcleos alongados, fortemente corados, com prolongamentos semelhantes aos dos pinealócitos.

Assim como os já citados, também os pesquisadores Commentz et al. (1986) verificaram que os pinealócitos e as células da glia são os elementos mais abundantes na

pineal humana. Os primeiros, considerados pelos autores como neurônios altamente modificados, apresentaram-se dispostos em aglomerados e cordões. Seus núcleos são arredondados, e os nucléolos proeminentes. O citoplasma é granular e apresenta diversos prolongamentos, denominados processos citoplasmáticos; estes são muito ramificados, alguns dos quais terminando próximo aos capilares fenestrados de uma rica rede vascular. As células da glia foram classificadas como astrócitos, e encontram-se também associadas a capilares, espalhadas entre os aglomerados de pinealócitos.

De acordo com Lima et al. (2003), a glândula pineal humana é constituída essencialmente por células neuro-ectodérmicas, células da glia, elementos parenquimatosos diversos e concreções calcárias, estas mais freqüentes em indivíduos adultos.

A espécie doméstica que apresenta maior quantidade de pesquisa sobre a glândula pineal é a canina. Segundo Rao e Saigal (1971), a lobulação não é aparente, devido à falta de tecido conjuntivo, constituinte das trabéculas, apesar daquele aumentar com a idade.

Paralelamente, Gomes (2003) identificou uma bem definida cápsula de tecido conjuntivo revestindo o órgão, cujas características sugerem ser derivada da pia-máter; daquela partem septos e trabéculas que delimitam o parênquima glandular. Este, por sua vez, é também composto por endocrinócitos pineais (ou pinealócitos) e células da glia. Os primeiros, presentes em toda a glândula, concentram-se na base do órgão e, em alguns casos, se aglomeram em forma de ácinos ou cordões. Apresentam núcleos grandes, alguns claros e outros mais escuros. A cromatina é de aspecto granular, com nucléolo bem evidente. De acordo com o autor, pequenas regiões com manchas castanho-escuro foram identificadas, sugerindo ser pigmentos de melanina.

Quanto às células da neurógia (ou astrócitos), este autor observou que aquelas apresentaram-se em posição mais central, sugerindo ser células de sustentação. Seus núcleos são mais escuros que os dos pinealócitos, e a cromatina é condensada.

Este pesquisador citou, ainda, que pelo estroma glandular percorrem vasos e fibras simpáticas pós-ganglionares, e que em nenhuma das glândulas analisadas foram encontradas estruturas que caracterizassem concreções calcáreas.

Ellsworth et al. (1985) citaram que os pinealócitos de cães apresentam citoplasma claro, de formato não uniforme, com núcleo de tamanho variado e cromatina dispersa, esta última de aspecto granular em alguns casos. Um nucléolo, ou às vezes dois, fora(m) sempre identificado(s). Os evidentes prolongamentos citoplasmáticos dos pinealócitos, assim como os das células da glia, encontram-se próximos aos vasos sangüíneos. Estes autores observaram ainda alguns núcleos escuros, os quais foram identificados como de linfócitos ou de células da glia.

Calvo et al. (1988) relataram que a distribuição dos pinealócitos foi a mesma, em qualquer localização da glândula pineal, nesta espécie. Aqueles, com núcleo ovóide e pequeno, mostraram fina borda periférica de heterocromatina, assim como um ou dois nucléolos. No citoplasma foram identificados ribossomos livres, elementos densos identificados como lisossomos, grande quantidade de microtúbulos, e complexo de Golgi com várias vesículas associadas; porém, pouco RER bem desenvolvido. Os grânulos de pigmento encontrados nos pinealócitos foram aqueles característicos de melanina.

Ainda em cães, e além do que já foi relatado, Evans e Miller (1993) observaram que os pinealócitos são em maior número em relação às células de sustentação ou gliócitos. Ellsworth et al. (1985) verificaram ausência de lobulações na glândula pineal desses animais, mas identificaram grupamentos de pinealócitos formando estruturas bem definidas, semelhantes a ácinos, delimitadas por septos de tecido conjuntivo.

Em raposas, Karasek e Hansen (1982) verificaram que a glândula pineal é constituída por duas diferentes populações de pinealócitos, denominadas I e II, as quais formam o maior contingente celular do órgão. Astrócitos foram identificados como sendo o terceiro

componente quantitativo do parênquima glandular; de 2041 células identificadas em 10 animais, 56,01% foram pinealócitos do tipo I, 39,27% do tipo II e 4,72% astrócitos. Aqueles do tipo I estavam distribuídos homogeneamente pela pineal, enquanto os do tipo II predominaram nos espaços perivasculares. Nos primeiros, os núcleos situavam-se excentricamente e eram ovais ou redondos. A cromatina era muito dispersa, mas em algumas células pequenos agregados estavam presentes. Um ou dois nucléolo(s) proeminente(s) foi(ram) identificado(s), e pregas da membrana nuclear foram raras; vesículas eletrondensas, provavelmente originadas no complexo de Golgi, estavam presentes. Já nos pinealócitos do tipo II, os núcleos eram uniformemente ovais, com numerosas agregações de cromatina densa. Depósitos de glicogênio e pigmentos granulares também foram identificados e, segundo os autores, estes últimos pareciam aumentar em decorrência da idade do animal. Complexo de Golgi, RER (o qual consiste de cisternas discretamente dilatadas), mitocôndrias, lisossomos, centríolos e cílios foram organelas presentes em ambas populações. Além dessas, numerosas fibras nervosas, presumivelmente adrenérgicas, foram observadas por todo o parênquima.

Os astrócitos encontrados nestes animais foram do tipo fibroso, com núcleo freqüentemente irregular e apresentando pregas na membrana. A maioria dos componentes citoplasmáticos eram numerosos filamentos presentes por todo o citoplasma. No parênquima, próximo aos capilares, muitos processos formavam uma camada de tecido glial. Terminações nervosas e poucos processos de pinealócitos também foram vistos nesta camada, e de forma descontínua. Algumas vezes os processos dos pinealócitos estavam situados juntos à membrana basal. A maioria das fibras e terminações nervosas continha pequenas vesículas claras (40-60 nm de diâmetro), ambas com pequenos (40-60 nm de diâmetro) e grandes (70-120 nm de diâmetro) grânulos. Adicionalmente, terminações nervosas que continham somente pequenas vesículas claras (40-70 nm de diâmetro) e grandes vesículas granulares (80-120 nm de diâmetro) também foram observadas por Karasek e Hansen (1982).

Ambas partes da glândula pineal de marta contêm pinealócitos, células da glia, feixes de axônios mielinícos e amielinícos, além de sinapses. O parênquima é separado tanto da pia-máter quanto do espaço perivascular por membrana basal. O citoplasma dos pinealócitos é caracterizado por abundância de ribossomos e mitocôndrias, e seus prolongamentos atravessam a membrana glial limitante para formarem um terminal neuro-hormonal, do tipo fíta, com sinapses em forma de bastão. As células nervosas são maiores e mais claras que os pinealócitos, além de conterem menos mitocôndrias, RER e complexo de Golgi. Os axônios presumivelmente originam-se de neurônios intra ou extra-pineais (*sic*) e acompanham as arteríolas do parênquima, formando sinapses com poucas vesículas granulares (VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992).

Os autores relataram também a existência de sinapses esféricas, tanto nos prolongamentos citoplasmáticos de pinealócitos quanto nas fibras nervosas. Estas foram localizadas no interior da glândula, bem como nos espaços perivasculares; quando presentes nestes últimos, apresentaram terminações nervosas nas células musculares lisas da parede das arteríolas. Os prolongamentos citoplasmáticos dos pinealócitos, também chamados de processos dendríticos pelos pesquisadores, conectavam-se às células do parênquima, através de estruturas específicas (*cell-binding structures*) ou penetravam entre as células da glia, chegando até um vaso. Havia, também, sinapses axo-dendríticas nos ribossomos perivasculares.

Em cutias o órgão apresentou-se revestido por delgada cápsula conjuntiva, de espessura variável, com aglomerados de vasos sangüíneos dispostos perifericamente. No parênquima, de aspecto homogêneo, houve predomínio de pinealócitos com citoplasma claro e núcleos irregulares, além de células da glia, fibras nervosas e escassos vasos sangüíneos. O tecido conjuntivo era parco e proporcional à idade (SILVINO, 1992).

De acordo com esta autora, a glândula pineal da cutia é desprovida de lúmen ou de cavidade na região da haste, ao contrário do que se observa em outros roedores.

Carvalho (1997), analisando a glândula pineal de búfalos, relatou a presença de uma cápsula semelhante a já descrita para outras espécies de mamíferos, inclusive com seus septos e trabéculas, embora estas sejam menos perceptíveis nos animais adultos, quando comparados aos jovens. Nesta espécie a autora citou que os lóbulos são distintos e bem perceptíveis, preenchidos, predominantemente, por pinealócitos e células da glia. Paralelamente, Rao e Saigal (1971) relataram que em bovinos a lobulação não é aparente, devido à falta de tecido conjuntivo que constitui as trabéculas, embora este aumente com a idade. Já Trautman e Fieberg (1942) identificaram fibras musculares lisas e estriadas, em proporções iguais, no parênquima glandular desta espécie.

Branco et al. (1997), em estudo realizado com pineais de capivaras, verificaram que o órgão é constituído principalmente por pinealócitos, os quais em menor aumento conferem à glândula um aspecto homogêneo e uniforme. Estes se agrupam formando cordões, concentrados em determinadas regiões do órgão e entremeados a vasos sanguíneos, tecido conjuntivo e células da glia; possuem citoplasma abundante e núcleos arredondados, com cromatina nuclear condensada.

Em ratos e coelhos Silvino (1999) observou que a pineal é igualmente revestida por projeções da pia-máter, esta formando uma cápsula que reveste o órgão e emite septos para seu interior. O parênquima é constituído essencialmente por pinealócitos com corpos celulares grandes e citoplasma claro. Seus núcleos são volumosos, arredondados ou ovóides, escuros, com cromatina densa ou frouxa, e apresentam um ou mais nucléolos definidos. A pesquisadora relatou, ainda, maior concentração de pinealócitos na região central do órgão, formando, em algumas áreas, cordões individualizados; na superfície, entretanto, estas células apresentam-se mais dispersas.

Quanto aos aspectos histológicos da glândula pineal de serpentes, Holanda-Barros (2002) relatou a presença de cápsula composta por epitélio pavimentoso simples e bastante vascularizada. Células claras, com citoplasma apresentando vesículas, e células mais escuras com núcleos grandes, arredondados, esféricos ou ovalados também foram identificadas; os nucléolos eram evidentes, e a cromatina frouxa. Estas células, classificadas como pinealócitos, dispuseram-se na região do ápice da glândula em forma de ácinos, sendo estes bem delimitados por uma bainha de conjuntivo. Concluiu o autor que a pineal dos viperídeos é semelhante à de mamíferos, no que diz respeito a seus componentes morfológicos e tipos celulares.

A glândula pineal de suínos, cuja morfologia é muito semelhante a de humanos, apresenta-se também revestida pela pia-máter, a qual emite projeções para o interior do órgão, formando os já mencionados septos de tecido conjuntivo. Assim como em outras espécies, os principais elementos celulares são os pinealócitos e células da glia, mas a distribuição é heterogênea, sendo observadas regiões centrais ricas nestes elementos, mas escassas em tecido conjuntivo; por outro lado, foram verificadas regiões periféricas com poucos pinealócitos e células da glia, e predomínio de fibras colágenas, tecido conjuntivo fibroso e concreções calcárias. Os pinealócitos apresentam um (ou mais) núcleo(s) oval(is) ou lobulado(s) e prolongamentos tortuosos, estes terminando em botões próximos aos capilares ou, menos freqüentemente, junto às células endoteliais do recesso pineal. Tais botões contêm RER, mitocôndrias e vesículas eletrondensas, as quais secretam monoaminas e hormônios polipeptídicos sob inervação simpática (LIMA et al., 2003). Segundo o autor, resíduos deste processo, após exocitados, desencadeiam deposição concêntrica de precipitados de cálcio formando, deste modo, as concreções calcárias.

2.11 Considerações gerais sobre concreções calcáreas

Além dos elementos até aqui abordados, presentes na glândula pineal de eqüinos e de outros mamíferos, as concreções calcáreas merecem destaque.

Identificadas à microscopia, estas se localizam no parênquima da glândula (GARTNER; HIATT, 1994) ou fora dela (VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992), como por exemplo nas meninges que a recobrem. Entretanto, sua localização varia em função da espécie abordada.

Denominadas corpos arenosos, areia cerebral, *córpora arenácea*, *acervuli cerebri* ou simplesmente *acervuli* (CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; HUMBERT; PÉVET, 1995; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; KARASEK; HANSEN 1982; LIMA et al., 2003; OLIVEIRA, 1998; PÉVET, 1979; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1992, 1999; TRAUTMAN; FIEBERG, 1942; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992).

De acordo com Cippola Neto (1996), a produção de melatonina pela glândula pineal está subordinada à presença de cálcio. Assim, propôs o autor que o surgimento de concreções calcárias na glândula pineal se deve à possibilidade destas funcionarem como um estoque dinâmico de cálcio e, conseqüentemente, interferirem na síntese de melatonina e na fisiologia glandulares.

2.12 Gênese das concreções calcáreas

A literatura consultada traz várias teorias para explicar a formação das concreções calcáreas.

Segundo Wuthier (1982), há duas linhas de pensamento sobre o processo de mineralização: a conjuntiva e a celular. A primeira preconiza que a calcificação inicia-se em núcleos heterogêneos de colágeno, isoladamente ou em combinação com várias proteínas com as quais este se associa. A outra indica que o processo seja mediado diretamente por células, nas quais as mitocôndrias e vesículas matriciais serviriam como sítios para o processo de calcificação.

Kappers (1971) atribuiu a gênese das concreções calcárias de mamíferos aos elementos mesodérmicos derivados da pia-máter ou do epêndima, ou seja, estruturas parenquimatosas e neuro-ectodérmicas, presentes na glândula.

De acordo com Lukaszyk e Reiter (1975), a origem das concreções calcáreas é intracelular, decorrente de processos secretórios presentes no interior da célula. Após a morte desta, as concreções alcançariam o espaço extracelular.

Lima et al. (2003) sugeriram que as concreções formam-se a partir da deposição de moléculas de cálcio sobre fragmentos de membranas vesiculares (elementos celulares e fibras conjuntivas) exocitados, resultantes dos processos secretórios de monoaminas e hormônios polipeptídicos que ocorrem nos prolongamentos citoplasmáticos dos pinealócitos. Segundo o autor, a localização mais superficial das concreções identificadas na glândula pineal de suínos pode estar relacionada à maior proximidade da pia-máter, reforçando a hipótese do envolvimento de tecido conjuntivo neste processo.

Para Reiter (1973), a formação destas concreções parece estar também relacionada à exocitose presente no processo de secreção da glândula. No entanto, o autor assinalou que a calcificação inicia-se em fragmentos de proteínas transportadoras dos hormônios produzidos pela pineal, denominadas pinealofisinas.

Já Vigh e Vigh-Teichmann (1992) acreditam que células com grandes quantidades de depósitos calcários, próximas às concreções, localizadas no citoplasma ou núcleo, após degenerarem contribuem para a formação destas.

De acordo com Bocchi e Valdre (1993), a biomineralização lamelar é universalmente observada na natureza, e ocorre por deposições episódicas sobre uma matriz polimérica extracelular. Assim, no caso das concreções calcáreas, propuseram que este processo é engendrado por distrofia celular e restos de membranas, os quais servem como base para cristalização; e que, nestes casos, a matriz é freqüentemente fibras colágenas, servindo como faces hidrofóbicas nas quais proteínas ácidas são agregadas. Conforme relatado por Mann (1993), a mineralização ocorre na interface entre proteínas ácidas e o meio aquoso; e a deposição seqüencial de matéria orgânica e inorgânica cria a aparência de bandas lamelares crescentes, claras e escuras.

Alguns autores afirmam que a concreção não é uma estrutura estática. Ao contrário, apresenta-se metabolicamente ativa, havendo a formação em vários estágios e tamanhos, desde os menores até os maiores, em função da agregação de lamelas em uma unidade funcional, e destas em um maciço em forma de mórula (BINKLEY, 1988; HUMBERT; PÉVET, 1995; OLIVEIRA, 1998; PÉVET, 1979; SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995).

Neste sentido, Schmid e Raykhtsaum (1995) verificaram, em pineais humanas, que a crescente agregação de unidades calcificadas determinaram uma seqüência evolutiva na formação das concreções calcáreas, começando pelas esféricas e chegando até a forma de amora. Sugeriram, por isso, que a matriz conjuntiva sirva como estrutura precipitadora

presente em uma região com alto metabolismo de cálcio, este relacionado com a produção de melatonina.

Humbert e Pévet (1995) acreditam que materiais resultantes da degeneração celular e produtos secretórios proteináceos possam desencadear a formação de concreções. Defendem, ainda, a hipótese de que mitocôndrias e retículo endoplasmático sirvam como sítios reguladores de cálcio, devido às altas concentrações deste, e de fósforo, presentes nas mitocôndrias durante o processo de mineralização. Walz (1992) considerou a possibilidade de ser esta, a primeira fase na formação da hidroxiapatita.

A presença de concreções calcáreas em ratos idosos foi reportada por Vigh et al. (1989), e parece estar realmente relacionada ao teor de cálcio da glândula pineal. Segundo Humbert e Pévet (1991), este fato é entendido como sendo um possível sinal da existência de processo(s) degenerativo(s) celular(es), e/ou idade avançada dos animais em questão.

Pelo fato das concreções apresentarem estrutura e composição semelhantes aos ossos e dentes (ANGERVALL, 1958; BINKLEY, 1988), o primeiro autor sugeriu que aquelas estejam subordinadas aos mecanismos hormonais reguladores do metabolismo de cálcio, tal como ocorre nestes tecidos.

Paralelamente, Commentz et al. (1986), assim como Bojkowski e Arendt (1990), afirmaram que estas estruturas independem das concentrações de melatonina, pelo menos em humanos (REITER, 1991; REITER et al., 1980) e roedores (HUMBERT; PÉVET, 1991; JAPHA et al., 1976; LUKASZYK; REITER, 1975).

2.13 Composição das concreções calcáreas

Conforme descrito por Earle (1965), as concreções calcárias são formadas por agregações de pequenos cristais em forma de agulha, e a constituição destes obedece aos padrões identificados em moléculas de hidroxiapatita. Conclui o autor que esta substância seja o principal componente presente nestas estruturas.

Reiter (1973) verificou que as concreções calcáreas se formam sobre uma matriz orgânica, na qual são depositadas moléculas de fosfatos de cálcio e carbonatos diversos. Posteriormente Binkley (1988) verificou que nas concreções calcáreas da pineal de humanos foram encontradas, além de moléculas de hidroxiapatita, outros elementos tais como magnésio e estrôncio. Já Humbert e Pévet (1995) afirmaram que as concreções calcáreas apresentam, além de cálcio, fósforo e hidroxiapatita, também moléculas de enxofre, ferro, silício, cloro, potássio, cobre e zinco.

Em trabalho mais recente, Junqueira e Carneiro (1999) observaram que, em humanos, as concreções calcáreas eram compostas por fosfato e carbonato de cálcio.

2.14 Tipos de concreções calcáreas

De acordo com Humbert e Pévet (1995), dois tipos de concreções foram identificados nas pineais de ratos. O primeiro, localizado no citoplasma, parece ser constituído de camadas concêntricas de cristais em forma de agulhas, radialmente arranjadas, com comprimento médio de 30-40 nm, e diâmetro de 4-5 nm. Vigh e Vigh-Teichmann (1992) citaram que

grande quantidade destes cristais foi observada na superfície e nas camadas que formam as concreções.

O segundo tipo consiste também de camadas concêntricas, porém em formato esferóide, e geralmente situadas na parte externa ou no espaço perivascular da glândula; quando unidas, assemelham-se a uma amora, e seu tamanho varia entre 0,5 a 15 μm (HUMBERT; PÉVET, 1995).

Quanto à apresentação das concreções calcáreas em mamíferos, aquelas na forma de anéis completos são raras, sendo as mais comuns lamelas depositadas de forma crescente e seqüencial, as quais têm suas camadas aumentadas com a idade. Este fato acarreta aumento das ondulações, estreitamento das camadas e, com o tempo, torna a estrutura randomicamente irregular. Posteriormente, as lamelas concêntricas se dispõem em “zig-zag” (SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995).

Várias formas de concreções calcáreas, que provavelmente representem estágios sucessivos de calcificação, pela deposição de material, sugerem uma ordem progressiva em sua formação: primeiro uma estrutura lisa, de forma arredondada (ou globular), com quantidade mínima de estratificação e formação ativa de cristais; depois, uma também arredondada (ou globular), mas em forma de rosário, e ambas medindo entre 30 e 100 μm . Em seguida ocorre o crescimento, por aposição, de rosários satélites na superfície da estrutura, caracterizando um terceiro estágio, com formato de mórula (ou framboesa), a qual evolui para um quarto – e último – estágio, na forma característica de amora ou uva (SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995).

De acordo com Mann (1993), a deposição seqüencial de matéria orgânica e inorgânica cria a aparência de bandas lamelares crescentes, claras e escuras. Lima et al. (2003), por sua vez, relataram que concreções calcáreas observadas em suínos apresentaram aspecto de mórula.

Em humanos, Binkley (1988) afirmou que as concreções calcáreas por ele encontradas eram semelhantes à amora, enquanto Reiter (1973) as identificou na forma de organização concêntrica, em ratos.

2.15 Funções das concreções calcáreas

Estas estruturas, presentes na glândula pineal de alguns mamíferos, têm significado ainda desconhecido (GARTNER; HIATT, 1994). Segundo Kitay e Altschule (1988) nenhuma relação entre a ocorrência de calcificação e estágios funcionais da glândula pineal humana foi, até então, estabelecida.

Reiter (1973) relatou que essas concreções parecem não interferir no funcionamento do órgão e, segundo Bocchi e Valdre (1993), as mesmas são um produto fisiológico e não patológico, decorrente do metabolismo glandular.

Junqueira e Carneiro (1999) também verificaram que as concreções calcáreas não comprometem o funcionamento da pineal humana, pois mesmo em idade avançada, quando o acúmulo de concreções é maior, a atividade da glândula foi normal, a julgar pelas substâncias ativas por ela secretadas, e enzimas nela presentes.

2.16 Concreções calcáreas e idade

Considerando que a biossíntese de melatonina decresce com o avanço da idade (OLIVEIRA, 1998; SKENE et al., 1990) e, ao contrário, o número de concreções aumenta, pelo menos em humanos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; REITER, 1991; REITER et al., 1980) e roedores (HUMBERT; PÉVET, 1991; JAPHA et al., 1976; LUKASZYK; REITER, 1975), Bojkowski e Arendt (1990), assim como Commentz et. al. (1986) postularam que a formação destas estruturas independe das concentrações séricas de melatonina.

Segundo Reiter (1973), essas concreções formam-se na primeira infância, e Binkley (1988) mencionou a existência destas já do primeiro ao terceiro ano de idade. De acordo com a literatura consultada, tais estruturas aumentam em tamanho e quantidade à medida que o indivíduo envelhece, podendo ocorrer até calcificação quase total da glândula, mas pesquisadores acreditam que estas não interferem no funcionamento do órgão (BINKLEY, 1988; DARAMOLA; OLORU, 1972; HUMBERT; PÉVET, 1991, 1995; JAPHA et al., 1976; LUKASZYK; REITER, 1975; OLIVEIRA, 1998; REITER, 1973, 1991; REITER et al., 1980; SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995; SKENE et al., 1990).

Entretanto, em estudos realizados por Junqueira e Carneiro (1999), somente os indivíduos adultos apresentaram concreções, e a ocorrência destas foi também maior em pessoas idosas.

2.17 Concreções calcáreas em eqüinos

Nesta espécie, a presença de concreções calcáreas é controversa, segundo a escassa literatura consultada.

Godina (1938), Fassbender (1962) e Laszlo (1934, 1935) não encontraram nenhuma delas naqueles animais por eles pesquisados. Entretanto, Legait et al. (1978), e Scharenberg e Liss (1965), as identificaram em perissodáctilos; e Cozzi (1986), as observou em eqüinos de várias idades, a partir dos 18 meses, o que confirma os achados de Cutore (1910), Del Rio-Hortega (1922), Legait et al. (1978) e Scharenberg e Liss (1965).

2.18 Concreções calcáreas em outras espécies

Em humanos, Binkley (1988) ressaltou a presença de muitas destas estruturas e, segundo Daramola e Oloru (1972), bem como Oliveira (1998), a ocorrência de concreções é diretamente proporcional à idade, e dependente somente deste fator. Este último autor observou que o corpo pineal apresenta formações calcáreas distribuídas no interior do tecido conjuntivo, com tamanhos e formas diferentes. As estruturas calcáreas apresentaram uma cápsula constituída por tecido conjuntivo, e no seu interior uma série de lamelas concêntricas, porosas e de aspecto amorfo.

Paralelamente, Szymonowicz e Krauze (1935) acreditam que estas concreções sejam resultantes de processos degenerativos da pineal. Entretanto, Bargmann (1943) propôs uma associação de ambos fatores, idade e eventos degenerativos da glândula pineal, como

desencadeadores da formação destas estruturas, em humanos. A mesma teoria é defendida por Humbert e Pévet (1991) no que diz respeito a ratos idosos. Para estes autores, o aparecimento destas estruturas, também relatado por Vigh et al. (1989) nesta espécie, parece estar relacionado ao conteúdo de cálcio, associado à idade e a processos de degeneração glandular.

Segundo Junqueira e Carneiro (1999), as concreções identificadas em pineais humanas apresentaram moléculas de fosfato e carbonato de cálcio, e estavam localizadas no material extracelular do tecido conjuntivo.

Em outros mamíferos a ocorrência destas estruturas, embora apresente consideráveis diferenças entre espécies e/ou entre indivíduos, tem sido freqüente e unânime entre os pesquisadores (QUAY et al., 1968; VOLLRATH, 1981).

Em martas elas ocorrem predominantemente na porção ventral do órgão e na aracnóide que a reveste. As da aracnóide são maiores que as intrapineais, sendo estas visíveis somente com o auxílio da microscopia eletrônica. Apresentam-se como precipitados de moléculas de cálcio nos estreitos espaços intracelulares, ao redor dos pinealócitos, neurônios, fibras nervosas e células da glia, mesmo em animais jovens, nos quais são raras. Há também grande quantidade dessas moléculas no citoplasma e/ou núcleo de células vizinhas às concreções, e quando isto ocorre, estas células parecem degenerar-se e contribuir para a formação destas estruturas. Depósitos intracelulares estão presentes em alguns pinealócitos escuros e em seus núcleos, nos animais idosos. A superfície e as camadas concêntricas destas estruturas possuem variado número de cristais em forma de agulha. Aglomerados destes aparecem freqüentemente no interior das células da glia e ao redor de vasos no interior da glândula pineal, e cristais em forma de agulhas localizam-se dentro ou ao redor das concreções calcáreas presentes na aracnóide que reveste a glândula pineal. As células vizinhas às concreções calcáreas contêm várias mitocôndrias, complexo de golgi e RER, e muitas das

concreções calcáreas meníngicas estão circundadas por fibras colágenas (VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992).

Em gerbil, o número de concreções aumenta de acordo com a posição social do animal e a sazonalidade (HEINZELLER, 1985); e apresentam localizações distintas tanto na pineal quanto nas células (JAPHA et al., 1976), mas com predominância na porção superficial da glândula. Estes últimos autores estudaram as concreções nesta espécie, e observaram similaridades entre o processo de calcificação desta, e aquele verificado na pineal da espécie humana, sugerindo que a primeira possa servir como modelo experimental para estudos sobre o assunto.

Embora não seja relatada a presença de concreções calcáreas em bovinos, Carvalho (1997) as identificou em glândulas pineais de búfalos. Nestes, elas se apresentaram em grande quantidade, situadas principalmente na região central da glândula.

Os suínos também apresentam concreções, estando estas principalmente nas porções periféricas da glândula (LIMA et al., 2003). De acordo com este autor, tal fato pode ser justificado devido à maior proximidade da glândula pineal com a pia-máter, reforçando a hipótese do envolvimento do tecido conjuntivo neste processo.

Também em gambás (MAÇANARES, 2004) e serpentes (HOLANDA-BARROS, 2002) foi observada a presença de estruturas semelhantes às concreções calcáreas descritas em mamíferos.

Em contrapartida, no que se refere aos cães, não há registro da existência de concreções calcáreas na pineal destes animais (ELLSWORTH et al., 1985; GOMES, 2003); o mesmo foi relatado para cutias, por Silvino (1992).

2.19 Processos secretórios da glândula pineal

Metabolicamente os pinealócitos parecem ser muito ativos, secretando principalmente duas substâncias hormonais, a melatonina e serotonina. Entretanto, elas não são produzidas simultaneamente. A primeira é sintetizada somente à noite, e vice-versa. O ritmo diurno que controla a secreção de serotonina parece ser gerado no hipotálamo, e está na dependência da duração dos estímulos luminosos que chegam aos olhos (HAM; CORMACK, 1983).

Histologicamente os pinealócitos apresentam características de células neuro-secretoras, não somente em vertebrados não mamíferos (LERNER, 1962; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992) como também nestes últimos (BANKS, 1992; BARGMANN, 1943; CALVO et al., 1988; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b; GOMES, 2003; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN 1982; REITER, 1973, 1984; TRAUTMANN; FIEBERG, 1942; VENZKE, 1986) e, segundo Pévet e Kuyper (1978), há diferentes categorias de células na glândula pineal de mamíferos, as quais tem sido objeto de vários estudos.

Em algumas espécies duas populações de pinealócitos tem sido observadas e, para cada uma, foi atribuído um processo secretório distinto. Um, caracterizado pela formação de pequenas vesículas granulares originadas nos sáculos do complexo de Golgi, caracterizadas por conteúdo moderadamente eletrondenso, indicativo de intensa atividade secretora de hormônio(s) antigonadotrópico(s) por parte dos pinealócitos; e o outro, pela formação de material nas cisternas do RER. Na opinião do autor este processo está envolvido na produção de princípios ativos da glândula pineal, os quais possuem efeito antigonadotrópico (COZZI, 1986; PÉVET, 1977).

Paralelamente, Cozzi (1986) observou que ambos processos secretórios parecem estar presentes na glândula pineal de alguns mamíferos, nos quais apenas uma população de pinealócitos tem sido descrita, tais como toupeiras, porcos-espinhos e ratos.

Dentre as duas populações até agora identificadas no parênquima da pineal de mamíferos (CALVO et al., 1988; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN, 1982; LIMA et al., 2003; PÉVET, 1977; PÉVET et al., 1976; ROMIJN, 1973; SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992; WELSER et al., 1968), a mais abundante são pinealócitos do tipo I, cujo citoplasma é caracterizado pela presença de vesículas granulares. Entretanto, há indícios de que, nesta categoria, exista ainda diferentes tipos celulares (PÉVET, 1977).

Confirmando esta descoberta, Arstila (1967) identificou dois tipos de pinealócitos na pineal de ratos; células claras e escuras, as quais representariam diferentes tipos funcionais de uma mesma categoria celular. Porém, Karasek (1971) interpretou este fato como sendo o resultado de diferentes estágios funcionais de um mesmo tipo de célula. Contudo, sugeriu que um processo secretório específico, caracterizado pela formação de vesículas granulares, seja comum a todos os pinealócitos, favorecendo a teoria da unificação fisiológica desta categoria celular.

Em pássaros, Quay et al. (1968) observaram que os pinealócitos do tipo I continham numerosas vesículas granulares, as quais correspondiam às células fotorreceptoras rudimentares, descritas por Collin et al. (1976). As do tipo II não eram nem endimárias nem células de sustentação, e apresentavam atividade secretória específica, caracterizada pelo acúmulo de material nas cisternas do RER. Assim, nesta espécie, uma população de pinealócitos produz vesículas granulares, enquanto outra acumula material proteináceo. Mas, segundo Quay et al. (1968), permanece a dúvida sobre a origem filogenética das células do tipo II, pois estes não observaram qualquer semelhança histológica entre vesículas granulares

(características das células tipo I) e vesículas menores, parecidas com as sinápticas (características das células tipo II).

Naquelas espécies nas quais somente uma população de pinealócitos tem sido descrita (toupeira, porco espinho e ratos), o questionamento deixado por Quay et al. (1968) é se todos os pinealócitos são capazes de produzir vesículas granulares tão bem quanto vacúolos contendo material floculento, ou se as populações são dissociadas (no tempo e no espaço) em duas sub-populações, as quais são fisiologicamente diferentes; uma produzindo vesículas granulares, e outra, vacúolos.

Em morcegos e coelhos, vesículas granulares não têm sido observadas em pinealócitos do tipo II ou em pinealócitos escuros e, segundo Pévet (1977), isso pode ser pelo fato de, nestas espécies, os pinealócitos do tipo I serem capazes, também, de produzir vacúolos, os quais são encontrados nos do tipo II.

Em toupeiras e morcegos, pinealócitos do tipo II são caracterizados pela peculiar atividade do RER, representada pelo acúmulo de material (em toupeiras) ou pela formação de vacúolos (contendo substância floculenta de moderada eletrondensidade, em morcegos) nas cisternas desta organela. Este fato caracteriza uma peculiar atividade secretória pelos pinealócitos do tipo II nestas duas espécies, representada por material produzido diretamente pelas cisternas do RER; entretanto, não se sabe se isto ocorre em outras espécies (PÉVET, 1977).

Naqueles animais em que duas populações de pinealócitos estão presentes, parece haver um processo secretório específico a cada uma delas. Entretanto, em outras espécies com apenas um tipo de população, ambos processos ocorrem (REITER; VAUGHAN, 1975). Assim, estes autores desconhecem se qualquer célula pode realizá-los, ou se possíveis diferenças funcionais entre elas acarretariam a existência de processos distintos para cada tipo de pinealócito; ou ainda, se forem relacionados, um composto, depois de secretado, poderia

controlar a síntese e/ou liberação do outro e/ou tornar órgão(s) alvo sensível(is) ou não à ação do primeiro.

Segundo estes autores tais questionamentos persistem, mas parece que a atividade da glândula pineal depende do estado fisiológico de outros órgãos (especificamente o hipotálamo), e que a melatonina, embora exerça pobre efeito sobre o sistema genital, estaria envolvida na regulação da síntese ou liberação dos princípios ativos produzidos pela glândula pineal.

2.20 Aspectos fisiológicos da glândula pineal

Inicialmente Galeno atribuiu à glândula pineal um papel linfático. Posteriormente esta idéia foi questionada, e por muito tempo acreditou-se que, em mamíferos, ela representava apenas um órgão vestigial, remanescente da evolução filogenética (HOLANDA-BARROS, 2002).

Gutte e Grutze (1977) propuseram que a pineal, em animais cuja abobada craniana é transparente, atua somente como órgão fotorreceptor, responsável pela adaptação da cor da pele ao meio ambiente.

Entretanto, em 1943, Bargmann sugeriu que, nos mamíferos, a pineal mudou sua função; de um órgão fotorreceptor, para excretor. Propôs o autor que as células fotossensoriais foram perdendo suas organelas e, concomitantemente, desenvolveram-se estruturas secretoras no interior dos pinealócitos dos mamíferos.

Mais tarde, após a descoberta da melatonina, um hormônio produzido pela glândula pineal, abriu-se vasto campo para pesquisas relacionadas à sua fisiologia (LERNER et al., 1958).

É sabido que a luz constitui um estímulo que inibe a formação desta substância, o que explica por que sua síntese é dependente do ritmo circadiano, e sua liberação ocorre durante as horas de ausência de luminosidade (COZZI, 1986; DIDIO, 2002; HAM; CORMACK, 1983; REITER, 1984), sob influência direta da serotonina (NORRIS; JONES, 1987). Em função disso é muito provável que, em virtude das concentrações séricas de tal hormônio, os animais sejam capazes de perceber a duração da noite e, por consequência, a do dia, pois, segundo Lotufo (2003), a principal função da melatonina é sincronizar os ritmos endógenos com o ciclo claro/escuro.

Esta característica determina, portanto, o papel funcional da glândula pineal que, através da intensidade de luz do meio externo, captada pela retina, sinaliza para o meio interno qual é a estação do ano e, assim, adequa o funcionamento do organismo à época vigente, regulando atividades endócrinas, metabólicas, reprodutivas, etc. (ARENDT, 1998; CIPPOLA NETO, 1996; HASTINGS; EBLING, 1992; KOLB, 1984; SATO et al., 1991). Diante disso, Banks (1992) sugeriu que a glândula pineal provavelmente desempenhe o papel de relógio biológico, ajustando os ciclos estrais e as características reprodutivas sazonais ao ritmo circadiano de cada espécie, a fim de que os filhotes nasçam na época de melhores condições para sua sobrevivência, bem como a de suas mães, visto que estas geralmente são essenciais para o desenvolvimento das crias de mamíferos.

É consenso que a melatonina desempenhe a função de transformar a informação fotoperiódica em sinal hormonal, pois implantes desta substância induziram animais a reconhecerem os dias como sendo curtos, o que provocou a inibição da atividade ovulatória mesmo em períodos de dias longos (ARENDT, 1998; GUILLAUME; PALMER, 1991).

Tais achados foram confirmados por Kolb (1984) ao verificar que a extirpação da glândula pineal antes da puberdade desencadeou, em determinadas espécies, maturação sexual precoce.

A melatonina exerce, então, ação inibitória sobre o desenvolvimento sexual prematuro, impedindo a secreção dos hormônios sexuais, e este processo é interrompido tão logo se estabeleça a maturidade sexual (NUSSHAG, 1967).

Para Tilden e Hutchinson (1993) a melatonina estaria envolvida, além do controle circadiano e reprodução, também no processo da termorregulação e na liberação de aldosterona pelo córtex da glândula adrenal. Paralelamente, Dellman (1982) identificou a existência da ação inibidora da melatonina sobre a glândula tireóide, mas questionou a atuação desta substância no córtex adrenal, visto que nenhum trabalho comprovara, até aquele momento, esta última ação.

Mançaneres (2004) sugeriu que a glândula pineal, pela ação deste hormônio, esteja envolvida na regulação das mais diversas funções vitais à sobrevivência, tais como regulação do ciclo sono-vigília, do sistema imunológico, cardiovascular, entre outras.

Em experimento realizado por Kappers (1962), o autor reiterou a ação da glândula pineal sobre as funções sexuais, pois pinealectomia em ratos causou hipertrofia gonadal, dilatação da vagina nos animais impúberes, prolongamento do estro, e encurtamento do diestro naqueles sexualmente maduros. Por outro lado, administração de extrato de glândula pineal provocou atrofia gonadal e diminuição da velocidade de dilatação vaginal. O referido autor postulou a existência de três vias de ação da glândula pineal: ação inibitória direta sobre as gônadas; inibição da secreção gonadotrófica pela hipófise, ou diminuição da sensibilidade gonadal às gonadotrofinas. De acordo com Junqueira e Carneiro (1999), a ação sobre as gônadas parece ser a mais provável.

Paralelamente, Reiter (1984) sugeriu que a melatonina regule o desenvolvimento e a atividade das gônadas atuando diretamente sobre elas, ou controlando a produção e/ou

liberação de gonadotrofinas hipofisárias, via hipotálamo. Esta teoria é também defendida por Kitay e Altschule (1954), os quais relataram casos clínicos em que a presença de tumores na pineal de crianças as levou a um desenvolvimento sexual precoce, mostrando assim um possível papel antigonadotrópico deste órgão.

Neste sentido, Machado (2002) relatou que há consenso, pelo menos no que diz respeito aos mamíferos, de que a glândula pineal desempenha uma atividade inibidora sobre as gônadas, e que em muitos vertebrados, e possivelmente no homem, ela participe da regulação dos ritmos circadianos.

No que diz respeito às espécies que apresentam sazonalidade reprodutiva, em particular os eqüinos, e considerando-se o exposto, é notório que o fotoperíodo desempenha um papel relevante na estacionalidade reprodutiva, e que o papel da glândula pineal neste processo é inquestionável (CHEMINEAU, 1993). E, segundo alguns pesquisadores, a via mais provável da ação deste órgão é a que considera a percepção dos impulsos luminosos iniciando-se na retina, sendo conduzida sob a forma de estímulos nervosos até o trato retino-hipotalâmico e chegando, posteriormente, aos núcleos supraquiasmático e paraventricular, ambos localizados no hipotálamo. A partir daí tais estímulos seguem para a região intermédio-lateral da medula espinhal e, pela via simpática pós-ganglionar, alcançam o gânglio cervical cranial. Finalmente são conduzidos pelos nervos coronários (ou conários) à glândula pineal. No interior desta, as fibras nervosas diferenciam-se em terminais axônicos, os quais liberam noradrenalina. Esta, por sua vez, atua nos receptores de membrana das células da glândula, modulando seu funcionamento (ARENDT, 1998; CIPPOLA NETO, 1996; CIPPOLA NETO; AFECHÉ, 1992; EBLING; HASTINGS, 1992). Segundo Vigh e Vigh-Teichmann (1992), o caráter endócrino dos pinealócitos pode ser citologicamente justificado pela presença de vesículas em seus terminais axônicos neuro-hormonais.

Upton et al. (1976) afirmaram que estas vesículas granulares contêm um componente antigonadotrópico. Corroborando com esta hipótese, Sheridan e Reiter (1968), após estimulação da atividade antigonadotrópica da glândula pineal, experimentalmente provocada, observaram aumento do número de vesículas granulares nos pinealócitos de hamster. Após enucleação dos olhos, procedimento o qual é sabido estimular a função da glândula pineal, resultados similares foram descritos em camundongo por Benson e Satterfield (1975). Ao contrário, sob iluminação constante, a qual provocou inibição da atividade da glândula pineal, Upton et al. (1976) observaram que, em camundongos, houve decréscimo do número destas vesículas.

Embora não seja ainda possível comprovar que estas substâncias antigonadotrópicas sejam produzidas pelos pinealócitos, pode ser aferido, com precisão, que há participação da glândula pineal na síntese destas (PÉVET, 1977), visto que o órgão, em mamíferos, apresenta muitas características histológicas que lhe sugerem uma função endócrina ativa.

De acordo com Reiter (1984), a pineal comunica-se, com o hipotálamo, pela(s) via(s) neural e/ou humoral.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Seleção dos animais

Foram utilizadas, neste experimento, 24 (vinte e quatro) éguas, distribuídas em dois grupos. Um deles correspondeu ao período sazonal reprodutivo (estação de monta) e, o outro, ao de anestro fisiológico.

Os animais foram trabalhados no Frigorífico Belo Vale Ltda, localizado no município de Campo Belo (Minas Gerais), tendo sido selecionados por exame ginecológico via palpação retal, o qual compreendeu avaliação e classificação do sistema genital, segundo protocolo estabelecido por Ginther (1979), Koskinen et al. (1989), e Rossdale e Ricketts (1979), objetivando-se estimar a fase reprodutiva de cada um deles.

Todos os animais selecionados para compor a amostra foram identificados e, a seguir, avaliados quanto à idade, pelo desgaste da face oclusal dos dentes incisivos inferiores, segundo Machado (1992) e Torres e Jardim (1987). De acordo com este critério as éguas foram distribuídas, para cada uma das fases, em dois grupos: **GI** (de 3 a 8 anos) e **GII** (de 15 a 20 anos), denominados, respectivamente, de animais **jovens** e **idosos**, cada um com 6 (seis) animais. Visando melhor caracterizar a amostra, para cada um dos animais foi mensurada a altura, até a cernelha, utilizando-se bengala modelo Lydthin, e avaliado o peso (Fotografia 1) em balança eletromecânica agropecuária (marca Coimma[®]), com capacidade para 1.500 quilos (kg).

Das 6 (seis) éguas de cada grupo, 4 (quatro) tiveram amostra de sangue colhida para dosagens hormonais e a glândula pineal destinada às análises histológicas. Dos animais restantes, denominados MIA^{1ª} e MIB^{1ª} (jovens/1ª FASE); MIIA^{1ª} e MIIB^{1ª} (idosos/1ª FASE); MIA^{2ª} e MIB^{2ª} (jovens/2ª FASE) e MIIA^{2ª} e MIIB^{2ª} (idosos/2ª FASE), retirou-se o encéfalo e a glândula pineal, para avaliações macroscópicas e morfométricas.

Fotografia 1 – Pesagem de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

3.2 Comprovação da fase reprodutiva

Com vistas às informações que tiveram por finalidade a comprovação da fase reprodutiva das éguas previamente selecionadas, imediatamente após o abate foram colhidas amostras de sangue de cada uma delas, para dosagem sorológica de hormônios (estrógeno, progesterona e melatonina).

Em seguida foram isolados a cabeça e o sistema genital desses animais e, após rebatida a musculatura, realizou-se abertura da cavidade craniana para retirada dos encéfalos.

Em relação ao sistema genital procedeu-se, segundo protocolo estabelecido por Ginther (1979), e Rosedale e Ricketts (1979), à mensuração do comprimento (eixo crânio-caudal), largura (eixo látero-medial) e altura (eixo dorso-ventral) dos ovários, utilizando-se paquímetro digital modelo CD-6” C-B (marca Mitutoyo Sul Americana® LTDA – Fotografias 2 e 3). Procedeu-se, em relação ao útero, à observação da coloração do endométrio, de presença ou não de muco e de eventual proliferação endometrial, assim como da espessura da parede do órgão; verificou-se, ainda, o grau de abertura do canal cervical.

Fotografia 2 – Paquímetro digital utilizado para mensuração das dimensões dos ovários, encéfalos e glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Laboratório de Anatomia Veterinária da Universidade Federal de Lavras, município de Lavras (MG) – 2004

Fotografia 3 – Utilização de paquímetro digital para mensuração das dimensões dos ovários de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Laboratório de Anatomia Veterinária da Universidade Federal de Lavras, município de Lavras (MG) – 2004

3.3 Dosagem sorológica de hormônios

As amostras de sangue foram centrifugadas a 3.000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos, e o plasma separado e acondicionado em tubos plásticos (Eppendorf®). Posteriormente o material foi congelado a -20 graus centígrados (°C), permanecendo assim até o momento das dosagens. Estas foram realizadas no Laboratório de Dosagens Hormonais

da FMVZ/USP (para estrógenos totais séricos e progesterona sérica), e no Laboratório Neuroendócrino do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos (para melatonina).

A quantificação hormonal foi realizada em duplicata, utilizando-se a técnica de radioimunoensaio (RIE) em fase sólida I^{125} , por meio de “kits” comerciais diagnóstico (COAT-A-COUNT, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA - DPC®), desenvolvida para bovinos e validada para eqüinos (DIELEMAN; BEVERS, 1987; NAGY et al., 2000; PYCOCK et al., 1995; STOKKA et al., 1991; THARASANIT et al., 2005). Os coeficientes de variação intra-ensaios, baixos e altos, para progesterona, estradiol e melatonina foram, respectivamente, 9,4%, 4,2% e 10,2%; e 6,2%, 10,01% e 5,8%.

Os resultados foram analisados segundo parâmetros definidos por Colquhoun et al. (1987), Diekman et al. (2002), Ginther (1979), Nagy et al. (2000), Tharasanit et al. (2005) e Van Niekerk e Van Niekerk (1997).

3.4 Mensuração dos encéfalos e das glândulas pineais

Encéfalos de 2 animais de cada grupo foram coletados e fixados em solução constituída de 2 litros de formol a 40%, 4 litros de álcool absoluto e água “quantidade suficiente para” (qsp) p/ 20 litros e, posteriormente, mensurados. Adotamos, como parâmetros anatômicos para mensuração do comprimento, aferido na face ventral do encéfalo, a extremidade rostral do lobo frontal e a região de emergência da raiz mais cranial do primeiro par de nervos espinhais e, para a largura, os pontos de interseção entre a fissura silviana e o sulco rinal lateral, em cada hemisfério cerebral.

Posteriormente, as glândulas pineais foram, *in situ*, observadas sob lupa (Nikon SMZ 800 Stereomicroscope[®]) e classificadas segundo protocolo estabelecido por Vollrath (1979). Foram, ainda, obtidas as medidas de comprimento, no sentido do seu maior eixo; largura, no eixo látero-lateral, e altura, no eixo ortogonal aos anteriores, utilizando-se, para tanto, o paquímetro já mencionado.

Finalmente, glândulas pineais e encéfalos foram fotografados em câmera digital (Nikon Coolpix 950[®]).

3.5 Processamento das glândulas pineais

As glândulas pineais dos outros animais (4/grupo) foram isoladas em blocos de tecido encefálico com dimensões de aproximadamente 1,0 cm³ e, posteriormente, seccionadas em planos ortogonais em relação ao seu eixo maior, obtendo-se assim quatro quadrantes. Adotou-se esquema de rodízio para imersão destas quatro amostras em soluções fixadoras de *Bouin* (para microscopia de luz), glutaraldeído a 2,0% (para microscopia eletrônica de transmissão), Metacar¹ e *McDowell* (para quantificação celular), de modo que, ao final de cada fase de colheita, havia duas repetições de cada quadrante em cada uma das soluções descritas (Esquema 1).

¹ 60% de metanol, 30% de clorofórmio e 10% de ácido acético glacial.

Esquema 1 – Apresentação do uso de fixadores (B: *Bouin*; G: glutaraldeído; Md: *McDowell*, e Mt: Metacar) utilizados para fixação dos quadrantes de glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1^a FASE) e em anestro fisiológico (2^a FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Após período adequado de fixação o material foi submetido à rotina histológica para confecção de lâminas, segundo protocolos específicos para inclusão em parafina, resina para microscopia eletrônica e histo-resina (BRANCOFT; STEVENS, 1982; McDOWELL; TRUMP, 1976). A espessura dos cortes obtidos foi de 2,0µm, e as colorações empregadas

foram as de hematoxilina-eosina, fucsina básica/azul de toluidina (TOLOSA et al., 2003), *Verhoeff* para fibras elásticas (ROMEIS, 1968) e picrossirius para fibras colágenas (JUNQUEIRA et al., 1979), esta última analisada sob luz polarizada.

Após análise, as lâminas selecionadas foram fotografadas em fotomicroscópio Zeiss®.

3.6 Microscopia de luz e análises qualitativa e quantitativa

Foram observados, analisados e descritos os aspectos histológicos das glândulas pineais das éguas selecionadas em ambas as fases, assim como descritas as características das fibras colágenas e elásticas, bem como os tipos, distribuição, número e tamanho dos pinealócitos.

3.7 Ultra-estrutura

Para análises utilizando-se microscopia eletrônica de transmissão, os fragmentos da glândula pineal foram mantidos durante 2 a 3 horas em solução fixadora de glutaraldeído a 2,0% em tampão fosfato de sódio (0,1M e pH 7,3). Posteriormente, foram imersos em solução de tetróxido de ósmio a 1,0% em tampão fosfato por 2 horas. Em seguida, foram lavados 3 vezes em solução fisiológica com sacarose (pH 7,4) e mantidos, durante 12 horas, em solução aquosa de uranila a 0,5%. Na seqüência, foram desidratados em série crescente de álcoois (de 50° ao absoluto), imersos em solução de acetona e resina (na proporção de 1:1), e colocados

em um girador por 4 horas. Posteriormente, foram incluídos em resina pura (Araldite). Os cortes semi-finos foram corados com solução de azul de metileno + azur II, para escolha dos campos. A seguir, foram feitos cortes ultra-finos contracorados com acetato de uranila saturada e citrato de chumbo. A análise das telas foi realizada em um microscópio de transmissão JEOL JEM-1010[®].

3.8 Morfometria de pinealócitos

Objetivando-se verificar possíveis diferenças decorrentes da idade e/ou fase reprodutiva, no que diz respeito ao tamanho dos pinealócitos, procedeu-se à mensuração do perímetro de 480 (quatrocentos e oitenta) células por animal. Para tanto, utilizou-se uma lâmina corada com azul de toluidina/fucsina básica, com 4 (quatro) cortes de 2,0 μm de espessura. Em cada um deles foram analisados 10 (dez) campos, em “zig-zag”, a partir do canto superior esquerdo, de modo a percorrer todo o corte. Em cada campo foram, aleatoriamente, medidas 12 (doze) células.

Com intuito de averiguar, também, eventuais diferenças entre regiões da glândula pineal, sobre a morfometria destas células, os quadrantes do órgão foram analisados como mostra o esquema 2.

A delimitação das áreas celulares foi realizada em microscópio Zeiss[®], com auxílio de câmara clara Zeiss[®] e, posteriormente, as mensurações aferidas utilizando-se planímetro OTT - Germany[®]. Finalmente, após avaliação da área, este valor foi multiplicado pelo fator de correção 23.6, e obtido o resultado em μm^2 .

GLÂNDULA PINEAL

QUAD. A	QUAD. B
QUAD. D	QUAD. C

ANIMAL	QUADRANTE
01 (jovem)	D
02 (jovem)	A
03 (jovem)	B
04 (jovem)	C
05 (idoso)	D
06 (idoso)	A
07 (idoso)	B
08 (idoso)	C

Esquema 2 – Distribuição por animal, dos quadrantes das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

3.9 Avaliação da densidade de pinealócitos no tecido glandular

Com o mesmo intuito, de verificar possíveis efeitos da idade, fase reprodutiva e/ou dos quadrantes da glândula pineal sobre o número de pinealócitos nos animais estudados, foi realizada contagem estimada destas células, nas mesmas lâminas e cortes utilizados para morfometria. Procedeu-se à análise de 20 (vinte) campos por corte, nas mesmas regiões da glândula/animal e sequência descritas no item anterior, sendo a área de cada campo

equivalente a $0,031 \text{ mm}^2$. Assim, realizou-se a contagem dos pinealócitos presentes em 80 (oitenta) campos por animal, perfazendo uma área de $2,48 \text{ mm}^2$ de tecido glandular. Para este procedimento foram utilizados microscópio Zeiss® e programa computacional de morfometria KS-300/Zeiss®.

3.10 Forma de análise dos resultados

Foram avaliadas, em duas estações do ano (EA), 6 (seis) éguas para cada uma das duas faixas etárias (IDADE) previstas, através de um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com 2 (dois) fatores (EA e IDADE), cada um com dois níveis (atividade reprodutiva e anestro fisiológico; e jovens e idosos). Os dados obtidos pela avaliação de variáveis como altura à cernelha, peso vivo, idade, concentrações hormonais, morfometria de ovários, úteros, encéfalos e glândulas pineais foram analisados utilizando-se a Análise de Variância com Teste “F”. As possíveis correlações existentes foram avaliadas pela Análise de Regressão, juntamente com a “Correlação de Pearson” (BANZATTO; KRONKA, 1992; SNEDECOR, 1946; STEEL; TORRIE, 1960), e, para a comparação entre médias das variáveis, empregou-se o teste de *Scott-Knott* (BANZATTO; KRONKA, 1992).

Dados referentes à densidade de pinealócitos e à mensuração de sua área foram submetidos à análise de variância e teste “F” (BANZATTO; KRONKA, 1992; SNEDECOR, 1946; STEEL; TORRIE, 1960), considerando delineamento em blocos casualizados (Q), com 4 (quatro) repetições, sendo cada quadrante um bloco, no qual os tratamentos estão alocados em esquema fatorial 2x2 (fator EA com 2 níveis, e fator IDADE também com dois níveis).

O esquema da análise estatística para as 16 unidades experimentais é o que se segue:

FV	GL
Q	3
EA	1
IDADE	1
EA x IDADE	1
ERRO	9
Total	15

As análises estatísticas (Apêndice B) foram processadas utilizando-se os *softwares* SISVAR (<http://www.dex.ufla.br/danielff/dff02> –) e R (<http://www.R-project.org>).

Conforme já referido em material e método, foram processados e analisados os dados oriundos das éguas **jovens** (3 a 8 anos) e **idosas** (15 a 20 anos), em ambas as fases reprodutivas (estação de monta e anestro fisiológico). Cada grupo compreendeu 6 (seis) animais, sendo que de 4 (quatro) deles foi colhido material para análises microscópicas, e de 2 (dois) para avaliações macroscópicas, perfazendo um total de 24 (vinte e quatro) animais no presente experimento. Entretanto, para alguns parâmetros (peso vivo, idade e altura à cernelha) há dados referentes à 6 (seis) éguas, em cada um dos 4 (quatro) grupos.

As regiões de procedência dos animais foram também fator a ser considerado, visto que a reprodução dos eqüinos é sazonal. As éguas trabalhadas durante a estação de monta, período em que há maior número de horas de luz/dia, condição desejável na 1ª fase do presente estudo, foram provenientes do sul da Bahia e norte de Minas Gerais. Inversamente, aquelas processadas durante o anestro fisiológico, vieram do sul de Minas Gerais, São Paulo e norte do Paraná, regiões mais distantes do equador e, conseqüentemente, com menor duração de luminosidade no mês de julho, condição ideal para colheita de material na 2ª fase.

4.1 Peso dos animais

O peso vivo por animal, e as médias por idade, fase reprodutiva e geral, estão apresentadas na tabela 1.

Podemos observar que o peso médio não variou ($P>0,05$) em função da fase, idade e/ou interação entre estas, mas foi numericamente superior naqueles animais abatidos durante a estação de monta, ou seja, na 1ª fase (Tabela 1; Apêndice A, Gráfico 1; e Apêndice B, Tabela 1).

Tabela 1 – Peso vivo (kg) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	220,0	282,0	277,0	253,0
2	242,5	244,0	210,0	195,0
3	355,0	266,0	264,0	238,0
4	248,0	343,0	141,0	230,0
5	272,0	235,0	230,0	270,0
6	206,0	215,0	208,0	199,0
Peso médio/idade	⁽¹⁾ 257,25 ⁽²⁾ ±53,08	264,17 ±45,19	221,67 ±48,48	230,83 ±29,58
Peso médio/fase	260,71 ±4,89		226,25 ±6,48	
Peso médio geral	243,48 ±24,37			

(1) Média

(2) Desvio padrão

4.2 Idade dos animais

Os valores individuais, e as médias deste parâmetro estão apresentados na tabela 2; e as imagens, nas fotografias 4 e 5.

Tabela 2 – Idade (anos) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	4	17	8	19
2	8	17	3	17
3	7	20	6	17
4	8	19	3	16
5	7	17	3	17
6	8	19	4	20
Média	⁽¹⁾ 7,0 ⁽²⁾ ±1,6	18,2 ±1,3	4,5 ±2,1	17,7 ±1,5

(1) Média

(2) Desvio padrão

Fotografia 4 – Dentes incisivos inferiores de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Fotografia 5 – Dentes incisivos inferiores de éguas jovens e idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

4.3 Altura dos animais

Mensurada com auxílio de uma bengala de Lydthin, a altura dos animais compreendeu a distância do solo à cernelha, com aqueles em estação e uniformemente apoiados nos quatro membros, como demonstrado na fotografia 6.

Fotografia 6 – Mensuração da altura de uma das éguas constantes da amostra de jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), no Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

A altura das éguas, bem como as médias por idade, fase reprodutiva e geral podem ser visualizadas na tabela 3. Verifica-se que os valores para este parâmetro não foram influenciados ($P>0,05$) pela fase reprodutiva, idade e/ou interação entre estas, embora os animais em atividade reprodutiva foram numericamente mais altos que aqueles em anestro (Apêndice A, Gráfico 2; e Apêndice B, Tabela 2).

Tabela 3 – Altura (cm) à cernelha, de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	138	144	141	139
2	129	141	132	127
3	152	137	134	139
4	133	143	123	138
5	145	139	140	135
6	130	131	132	126
Altura média/idade	⁽¹⁾ 137,8 ⁽²⁾ ±9,1	139,2 ±4,8	133,7 ±6,5	134,0 ±6,0
Altura média/fase	138,5 ±0,99		133,9 ±0,2	
Média geral	136,2 ±3,3			

(1) Média

(2) Desvio padrão

4.4 Dosagens hormonais

Para estas variáveis, os resultados individuais acompanhados do sinal “<” (menor que), foram considerados na forma original, para efeito de cálculo.

Os valores das dosagens de estradiol, progesterona e melatonina por animal, assim como as médias por idade, fase reprodutiva e geral estão apresentados, respectivamente, nas tabelas 4, 5 e 6.

Observa-se que a fase reprodutiva, idade e/ou interação entre estas não influenciaram ($P>0,05$) as concentrações séricas de estrógeno, bem como os de melatonina (Apêndice B, Tabelas 3 e 5). Já no caso da progesterona, esta apresentou maior dosagem ($P<0,05$) na 1ª fase (atividade reprodutiva), não tendo sido influenciada pelas outras variáveis (idade e interação fase x idade – Apêndice B, Tabela 4).

Tabela 4 – Concentrações séricas de estradiol (pg/ml) em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	<4,82	<4,82	<4,82	8,47
2	14,71	<4,82	<4,82	<4,82
3	20,45	<4,82	12,97	<4,82
4	<4,82	<4,82	<4,82	<4,82
Média/idade	⁽¹⁾ 11,2 ⁽²⁾ ±7,73	4,82 ±0,00	6,86 ±4,08	5,73 ±1,83
Média/fase	8,01 ±4,51		6,30 ±0,80	

(1) Média

(2) Desvio padrão

Tabela 5 – Concentrações séricas de progesterona (ng/ml) em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	0,15	3,98	0,19	0,13
2	<0,02	4,04	0,14	0,80
3	3,13	0,12	<0,02	0,15
4	0,04	3,72	0,15	0,15
Média/idade	⁽¹⁾ 0,84 ⁽²⁾ ±1,53	2,97 ±1,90	0,13 ±0,07	0,31 ±0,33
Média/fase	1,91 ±1,51		0,22 ±0,13	

(1) Média

(2) Desvio padrão

Tabela 6 – Concentrações séricas de melatonina (pg/ml) em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	0,93	3,68	2,35	4,78
2	1,31	1,52	1,49	1,42
3	17,05	3,01	15,37	3,16
4	14,89	2,80	9,76	1,31
Média/idade	⁽¹⁾ 8,55 ⁽²⁾ ±8,62	2,75 ±0,90	7,24 ±6,57	2,67 ±1,64
Média/fase	5,65 ±4,10		4,96 ±3,23	

(1) Média

(2) Desvio padrão

4.5 Aspectos macroscópicos e morfométricos do sistema genital

À inspeção visual não foi detectada qualquer anormalidade nos órgãos genitais das éguas analisadas, no que se refere à coloração uterina, presença – ou não – de muco, proliferação endometrial, espessura da parede uterina, e cérvix, como pode ser observado nas fotografias 7-13 (apêndice C).

Os resultados das mensurações dos ovários por animal, e médias por ovário (direito e esquerdo), idade e fase reprodutiva, constam das tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Medidas (mm) do comprimento (C), largura (L) e altura (A) dos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de éguas em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	Jovens						Idosas					
	OD			OE			OD			OE		
	C	L	A	C	L	A	C	L	A	C	L	A
1	39,2	22,8	32,0	40,9	29,4	34,6	45,7	28,2	25,6	53,8	34,4	26,0
2	43,0	26,3	29,9	54,2	43,5	57,2	58,8	38,1	38,3	47,2	23,4	28,9
3	63,7	31,0	39,1	65,2	32,9	44,8	61,4	39,4	44,3	56,7	30,8	27,1
4	50,1	39,0	41,5	60,6	37,0	39,3	75,2	40,9	47,2	38,5	26,6	22,7
5	41,1	25,2	24,1	57,7	42,1	43,1	51,6	24,2	32,2	47,5	28,7	30,7
6	47,3	41,1	45,5	52,6	32,0	44,2	50,3	26,5	29,4	46,4	38,4	30,8
Média/ov.	(1) 47,4	30,9	35,4	55,2	36,2	43,9	57,2	32,9	36,2	48,4	30,4	27,7
	(2) ±8,9	±7,6	±8,0	±8,3	±5,7	±7,6	±10,5	±7,4	±8,6	±6,4	±5,4	±3,1
Média/id.	51,3x33,6x39,7						52,8x31,7x32,0					
	±5,5x3,7x6,0						±6,2x1,8x6,0					
Média/fase	52,1x32,7x35,9											
	±1,1x1,3x5,4											

(1) Média

(2) Desvio padrão

Tabela 8 – Medidas (mm) do comprimento (C), largura (L) e altura (A) dos ovários direito (OD) e esquerdo (OE) de éguas em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	Jovens						Idosas					
	OD			OE			OD			OE		
	C	L	A	C	L	A	C	L	A	C	L	A
1	41,1	21,4	30,9	44,6	30,1	26,3	38,0	20,0	23,1	34,0	19,8	20,8
2	41,4	22,3	21,5	42,8	25,4	34,0	44,6	39,4	32,4	47,3	34,7	40,7
3	35,2	20,7	27,7	34,2	22,7	21,7	31,9	27,2	25,4	38,8	24,9	31,2
4	32,2	20,0	21,7	28,6	16,8	25,4	40,8	23,6	35,7	40,8	23,0	29,4
5	34,8	22,0	30,5	39,5	30,4	35,4	32,9	19,3	25,4	33,1	19,8	22,8
6	37,7	22,0	24,0	31,6	23,7	23,4	39,4	17,4	20,9	45,6	25,4	29,9
Média/ov.	⁽¹⁾ 37,1	21,4	26,1	36,9	24,9	27,7	37,9	24,5	27,2	39,9	24,6	29,1
	⁽²⁾ $\pm 3,7$	$\pm 0,9$	$\pm 4,2$	$\pm 6,4$	$\pm 5,1$	$\pm 5,7$	$\pm 4,8$	$\pm 8,1$	$\pm 5,7$	$\pm 5,8$	$\pm 5,5$	$\pm 7,0$
Média/id.	37,0x23,2x26,9						38,9x24,6x28,2					
	$\pm 0,1 \times 2,5 \times 1,1$						$\pm 1,4 \times 0,1 \times 1,3$					
Média/fase	38,0x23,9x27,6											
	$\pm 1,3 \times 1,0 \times 0,9$											

(1) Média

(2) Desvio padrão

Vale ressaltar que as médias para comprimento, largura e altura, de ambos ovários, foram maiores ($P < 0,05$) na 1ª fase (atividade reprodutiva), como evidenciado no apêndice A, gráficos 3 e 4; e Apêndice B, Tabelas 6 a 11. Além disso, a largura média dos ovários esquerdos foi influenciada também pela idade, tendo sido maior ($P < 0,05$) em jovens (Apêndice A, Gráfico 5; e Apêndice B, Tabela 10), assim como pela interação entre esta e a fase reprodutiva, de modo que as éguas jovens apresentaram ovários esquerdos mais largos ($P < 0,05$) quando em atividade reprodutiva (Apêndice A, Gráfico 5; e Apêndice B, Tabela 10). Entretanto, esta variável não diferiu entre as fases, no caso das éguas idosas.

As médias gerais para comprimento, largura e altura dos ovários de todas as éguas trabalhadas foram 45,05; 28,3 e 31,75 mm, respectivamente.

4.6 Encéfalo

À observação macroscópica, os encéfalos das éguas trabalhadas apresentaram-se conforme o padrão desta espécie, sem qualquer evidência de alterações quanto à forma, aspecto, coloração, bem como presença de tumores ou anomalias, congênitas ou adquiridas, visíveis sem auxílio de equipamentos.

As medidas do comprimento e largura do encéfalo dos animais, e as médias destes valores por idade, fase reprodutiva e geral, estão representados na tabela 9; e no apêndice A, gráfico 7.

Tabela 9 – Medidas (mm) do comprimento (C) e largura (L) dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE				2ª FASE			
	Jovens		Idosas		Jovens		Idosas	
	C	L	C	L	C	L	C	L
1	132,01	69,98	136,99	66,59	142,80	75,32	146,20	79,71
2	147,07	68,82	150,87	77,67	145,33	69,35	139,66	73,73
Média/idade	⁽¹⁾ 139,54	69,40	143,93	72,13	144,07	72,34	142,93	76,72
	⁽²⁾ ±10,65	±0,82	±9,81	±7,83	±1,79	±4,22	±4,62	±4,23
Média/fase	141,74x70,77				143,50x74,53			
	±3,10x1,93				±0,81x3,10			
Média geral	142,62x72,65							
	±1,24x2,66							

(1) Média

(2) Desvio padrão

As médias do comprimento e largura encefálicas não diferiram ($P < 0,05$) em decorrência das fases reprodutivas, idade e/ou interação entre estas (Tabela 9; Apêndice A, Gráfico 7; e Apêndice B, Tabelas 12 e 13).

4.7 Aspectos macroscópicos e morfométricos da glândula pineal

Pudemos verificar que as glândulas pineais analisadas localizam-se entre o cérebro e cerebelo, em posição característica à espécie, qual seja, dorso-caudalmente à aderência inter-talâmica, e rostralmente aos colículos rostrais (Apêndice D, Fotografias 14 a 16).

Apresentaram revestimento de meninges encefálicas (Apêndice D, Fotografia 15), bem como desenvolvido suprimento sangüíneo (Apêndice D, Fotografias 14 e 16). O formato verificado foi ovóide ou piriforme, obedecendo aos padrões descritos para a espécie, conforme mostrado no apêndice D, fotografias 14 a 16. Desta forma, podem ser classificadas como do tipo proximal ou A (visto que o maior volume do órgão encontra-se próximo ao terceiro ventrículo), ou sub-calosa, uma vez que a mesma situa-se ventralmente ao esplênio do corpo caloso (Apêndice D, Fotografias 14 e 15).

A base do órgão insere-se na região das habênulas, e apresenta ligeira escavação, a qual constitui o recesso pineal do terceiro ventrículo (Apêndice D, Fotografias 14 e 15).

As medidas do comprimento, largura e altura das glândulas pineais, mensuradas respectivamente no sentido do seu maior eixo; no eixo látero-lateral e no eixo ortogonal aos anteriores, assim como as médias destes valores por idade, fase reprodutiva e geral, estão representados na tabela 10; e no apêndice A, gráfico 8.

Tabela 10 – Medidas (mm) do comprimento (C), largura (L) e altura (A) das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE						2ª FASE					
	Jovens			Idosas			Jovens			Idosas		
	C	L	A	C	L	A	C	L	A	C	L	A
1	10,10	4,44	4,14	14,89	5,58	5,50	9,08	5,28	4,46	9,01	6,85	6,29
2	8,58	4,71	5,33	8,92	6,16	5,65	7,06	4,65	4,40	7,06	4,68	4,67
Média/idade	⁽¹⁾ 9,34 ⁽²⁾ ±1,07	4,58 ±0,19	4,74 ±0,84	11,91 ±4,22	5,87 ±0,41	5,58 ±0,11	8,07 ±1,43	4,97 ±0,45	4,43 ±0,04	8,04 ±1,38	5,77 ±1,53	5,48 ±1,15
Média/fase	10,63x5,23x5,16 ±1,82x0,91x0,59						8,06x5,37x4,96 ±0,02x0,57x0,74					
Média geral	9,35x5,30x5,06 ±1,82x0,10x0,14											

(1) Média

(2) Desvio padrão

Assim como para o encéfalo, as médias do comprimento, largura e altura das glândulas pineais não foram influenciadas ($P>0,05$) pela fase reprodutiva, idade e/ou interação entre estas (Apêndice A, Gráfico 8; e Apêndice B, Tabelas 14 a 16).

4.8 Aspectos histológicos da glândula pineal

À microscopia de luz, podemos observar que, assim como em outros mamíferos, a glândula pineal de eqüinos é recoberta por uma cápsula bem definida (Apêndice E, Figuras 1 a 3, 7 e 9), a qual se apresenta mais desenvolvida nos animais idosos. Entretanto, parece não haver relação entre a espessura desta e a fase reprodutiva da égua.

A presença de vasos na periferia da glândula pineal, assim como no interior do parênquima também foi observada (Apêndice E, Figuras 1 a 3, 7 a 9), independentemente da fase e idade dos animais. Tanto os vasos presentes na cápsula, quanto no interior da glândula, apresentaram fibras de tecido conjuntivo colágeno (Apêndice E, Figuras 2 e 9), assim como de tecido elástico (Apêndice E, Figura 3) em suas paredes.

A cápsula da glândula, provavelmente derivada das meninges que a recobrem (principalmente pia-máter), emite septos para seu interior, dividindo o parênquima em lobos. Ambos, cápsula e septos são constituídos por tecido conjuntivo com fibras colágenas e elásticas (Apêndice E, Figuras 1 a 3, 7 a 9).

No que se refere às fibras colágenas, em todos os quatro grupos de animais esta estrutura estava presente (Apêndice E, Figuras 2, 6, 9 e 12) e foram evidenciadas aquelas do tipo I (amarelo, laranja e vermelho), assim como as do tipo III (verde). Entretanto, as primeiras foram mais abundantes nas éguas trabalhadas durante a estação de monta (Apêndice E, Figura 2) e vice-versa (Apêndice E, Figura 9).

Já as fibras elásticas, ao contrário das colágenas, apresentaram-se de maneira uniforme na glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva ou fora dela. No entanto, foram mais abundantes nos animais jovens (Apêndice E, Figura 3).

Como verificado, as pineais em todos os grupos apresentaram divisões internas, irregularmente definidas por septos de tecido conjuntivo, oriundos da cápsula (Apêndice E, Figuras 1 a 3, 7 a 9). Esta organização confere-lhe aspecto compartimentalizado e, em consequência, identificamos várias regiões glandulares, as quais denominamos lóbulos, alguns muito bem definidos, como podem ser observados no apêndice E, figuras 1C, 3B, F e G, 7C, E e F.

Quanto aos constituintes celulares predominantes na glândula pineal dos animais estudados, constatamos os pinealócitos em maior quantidade, seguidos pelas células da glia

ou astrócitos. Foram também identificados fibroblastos bem desenvolvidos (Apêndice E, Figuras 6A e 12A).

Os primeiros, presentes em todas as regiões do órgão, apresentaram-se geralmente redondos ou ovais. Sua coloração é bastante variada; alguns pinealócitos mostram núcleo e citoplasma relativamente claros, outros relativamente eletrondensos, mas ambos estão homogeneamente distribuídos por toda a glândula pineal (Apêndice E, Figuras 14 e 15). Naqueles animais idosos, estas células apresentam-se sob diferentes formas, algumas delas fortemente coradas (Apêndice E, Figuras 1H, 8C e D), outras em franco processo de degeneração, tais como contorno alterado (Apêndice E, Figura 8D), núcleo em estágio de degeneração (Apêndice E, Figura 12D), membrana nuclear parcialmente degenerada (Apêndice E, Figura 13B) ou rompida (Apêndice E, Figura 12D). Também foram observados poros na membrana nuclear de pinealócitos (Apêndice E, Figura 10B), bem como endentações em seu contorno, sugestivas de invaginações do citoplasma para o interior do núcleo (Apêndice E, Figura 13A), bem como corpos eletrondensos (Apêndice E, Figura 5D).

Os núcleos dos pinealócitos são geralmente grandes, vesiculosos e ovais (Apêndice E, Figuras 6B, 10A e 12B), mas em algumas células eles se apresentam arredondados (Apêndice E, Figuras 5A, 6D, 11A e 12B), com um ou mais nucléolos proeminentes. A cromatina nuclear, predominantemente condensada, assume formas variadas e localiza-se próxima à membrana nuclear e ao nucléolo (Apêndice E, Figuras 5A, 6B e 10A). Este último está freqüentemente localizado junto à borda do núcleo, e apresenta zonas fibrilar e granular bem distintas (Apêndice E, Figuras 10C e 12C).

O citoplasma dos pinealócitos é geralmente reduzido a uma estreita faixa ao redor do núcleo (Apêndice E, Figuras 5A e 10B) sendo que, em muitos deles é evidente a existência de um (ou mais) prolongamento(s). Este(s) forma(m) um largo e curto cone que gradualmente se estreita (Apêndice E, Figura 5A). Geralmente estas expansões dirigem-se até muito próximo a

outros pinealócitos sem, contudo, estabelecerem contato direto e/ou sináptico. Nestas expansões foram identificadas mitocôndrias alongadas, distribuídas por todo o citoplasma, bem como ribossomos (Apêndice E, Figura 11A).

Os astrócitos, por sua vez, encontram-se entremeados aos primeiros, mas concentram-se em regiões próximas aos vasos sanguíneos (Apêndice E, Figuras 1A, E e F, 7D e E). Apresentam-se menores, mais achatados e pigmentados do que os pinealócitos.

Fibras nervosas (Apêndice E, Figuras 6C e D, 10D e 13C), sendo algumas mielínicas (Apêndice E, Figura 6B), e terminações nervosas (Apêndice E, Figuras 5C, 6A, 10A, 11A e 13A), estas apresentando vesículas granulares e agranulares (Apêndice E, Figuras 5B, 6A e 11A), foram identificadas, tanto no citoplasma de pinealócitos quanto no espaço extracitoplasmático.

A presença de material eletrondenso no citoplasma de pinealócitos, característico de concreções calcáreas, foi observada; alguns deles muito grandes, medindo acima de 500 nm (Apêndice E, Figura 13A). Em alguns pontos, estruturas semelhantes a desmosomos, e localizadas entre duas fibras nervosas, também foram identificadas (Apêndice E, Figura 5D).

Quanto às concreções calcáreas, estas foram abundantes na glândula pineal dos animais estudados, em ambas fases reprodutivas (Apêndice E, Figuras 4, e 10 a 13), inclusive em éguas jovens (Apêndice E, Figuras 4A e C, e 11). Apresentaram-se por todas as regiões da glândula, inclusive na periferia, próxima à cápsula (Apêndice E, Figura 12A), bem como nos espaços intra (Apêndice E, Figuras 11A e 13A) e extracitoplasmático (Apêndice E, Figuras 12A e 13C) dos pinealócitos, e em diferentes tamanhos e formas (circular, oval ou irregular - apêndice E, figuras 4, e 10 a 13). Os grânulos calcáreos, predominantemente em forma de anéis completos, tiveram aspecto granular em jovens (Apêndice E, Figuras 4A e C, e 11), e fortemente condensado em idosos (Apêndice E, Figuras 4B e D, 12A e 13C). Nos primeiros,

assemelharam-se a amoras (Apêndice E, Figura 11E), enquanto nos demais, assumiram formato ovóide (Apêndice E, Figura 12A).

No apêndice E, Figura 11B, podemos observar vários agrupamentos com diferentes concentrações de grânulos de formação calcárea, caracterizando, provavelmente, as etapas sequenciais da formação das concreções. Ainda nesta figura, verifica-se uma destas estruturas com envoltório íntegro (11E) e outra, semelhante, porém apresentando cápsula em processo de degeneração (11D).

4.9 Morfometria de pinealócitos

As médias relativas à mensuração da área de 480 pinealócitos por animal (1920 células/grupo), assim como por idade, fase reprodutiva e distribuição por intervalos (μm^2), estão representados na tabela 11 e no apêndice A, gráficos 9 a 14.

Tabela 11 – Médias (μm^2) da área de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	4,45	3,23	3,48	3,32
2	3,68	3,37	2,71	3,35
3	3,41	3,63	3,09	3,55
4	3,61	3,36	3,55	3,14
Média/idade	⁽¹⁾ 3,79 ⁽²⁾ $\pm 1,69$	3,40 $\pm 1,87$	3,21 $\pm 0,85$	3,34 $\pm 0,83$
Média/fase	3,60 $\pm 0,28$		3,28 $\pm 0,09$	

(1) Média

(2) Desvio padrão

A fase reprodutiva, bem como idade e interação entre elas não influenciaram ($P > 0,05$) as médias das áreas dos pinealócitos (Apêndice A, Gráficos 9 a 14; e Apêndice B, Tabela 17), não havendo, portanto, diferenças no que se refere ao tamanho dos pinealócitos.

Entretanto, verifica-se que, nos animais em atividade reprodutiva, independentemente da idade, a maioria das células mensuradas apresentaram áreas entre 2,0 e 4,0 μm^2 (Apêndice A, Gráficos 9 e 10), enquanto naqueles em anestro, o intervalo de maior frequência foi de 2,5 a 4,5 μm^2 (Apêndice A, Gráficos 11 e 12).

4.10 Avaliação da densidade de pinealócitos no tecido glandular

Como já descrito, foram quantificados os pinealócitos presentes em 80 campos microscópicos (de $0,031 \text{ mm}^2$ cada) da glândula pineal de todas as éguas, perfazendo uma área de $2,48 \text{ mm}^2$ por animal.

Os valores deste parâmetro por animal, e as médias por idade e fase reprodutiva podem ser verificados na tabela 12 e no apêndice A, gráficos 15 e 16.

A quantidade de células por animal não foi influenciada ($P>0,05$) pela idade dos animais, em uma mesma fase (Apêndice A, Gráfico 15; e Apêndice B, Tabela 18); entretanto, o foi ($P<0,05$) entre as fases reprodutivas (Apêndice A, Gráfico 16; e Apêndice B, Tabela 18), havendo muito mais pinealócitos na glândula pineal dos animais trabalhados na 2ª fase (anestro fisiológico). Ao considerar a interação “fase reprodutiva x idade”, verifica-se influência significativa ($P<0,05$) desta sobre a população de pinealócitos (Apêndice A, Gráfico 15; e Apêndice B, Tabela 18).

Tabela 12 – Médias do número de pinealócitos em 1,0 e 2,48 mm² de tecido glandular, de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

ANIMAL	1ª FASE		2ª FASE	
	Jovens	Idosas	Jovens	Idosas
1	1252 / 3105	1155 / 2864	2393 / 5934	2036 / 5050
2	786 / 1949	1241 / 3077	2240 / 5554	1986 / 4925
3	1235 / 3063	1150 / 2851	2310 / 5729	2002 / 4964
4	1141 / 2830	1406 / 3486	2498 / 6194	2256 / 5594
Média/idade	⁽¹⁾ 1104 / 2737 ⁽²⁾ ±217 / 539	1238 / 3070 ±120 / 296	2360 / 5853 ±111 / 275	2070 / 5133 ±126 / 312
Média/fase	1171 / 2904 ±95 / 235		2215 / 5493 ±205 / 509	

(1) Média

(2) Desvio padrão

Na seleção da amostra com a qual trabalhamos, consideramos que as regiões de procedência dos animais representariam um fator importante a ser considerado, uma vez que a reprodução dos eqüinos é sazonal. Deste modo, a localização geográfica da origem dos animais passou a ser um elemento determinante, em decorrência da duração e intensidade da luminosidade ambiental, às quais estavam submetidos antes de serem abatidos, visto serem variáveis às quais relacionam-se, de maneira incontestável, aspectos funcionais da glândula pineal em relação à função reprodutiva, particularmente na espécie em questão.

As éguas trabalhadas durante a estação de monta, período em que há maior número de horas de luz/dia, condição desejável para o presente estudo, foram provenientes do sul da Bahia e norte de Minas Gerais. Inversamente, aquelas processadas durante o anestro fisiológico vieram do sul de Minas Gerais, São Paulo e norte do Paraná, regiões mais distantes do equador e, conseqüentemente, com menor duração de luminosidade no mês de julho, época em que foi realizada a colheita de material para a 2ª fase.

Desta forma, estamos convictos que este fator foi convenientemente controlado, de modo a não interferir negativamente nos resultados.

Outro fator de extrema relevância foi o relacionado à idade das éguas, uma vez que pretendíamos separar a amostra total em dois lotes, o de jovens (3 a 8 anos) e o de idosas (15 a 20 anos), em cada uma das fases consideradas, com vistas ao perfil do ciclo reprodutivo, característico dos eqüinos (1ª FASE ou GI: atividade reprodutiva; e 2ª FASE ou GII: anestro fisiológico). Para os procedimentos de avaliação da idade aproximada optamos pela observação do desgaste da face oclusal dos dentes incisivos inferiores, segundo protocolo estabelecido por Machado (1992) e Torres e Jardim (1987), no próprio Frigorífico, local onde os animais já se encontravam. Este tem sido um critério bastante utilizado na prática das atividades tanto do Médico Veterinário quanto do Zootecnista, quando se pretende avaliar

com segurança a idade de eqüinos e bovinos, de maneira que nos sentimos confiantes em utilizá-lo para os propósitos do presente trabalho.

Portanto, os fatores representados por procedência geográfica e avaliação da idade aproximada dos animais foram considerados cuidadosamente, por ocasião da composição da amostra. Levamos ainda em conta outras duas avaliações, não diretamente relacionadas à seleção dos animais, mas o fizemos no sentido de melhor caracterizá-los; tratam-se dos dados de altura e peso dos animais. Para as mensurações da primeira (em cm), obtidas em relação à cernelha e utilizando-se bengala modelo Lydthin, obtivemos as médias de 137,8 e 133,7 para as fêmeas jovens, respectivamente dos grupos GI e GII, enquanto para as idosas, foram registradas as médias de 139,08 e 134,0 focados os dois grupos, na mesma ordem. Entretanto, os animais em atividade reprodutiva foram numericamente mais altos que aqueles em anestro, fato considerado, por nós, casual e decorrente da raça dos animais em questão.

Também nesse particular, e como era esperado, a amostra como um todo foi homogênea, o mesmo acontecendo quanto à avaliação do peso (em kg) dos animais. Para esta última variável assinalaram-se os valores de 257,25 e 221,67 para as fêmeas jovens, respectivamente dos grupos GI e GII, e de 264,17 e 230,83 para as idosas integrantes dos mesmos grupos, considerados na mesma ordem. Os valores obtidos tanto em relação à altura dos animais, quanto ao peso, quer considerando-se os individuais, quer considerando-se as médias, mostram-se compatíveis com as características zootécnicas do lote (animais sem raça definida - SRD).

Assim como para a altura, informações referentes ao peso vivo de eqüinos, abatidos em matadouros nacionais, não foram encontrados na literatura pesquisada. Entretanto, ao analisarmos a média destas variáveis em cada fase, observamos que não houve grandes diferenças ($P>0,05$) em função da idade, o que já se esperava, visto não ser esta fator determinante para variações dos dois parâmetros considerados. Paralelamente, como era

também esperado, na maioria das situações (idades, fases e geral) o animal mais alto foi, igualmente, o mais pesado, fato não identificado somente no caso das éguas idosas, entre as fases, o que é plenamente justificável pelas diferenças inerentes à raças.

Em contrapartida, verificando o peso médio das éguas abatidas durante a estação de monta (1ª Fase), observamos que, embora este não tenha sido significativamente ($P>0,05$) superior àquele da 2ª fase, há diferença de aproximadamente 35 quilos, o que corresponde a cerca de 15% da média geral. Este valor é esperado e justificável, visto que os animais da 2ª fase foram trabalhos no mês de julho, período no qual há menor disponibilidade de pastagens naquelas regiões, devido à estiagem característica desta época do ano.

Os dados aqui citados estão em consonância com aqueles registrados pela administração do Frigorífico Belo Vale LTDA (informação verbal²).

Quanto aos dados que tiveram por finalidade a comprovação da fase reprodutiva das éguas previamente selecionadas, podemos observar que os resultados das dosagens sorológicas, embora nem sempre condizentes com a literatura, mostram-se coerentes com a respectiva fase reprodutiva.

No que se refere à progesterona, Plotka (1975) afirmou que, durante o estro, as concentrações são geralmente mais baixas que as detectáveis por RIE; Allen e Rowson (1973) relataram que estas concentrações são inferiores a 1,0 ng/ml, e tão logo ultrapassam este valor, as éguas tornam-se não receptivas ao acasalamento. Paralelamente, Henry (1981) considerou que, além dos achados por inspeção visual e/ou palpação retal, éguas em atividade reprodutiva, especificamente no cio, devem apresentar concentrações séricas iguais ou

² informação fornecida por Rogana, no Frigorífico Belo Vale, em 2004.

menores que 2,0 ng/ml. Ao contrário, estarão em diestro quando a concentração deste hormônio estiver acima deste valor.

É consenso entre os pesquisadores que as concentrações séricas dos hormônios aqui considerados variam muito em função do dia do ciclo estral no qual o animal se encontra por ocasião da colheita do sangue (GINTHER, 1979; HAFEZ, 1988; MORROW, 1986; OLIVEIRA, 2001; ROBERTS, 1984). Segundo Shideler (1982), somente uma dosagem sorológica de progesterona não se mostrou confiável para que fossem aferidas as concentrações séricas deste hormônio, visto que a meia-vida desta substância, quando administrada pela via endovenosa, foi apenas de 2,5 a 20 minutos. Henry (1981) afirmou que, devido ao fato destas concentrações variarem grandemente de um dia para o outro, e de animal para animal, a prática de colheita de apenas uma amostra de sangue para dosagem de progesterona influencia sobremaneira os resultados obtidos.

Além disso, a literatura sobre dosagens hormonais em éguas geralmente se limita a determinar as fases do ciclo estral durante a estação de monta, qual sejam: estro, metaestro, diestro e proestro sem, contudo, enfatizar a época do anestro fisiológico, como no caso do presente trabalho. Assim, não nos foram possíveis comparações precisas com resultados de outros autores, como por exemplo os acima citados.

Entretanto, ao observarmos os valores médios de estradiol e progesterona em cada fase, verificamos que as concentrações foram numericamente menores ($P>0,05$) para estrógeno, nas éguas trabalhadas na 2ª fase, e significativamente menores ($P<0,05$) para progesterona, sugerindo que estes animais estavam, nesta época, realmente em anestro fisiológico. As diferenças encontradas entre animais jovens e idosos, relativas a estes dois hormônios, provavelmente sejam decorrentes da fase do ciclo estral e/ou inerentes à condição fisiológica imposta pela idade, pois eram animais que geralmente não apresentavam escore corporal satisfatório para reprodução.

No que diz respeito à melatonina, apesar da diferença ter sido mínima ao se compararem as médias entre as fases, a situação esperada era a de que os animais da 2ª fase apresentassem médias superiores, visto que este é o hormônio responsável pela não manifestação do cio desta espécie, durante esta época do ano. Entretanto, como relatado por Ginther (1979), Hafez (1988) e Morrow (1986) as concentrações séricas desta substância variam muito em função da luminosidade à qual estão submetidos os animais, sendo maiores nos períodos de escuro. Segundo Berglund et al. (1981), as concentrações deste hormônio variam de 20 a 40 pg/ml durante o dia, e de 100 a 150 pg/ml durante a noite.

Assim, considerando-se que durante a 1ª fase os abates aconteceram no início do dia e, ao contrário, aqueles na 2ª fase ocorreram principalmente no início da tarde, em função de conveniências mercadológicas adotadas pelo estabelecimento no qual o trabalho foi conduzido, acreditamos que este fato possa justificar esta discreta diferença.

Paralelamente, Sharp e Grubbaugh (1983) preconizam que, para se obter resultados precisos sobre concentrações séricas deste hormônio, amostras de sangue deverão ser coletadas a intervalos de 10 minutos, por um período de 30 horas, em ambiente com 16 e 8 horas de luminosidade e escuridão, respectivamente.

Entretanto, fomos limitados à possibilidade de colheita de uma única amostra, em virtude das limitações operacionais impostas pela rotina do frigorífico. Mesmo assim, consideramos que nosso intuito foi alcançado com esse procedimento, ou seja, as análises sorológicas efetuadas para estrógeno, progesterona e melatonina cumpriram nosso objetivo de, somadas às observações do exame ginecológico, por palpação retal, comprovarem o estado reprodutivo das éguas selecionadas.

No que se refere a uma possível interação entre concentrações séricas de melatonina e idade, observamos que, embora não tenham apresentados diferença significativa ($P>0,05$), nos animais jovens aquelas foram muito superiores, se comparados aos idosos. Este fato sugere

que a biossíntese desta substância diminui em decorrência da idade, fato confirmado por Oliveira (1998) e Skene et al. (1990).

Particularmente no relativo à inspeção visual do sistema genital, não foi detectada qualquer anormalidade no que se refere à coloração uterina, presença – ou não – de muco, proliferação endometrial, espessura da parede uterina, e cérvix.

Os ovários apresentaram-se condizentes com o estado reprodutivo de cada animal, segundo parâmetros estabelecidos por Ginther (1979), Hafez (1988), Henry (1981), Morrow (1986), e Rossdale e Ricketts (1979). De acordo com estes últimos autores, animais em anestro fisiológico são caracterizados por apresentarem ovários pequenos, sem corpo lúteo ativo e/ou crescimento folicular. Ao contrário, quando em atividade reprodutiva, os animais apresentam corpo lúteo funcional ou em regressão, associado ao crescimento de folículos; e todas estas características estão de acordo com nossos achados.

No que se refere às mensurações ovarianas, Nickel et al. (1979) observaram que os ovários de éguas sexualmente maduras apresentaram comprimento médio de 5 a 8 cm, enquanto Sisson (1986) relatou intervalos médios para comprimento e largura de 7 a 8 cm e de 3 a 4 cm, respectivamente. Já Cabral (2002), em trabalho realizado com éguas SRD, abatidas em matadouro, relatou que as dimensões ovarianas para comprimento, largura e altura dos ovários direitos e esquerdos foram, respectivamente, de 44,50; 36,43 e 26,29 mm.

Tais achados estão de acordo com os resultados por nós apresentados, cujas médias gerais para comprimento, largura e altura foram 45,05; 28,30 e 31,75 mm, respectivamente.

Ao analisarmos individualmente as dimensões ovarianas, verificamos que todas elas foram maiores ($P < 0,05$) naqueles animais em atividade reprodutiva, e que a influência da idade, bem como da interação desta com a fase, foi significativa ($P < 0,05$) somente sobre a largura média do ovário esquerdo. Nestes casos, as éguas jovens, em ambas fases,

apresentaram ovários mais largos que as idosas. Já nestas, a largura dos ovários esquerdos não diferiu ($P>0,05$), em função da fase reprodutiva.

Comparando-se as medidas das gônadas de acordo com a fase reprodutiva, observamos que em ambas os ovários esquerdos apresentaram-se geralmente maiores que os direitos, naqueles animais jovens; o mesmo foi identificado também nas éguas idosas da 2ª fase (anestro fisiológico). Fato semelhante foi também relatado por Cabral (2002), em éguas adultas; entretanto, este pesquisador não mencionou a idade e estado reprodutivo dos animais com os quais trabalhou, impossibilitando-nos fazer comparações mais conclusivas. No que diz respeito aos animais idosos em atividade reprodutiva, os ovários esquerdos foram menores que os direitos. Para tal observação não encontramos justificativa plausível, e nos parece ser um achado casual.

Entretanto, ao analisarmos as médias por idade e/ou a média geral entre as fases, pudemos concluir que o estado reprodutivo exerce efeito determinante no tamanho dos ovários, fato esperado e logicamente compreensível.

Relativamente à observação macroscópica dos encéfalos das éguas trabalhadas, e como já referido, estes se apresentaram sem qualquer evidência de alterações quanto à forma, aspecto, coloração, bem como presença de tumores ou anomalias, congênicas ou adquiridas, visíveis sem auxílio de equipamentos.

Os resultados obtidos evidenciaram não haver influência ($P>0,05$) da fase reprodutiva, idade, interação entre estas, peso vivo e altura sobre as dimensões do encéfalo, como já era previsto.

De acordo com as observações macroscópicas e morfométricas efetuadas na glândula pineal das éguas destinadas aos nossos estudos, verificamos que em todas as peças analisadas ela se localiza entre o cérebro e o cerebelo, em correspondência ao plano sagital mediano, ventralmente ao esplênio do corpo caloso e rostralmente aos colículos rostrais, posicionada

dorso-caudalmente à aderência inter-talâmica, em posição característica aos eqüinos (COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; PÉVET, 1977) e a outras espécies (BRANCO et al., 1997; GOMES, 2003; HOLANDA-BARROS, 2002; SILVINO et. al., 1992). A base do órgão insere-se na região das habênulas, e mostra íntima relação com o recesso pineal do terceiro ventrículo, confirmando o exarado, a respeito, por Bruni e Zimmerl (1947), para animais domésticos, e por Erhart (1962), Machado (2002) e Reiter (1973), para o ser humano. Segundo este último autor, a ligação entre a pineal e o terceiro ventrículo é decorrente do processo de formação da glândula, a qual se origina a partir de um divertículo endimário no teto do terceiro ventrículo, formando-se assim um saco que se comunica com a cavidade ventricular. Posteriormente, este canal se transforma no recesso pineal, já mencionado.

As glândulas pineais estudadas apresentaram-se revestidas por estrutura que nos pareceu ser a pia-máter. Um rico suprimento sangüíneo mostrou-se evidente, e o formato das pineais analisadas foi ovóide ou piriforme, seguindo os padrões descritos para a espécie (COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b; PÉVET, 1977). Contrariamente, Godina (1938) e Laszlo (1934, 1935) as descreveram, em eqüinos, como sendo cônicas. Segundo Gomes (2003), a pineal é um órgão complexo, provavelmente envolvido com muitas outras variáveis, as quais podem justificar estas modificações em sua forma, aparentemente sem justificativa. Tal observação também é compartilhada por nós, e somente reitera a necessidade de prosseguimento das pesquisas nesta área.

No que diz respeito à classificação das glândulas pineais examinadas, todas puderam ser consideradas como do tipo proximal ou A (visto que o maior volume do órgão encontra-se próximo ao terceiro ventrículo), conforme proposto por Vollrath (1979), e ainda como do tipo sub-calosa, como sugeriram Blin e Maurin (1956), uma vez que se alojam ventralmente ao esplênio do corpo caloso.

Quanto ao tamanho das glândulas pineais, observamos que elas se mostraram numericamente ($P>0,05$) maiores nos animais idosos. Considerando-se os períodos reprodutivos, estas se apresentaram ligeiramente maiores ($P>0,05$) nos animais trabalhados durante a estação de monta, contrariando a expectativa de que fossem mais desenvolvidas nas éguas em anestro fisiológico, visto que a atividade deste órgão, nesta época, é sabidamente mais intensa, conforme relataram Cozzi (1986); Cozzi e Ferrandi (1984a) e Pévet (1977).

Entretanto, as diferenças encontradas não foram significativas ($P>0,05$) em nenhuma das análises realizadas, e acreditamos que se deveram a variações inerentes ao órgão, não havendo qualquer outro fator relevante que tivéssemos registrado, a respeito.

Consideramos oportuno ressaltar que, de acordo com relatos de Cozzi e Ferrandi (1984a), referentes à mulas, a glândula pineal é muito mais desenvolvida que em eqüinos, chegando a medir 3,0 cm de comprimento e 1,5 cm de largura. Apesar de os autores não apresentarem justificativa para este fato, acreditamos que isso ocorra em virtude destes animais não apresentarem cio (embora tenham sistema genital completo e funcional, visto que há relatos de mulas que se reproduziram - Henry et al., 1989, 1995, 2002; Pinheiro et al., 1989), o qual é impedido pelas altas concentrações de melatonina circulantes, decorrentes de uma maior atividade da pineal, o que implicaria, supostamente, em maior tamanho do órgão.

No que se refere ao peso vivo, altura à cernelha, dimensões do encéfalo, da glândula pineal e dos ovários, não detectamos qualquer correlação possível entre estas variáveis (Apêndice F, Gráficos 17 a 44), tendo o mesmo sido relatado para cães, por Gomes (2003).

Quanto aos aspectos histológicos da glândula pineal, verificamos em nosso trabalho que ela é recoberta por uma cápsula, provavelmente derivada da meninge (pia-máter) que a recobre. Esta emite septos, que divide a glândula em lóbulos, sendo esses septos acompanhados por numerosos vasos sangüíneos ao longo de seu curso, o que caracteriza intenso suprimento sangüíneo para o órgão. Tal fato pode ser comprovado inclusive

macroscopicamente, e reitera os achados em outras espécies (BRANCO et al., 1997; CARVALHO, 1997; ELLSWORTH et al., 1985; HOLANDA-BARROS, 2002; LIMA et al., 2003; MAÇANARES, 2004; REITER, 1973; SIVILNO et al., 1999), mas contraria o descrito para bovinos, por Trautman e Fieberg (1942).

Ambos, cápsula e septos são constituídos por tecido conjuntivo e foram reportados não apenas em eqüinos (COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b), mas também em outros mamíferos (CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; GODINA, 1938; HUMBERT; PÉVET, 1995; LASZLO, 1934, 1935; LIMA, 2003; REITER, 1973; SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995; SILVINO, 1992, 1999; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992), bem como em humanos (GARTNER; HIATT, 1994; OLIVEIRA, 1998; SZYMONOWICZ; KRAUZE, 1935), embora a literatura mostra-se controversa.

Segundo Rao e Saigal (1971), em bovinos e caninos a lobulação não é aparente, devido à falta de tecido conjuntivo, constituinte das trabéculas, apesar daquele aumentar com a idade. Entretanto, Gomes (2003) identificou uma bem definida cápsula de tecido conjuntivo revestindo o órgão, em cães.

Vale ressaltar que nos animais da 2ª fase (anestro fisiológico) detectamos menor quantidade de tecido conjuntivo fibroso, provavelmente devido ao fato de apresentarem relativamente maior concentração de pinealócitos, uma vez que, nestes animais, a atividade glandular é maior, objetivando manter altas concentrações sanguíneas de melatonina.

Paralelamente, observamos maior quantidade de tecido conjuntivo nos animais idosos, confirmando dados já relatados em outras espécies por Cozzi (1986), Cozzi e Ferrandi (1984b), Humbert e Pévet (1995), Karasek e Hansen (1982), Reiter (1984) e Vigh e Vigh-Teichmann (1992).

A presença de vasos na periferia da glândula pineal, assim como no interior do parênquima também foi observada, independentemente da fase e idade dos animais. Tanto os

vasos presentes na cápsula quanto no interior da glândula apresentaram fibras de tecido conjuntivo colágeno, assim como de tecido elástico em suas paredes, o que está em conformidade com a literatura consultada (COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b; PÉVET, 1977).

No que se refere às fibras colágenas, em todos os quatro grupos de animais esta estrutura mostrou-se presente e foram evidenciadas aquelas do tipo I (amarelo, laranja e vermelho), assim como as do tipo III (verde). Entretanto, verificamos que as primeiras foram mais abundantes nas éguas trabalhadas durante a estação de monta e vice-versa, não havendo distinção de acordo com a idade. Entretanto, Calvo e Boya (1983b), trabalhando com ratos, observaram que este tecido, assim como o conjuntivo (CALVO; BOYA 1983a e 1984), foi mais abundante em animais idosos.

Já as fibras elásticas, ao contrário das colágenas, apresentaram-se de maneira uniforme na glândula pineal de éguas em atividade reprodutiva ou fora dela. No entanto, foram mais abundantes nos animais jovens e, assim como para as elásticas, não encontramos referências sobre este assunto na literatura consultada.

Quanto aos septos, em todos os grupos as pineais apresentaram divisões internas, irregularmente definidas por projeções da cápsula. Esta organização confere-lhe aspecto compartimentalizado e, em consequência, identificamos várias regiões glandulares, as quais denominamos lóbulos, alguns muito bem definidos, assim como foi também relatado por Calvo e Boya (1983a, 1983b, 1984), Calvo et al. (1988), Carvalho (1997), Cozzi (1986), Cozzi e Ferrandi (1984b), Humbert e Pévet (1995), Karasek e Hansen (1982), Lima (2003), Pévet (1977), Rao e Saigal (1971), Schmid e Raykhtsaum (1995), e Vigh e Vigh-Teichmann (1992), relativamente a diversas espécies animais.

No atinente aos constituintes glandulares, e em consonância com a literatura consultada (CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI,

1984a; GOMES, 2003; HUMBERT; PÉVET, 1995; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; KARASEK; HANSEN 1982; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1992, 1999; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992), foram identificados dois tipos de células predominantes no parênquima da pineal de eqüinos: pinealócitos, que constituem a maioria, e células de sustentação, também denominadas células da glia ou intersticiais, além de neurônios, fibras nervosas mielínicas e amielínicas, sinapses, ribossomos, mitocôndrias, fibroblastos e terminações nervosas. Os primeiros estão distribuídos difusa e homogeneamente pela glândula, enquanto os demais estão predominantemente próximos aos espaços perivasculares e aos septos de tecido conjuntivo. As características morfológicas e imuno-histoquímicas destas últimas subsidiaram Cozzi (1986) a classificá-las como sendo astrócitos, com o qual concordamos. Segundo este autor, o núcleo destas células é oval, menor e mais eletrondenso que o de pinealócitos; a cromatina é menos dispersa e forma um definido halo ao longo da membrana nuclear. O nucléolo, por sua vez, é geralmente evidenciado. Entretanto, em nossas preparações não foi possível identificar essas características com tanta precisão.

De acordo com Pévet (1977), os astrócitos diferem dos pinealócitos pelos seus aspectos morfológicos, sua localização próxima aos espaços vasculares, e pela ausência de vesículas granulares. Segundo Calvo et al. (1988), o citoplasma das células intersticiais é geralmente mais eletrondenso que o dos pinealócitos, devido à presença de grânulos de glicogênio.

Pelas nossas observações, pudemos verificar que estas células encontram-se entremeadas aos pinealócitos, concentrando-se em regiões próximas aos vasos sangüíneos e se apresentam menores, mais achatadas e mais pigmentadas do que aqueles. Segundo Rao e Saigal (1971), em búfalos há maior número de células da glia em adultos do que em jovens, mas este parâmetro não foi avaliado no presente trabalho.

Entretanto, Cozzi (1986) relatou que há considerável confusão acerca da nomenclatura das categorias de células presentes na glândula pineal de eqüinos e de outros mamíferos, fato também constatado por nós, na literatura consultada. Alguns autores denominam os pinealócitos também de pinealócitos do tipo I, pinealócitos claros, pinealócitos limpos, células parenquimais ou células principais (claras ou escuras).

Segundo aquele autor, os pinealócitos estão homogeneamente distribuídos pela glândula pineal. Morfologicamente, podem ser distingüidos das células intersticiais pelos seguintes critérios: A – presença de pelo menos uma ou, algumas vezes, duas expansões citoplasmática típicas; B – presença de grandes (acima de 600 nm) corpos eletrondensos no citoplasma da maioria dos pinealócitos; C – localização de células intersticiais próximas aos septos de tecido conjuntivo; D – presença de borda definida de heterocromatina ao redor da membrana nuclear; E – relativa abundância de glicogênio e microfilamentos no citoplasma.

No presente trabalho tivemos oportunidade de confirmar a maioria destas observações, o que nos leva a concordar com os achados do autor.

Os pinealócitos, geralmente redondos ou ovais, possuem coloração variada, o que confirma os achados de Cozzi e Ferrandi (1984b) em eqüinos, e os de Karasek e Hansen (1982), em raposas. Entretanto, Reiter (1984) afirmou que, em mamíferos, os mesmos podem formar cordões, agrupamentos ou, ocasionalmente, folículos. Tal organização foi constatada em cães por Gomes (2003), bem como no presente trabalho; mas neste ocorreu quando os septos de tecido conjuntivo, derivados da cápsula, delimitavam um conjunto de pinealócitos.

Aparentemente, verificamos maior concentração de pinealócitos escuros nos animais avaliados durante o anestro fisiológico. Com base em tal observação, podemos pressupor que estes são mais ativos do que os claros, uma vez que nesta fase a síntese de melatonina é necessariamente maior. Infelizmente a literatura é, mais uma vez, deficitária, havendo somente uma observação de Cozzi (1986), o qual sugeriu que, devido às características

histológicas do núcleo, complexo de Golgi e retículo endoplasmático, presentes nos pinealócitos de eqüinos, estes parecem ser funcionalmente ativos. Entretanto, o pesquisador não mencionou o sexo e/ou estado reprodutivo no qual se encontravam os animais avaliados.

Naqueles animais idosos os pinealócitos apresentaram-se sob diferentes formas, algumas delas fortemente coradas, outras em franco processo de degeneração, tais como contorno alterado, núcleo em estágio de degeneração, membrana nuclear parcialmente degenerada ou rompida. Tais achados confirmam as observações de Cozzi e Ferrandi (1984a), os quais relataram que, em animais idosos, há um decréscimo da atividade dos pinealócitos, além de grandes variações individuais entre eles. Também foram observados poros na membrana nuclear de pinealócitos, bem como invaginações do citoplasma para o interior do núcleo, sugerindo possíveis alterações celulares.

Quanto ao citoplasma dos pinealócitos, este geralmente reduzia-se a uma estreita faixa ao redor do núcleo. Seu(s) prolongamento(s), abundante(s) nos pinealócitos por nós analisados, também foi(ram) relatado(s) por outros autores (CALVO et al., 1988; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984b; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN, 1982; REITER, 1973, 1984; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992). Contrariamente, em pinealócitos de humanos, Junqueira e Carneiro (1999) relataram a presença de citoplasma claro e abundante.

No presente trabalho as expansões dirigiram-se, geralmente, até muito próximo a outros pinealócitos ou, segundo Lerner (1962) até vasos sangüíneos; em ambas situações não há contato direto e/ou sináptico com células vizinhas. Nossos achados estão em consonância com os relatados por Cozzi (1986), o qual não identificou nenhuma forma de contato direto entre os prolongamentos e/ou citoplasmas de pinealócitos adjacentes. Este autor atribuiu esta ausência ao fato dos animais por ele trabalhados terem sido abatidos durante o dia, visto que em outros mamíferos a presença destas estruturas obedece a um ritmo circadiano bem

definido, com maior ocorrência durante a noite (Marinez Soriano et al., 1984). Entretanto, Vollrath (1981) afirmou que muitos mamíferos não as possuem.

Gomes (2003) sugeriu que tais arranjos, muitas vezes tão próximos a vasos sanguíneos, se justificam pelo fato da glândula pineal ser um tecido secretor.

Nestas expansões foram identificadas mitocôndrias ovais ou alongadas, distribuídas por todo o citoplasma. Segundo Cozzi (1986), as alongadas são em menor quantidade, menores e mais eletrondensas que as ovais, mas ambas estão freqüentemente presentes em uma mesma célula. Este último pesquisador também verificou a presença de ribossomos livres e REL, além de uma variedade de organelas, tais como corpos lamelares canaliculados e feixes de retículo endoplasmático, bem como um bem desenvolvido complexo de Golgi, especialmente nas células com citoplasma maior; algumas destas organelas também foram observadas no presente trabalho.

Aderências escuras foram identificadas entre as expansões de uma célula e o citoplasma de outra vizinha, como mencionado também por Cozzi (1986).

Embora tenhamos identificado pinealócitos claros e escuros, não nos foi possível afirmar que nas glândulas pineais estudadas haja uma ou mais populações destas células. E, como podemos verificar, esta questão é também compartilhada por outros pesquisadores.

Segundo Cozzi e Ferrandi (1984b), Karasek e Hansen (1982) e Pévet (1977), os pinealócitos de mamíferos podem ser classificados em dois grupos, de acordo com as características apresentadas pelo núcleo: os do tipo I (pinealócitos claros) e os do tipo II (pinealócitos escuros). Os primeiros estão distribuídos homogeneamente por todo o parênquima, enquanto que os do tipo II são observados geralmente próximo ao espaço perivascular. O núcleo dos primeiros é redondo ou oval, de tamanho maior, e localizado excentricamente. A cromatina é dispersa, mas em algumas células pequenos agregados foram observados. Um proeminente nucléolo está presente e, ocasionalmente, núcleos com dois

nucléolos foram identificados. No segundo grupo os núcleos são menores, predominantemente ovais, com várias agregações densas de cromatina (COZZI; FERRANDI, 1984a; KARASEK; HANSEN, 1982; PÉVET, 1977).

De acordo com Cozzi e Ferrandi (1984a), em ambos tipos o citoplasma é escasso, e o contorno celular definido por processos citoplasmáticos longos. Assim como estes pesquisadores, Pévet (1977) acredita que os dois tipos celulares devem ser considerados, embora morfologicamente distintos, como sendo expressões de uma mesma célula, visto que são histologicamente semelhantes.

Quanto aos eqüinos, entretanto, estes autores questionam se as variedades de pinealócitos descritas constituem tipos celulares distintos ou se, ao invés disso, representam diferentes estágios funcionais de um mesmo tipo celular.

Cozzi e Ferrandi (1984b) observaram, em eqüinos, dois tipos de pinealócitos, de acordo com o aspecto do núcleo; nos do tipo I, o núcleo é maior, e a cromatina dispersa. Nos do tipo II o núcleo é menor, e a cromatina firmemente condensada. Porém, em ambos os tipos o citoplasma é escasso, e os limites celulares bem definidos por causa dos longos processos citoplasmáticos. Segundo os autores, estas células são morfológica mas não histoquimicamente diferentes, e nenhuma correlação entre corantes empregados e tipo de pinealócitos foi estabelecida. Assim, propuseram que sejam consideradas como expressão morfológica, visto que são histoquimicamente similares. Entretanto, permanece a dúvida se estas populações são realmente compostas por células distintas ou se, ao invés disso, expressam tão somente diferentes estágios funcionais de um mesmo tipo de célula.

Posteriormente, Cozzi (1986), embora os tenha novamente observado, afirmou que, exceto os vários graus de eletrondensidade, nenhuma outra diferença pôde ser encontrada para legitimar a hipótese de haver diferentes populações de pinealócitos na glândula pineal de

eqüinos. O autor sugeriu, então, que variações de eletrondensidade nas células pertencentes a um mesmo grupo sejam decorrentes de diferentes técnicas de fixação utilizadas.

Em contrapartida, Pévet (1977) defende a existência de diferentes populações de pinealócitos. Ao mesmo tempo, admite que esta hipótese cria um questionamento: partindo-se do princípio que diferentes populações de pinealócitos estejam envolvidas com diferentes processos secretórios, o que aconteceria naquelas espécies que apresentam somente uma população de pinealócitos? O autor propôs que mesmo as células da glia, presentes na glândula pineal, podem corresponder a uma destas duas populações de pinealócitos.

Os pinealócitos, por nós observados, caracterizaram-se por apresentar núcleos grandes, geralmente ovais ou redondos, vesiculosos, com uma invaginação profunda e um ou mais nucléolos proeminentes. Seu citoplasma está circunscrito ao corpo celular (pericário) e aos vários processos citoplasmáticos ramificados que partem do centro da célula. Tais achados estão de acordo com aqueles relatados por Reiter (1973, 1984).

De acordo com Cozzi (1986), a cromatina localiza-se freqüentemente próximo à borda do núcleo. Verificamos que esta se apresentou compacta, em pequenas agregações próximas à membrana nuclear e ao nucléolo, ou dispersa pelo núcleo. Este autor mencionou ainda que mitocôndrias, alongadas ou ovais, estão dispersamente distribuídas no citoplasma, podendo, ambas, estar presentes numa mesma célula. Além disso, citou também que células intersticiais foram usualmente encontradas próximas aos espaços perivasculares.

Dentre as duas populações de pinealócitos até agora identificadas no parênquima da pineal de mamíferos, a mais abundante é aquela cujos pinealócitos são do tipo I, com citoplasma contendo vesículas granulares (PÉVET, 1977). Entretanto, segundo este autor, naqueles animais que apresentaram duas populações de pinealócitos, cada uma delas realiza processos secretórios distintos; em outras espécies, com somente um tipo, ambos processos ocorrem. Neste último caso, o pesquisador desconhece se cada célula pode realizar ambos

processos, ou se algumas são funcionalmente diferentes, e estes processos, independentes. Caso contrário, se forem relacionados, um composto secretado poderia controlar a síntese e/ou liberação do outro? Ou, indiretamente, um deles poderia tornar um órgão alvo sensível ou insensível à ação do outro componente secretado? Pévet (1977) concluiu que esta questão é impossível de ser respondida até o momento, mas sugeriu que a atividade da glândula pineal depende do estado fisiológico de outras estruturas (especificamente o hipotálamo), e que a melatonina, embora exerça pobre efeito sobre o eixo encéfalo-sistema genital, parece estar envolvida na regulação da síntese ou liberação dos princípios ativos produzidos pela glândula pineal (REITER; VAUGHAN, 1975).

Como mencionado, os pinealócitos do tipo I, predominantes na glândula pineal, são caracterizados por possuírem vesículas granulares, produzidas a partir do complexo de Golgi (COLLIN, 1969). De acordo com Cozzi (1986), estas vesículas são redondas, com conteúdo moderadamente eletrondenso, o que caracteriza a atividade secretora destas células.

De qualquer forma, o comportamento histoquímico dos pinealócitos de eqüinos confirma a hipótese de Juillard e Collin. (1980), e Pearse et al. (1979), os quais asseguraram que a glândula pineal de mamíferos exerce função neuro-endócrina, ou seja, é responsável pela produção de diferentes substâncias, implicando em processos secretórios distintos.

De acordo com Schmid e Raykhtsaum (1995), naquelas espécies nas quais somente uma população de pinealócitos tem sido descrita (toupeira, porco espinho, e rato), a dúvida é se todos os pinealócitos são capazes de produzir vesículas granulares e vacúolos, ou se as populações são dissociadas (no tempo e no espaço), em duas sub-populações, as quais são fisiologicamente diferentes; uma produzindo vesículas granulares, e outra, vacúolos.

Os pinealócitos do tipo II são caracterizados pela ausência de vesículas granulares, e têm sido negligenciados por pesquisadores cujos estudos foram essencialmente direcionados

para a função secretória de pinealócitos do tipo I. Em toupeiras e morcegos, os primeiros são caracterizados por acentuada atividade do RER (PÉVET, 1977).

Este autor sugeriu que pelo menos dois diferentes tipos de processos secretórios estão presentes em pinealócitos de mamíferos: um, caracterizado pela produção de vesículas granulares por sáculos do complexo de Golgi, as quais provavelmente contenham hormônio(s) antigonadotrópico(s); o outro, caracterizado pela presença de material originado diretamente das cisternas do RER, produzindo princípios ativos que exercem efeito antigonadotrópico.

Collin (1969) propôs que o desenvolvimento filogenético das células sensoriais em células da glândula pineal de vertebrados, a partir daquelas fotorreceptoras presentes na glândula de vertebrados não mamíferos, promoveu o aparecimento de diferentes populações de pinealócitos, as quais derivam de uma mesma linhagem de células.

À microscopia eletrônica de transmissão, observamos que os pinealócitos possuem corpos eletrondensos em seu citoplasma, o que os torna células pigmentadas. Variações no tamanho e número desses grânulos foram identificadas entre animais, assim como entre células de uma mesma glândula pineal. Alguns deles apresentaram-se muito grandes, medindo acima de 500 nm. Outros, semelhantes a desmossomos, e localizados entre duas fibras nervosas, também foram identificados.

Em suínos, Wyrzykowski et al. (1985) os caracterizaram como estruturas granulares definidas, com padrões de membranas concêntricas; e os classificaram como membranas densas livres ou corpos densos.

Ultraestruturalmente, Sheridan e Reiter (1973) classificaram as células pigmentadas como um tipo especial de pinealócitos. Em outros mamíferos, estas mesmas células são usualmente classificadas como pinealócitos; entretanto, para alguns autores, elas representam

um novo tipo de célula, diferente daqueles. Até agora nenhum papel funcional tem sido atribuído aos pigmentos da glândula pineal de mamíferos.

Baseando-se em seus aspectos morfológicos, Cozzi (1986) classificou os grânulos de pigmentos em: pequenos, de formato esférico ou oval (0,4 a 0,6 μm de diâmetro), similar a corpos densos de lisossomos, e contendo massa central escura; maiores (0,6 a 1,1 μm de diâmetro), com muitas partículas eletrondensas, as quais algumas vezes coalescem e formam grupamentos maiores; e esféricos (0,8 a 1,2 μm de diâmetro), repletos de material homogêneo e denso. Estes podem representar o estágio final de coalescência das partículas descritas acima.

Segundo o autor, uma mesma célula pode apresentar os 3 tipos de grânulos, e nenhum deles parece estar relacionado às ações de melatonina ou outra substância hormonal produzida pelos eqüinos. Além disso, pelo menos alguns destes grânulos podem ser constituídos por produtos resultantes da atividade metabólica dos pinealócitos. A presença de células pigmentadas, semelhantes a melanóforos, nos septos de tecido conjuntivo da glândula pineal de eqüinos, pode ser uma excelente explicação para a presença de grânulos de melanina neste órgão. Entretanto, Cozzi (1986) não mencionou se há relação entre estes grânulos e o processo de formação de concreções calcáreas, como suposto por nós.

A cromatina nuclear, predominantemente condensada e de formas variadas, localiza-se próxima à membrana nuclear e ao nucléolo. Este, por sua vez, está geralmente na borda do núcleo, e apresenta zonas fibrilar e granular bem distintas. Tais achados estão em concordância com aqueles descritos para eqüinos, por Cozzi (1986), Cozzi e Ferrandi (1984a, 1984b) e Pévet (1977).

Quanto aos tipos celulares presentes na glândula pineal de outras espécies, tais como humanos (GALLIANI et al., 1989; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; MOLLER, 1974; OLIVEIRA, 1998; SCHARENBERG; LISS, 1965; SCHMID; RAYKHTSAUM, 1995),

serpentes (HOLANDA-BARROS, 2002), ratos (SILVINO, 1999), coelhos (SILVINO, 1999), búfalos (CARVALHO, 1997), capivaras (BRANCO et al., 1997), cutias (SILVINO, 1992), gambás (MAÇANARES, 2004) e cães (GOMES, 2003), pudemos observar que não houve divergências em relação àqueles identificados no presente trabalho. Em consonância, Gomes (2003) concluiu que o modelo apresentado pela pineal na escala filogenética não tem sido alvo de grandes modificações; ao contrário, tem se mostrado padrão, comum às várias espécies.

No que se refere aos demais componentes celulares, presentes na glândula pineal de eqüinos, como neurônios, sinapses, ribossomos e mitocôndrias, alguns deles também foram identificados, conforme descrito também por Vigh e Vigh-Teichmann (1992).

Identificamos fibras nervosas, sendo algumas mielínicas e outras amielínicas, embora, segundo Junqueira e Carneiro (1999), os axônios perdem seus envoltórios de mielina ao penetrarem na pineal.

Quanto às terminações nervosas, estas também foram observadas e apresentaram vesículas granulares e agranulares, denominadas respectivamente de escuras e claras, presentes tanto no citoplasma de pinealócitos quanto no espaço extracitoplasmático, o que está de acordo com Karasek e Hansen (1982) e Vigh e Vigh-Teichmann (1992).

Segundo Reiter (1984), o maior indicador da atividade secretora dos pinealócitos é a presença de vesículas de secreção, com grânulos eletrondensos no seu interior, também conhecidas como vesículas granulares. Segundo o autor, estas se originam do aparelho de Golgi, e estão concentradas principalmente nas extremidades dos prolongamentos citoplasmáticos. As vesículas agranulares provavelmente constituem uma via secretora ainda não esclarecida, mas independente daquela relacionada às granulares.

Quanto às concreções calcáreas, estruturas presentes nas glândulas pineais de mamíferos e amplamente citadas na literatura (CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997;

COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; DELLMAN, 1982; HUMBERT; PÉVET, 1991, 1995; KARASEK; HANSEN, 1982; PÉVET; KARASEK, 1995; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1992, 1999; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992), estas também foram identificadas no presente estudo, em ambas as fases reprodutivas, inclusive em éguas jovens. Tal observação, referente a estes animais, está em consonância com os achados descritos por Cutore (1910), Del Rio-Hortega (1922), Legait et al. (1978) e Scharenberg e Liss (1965), mas em discordância com os relatos de Fassbender (1962), Godina (1938) e Laszlo (1934, 1935), os quais observaram tais estruturas somente em animais idosos.

Contrariamente, Cozzi e Ferrandi (1984a) não encontraram nenhuma concreção em eqüinos, embora a presença destas, em perissodáctilos, tenha sido citada por Legait et al. (1978) e Scharenberg e Liss (1965). Segundo Cozzi (1986), e Humbert e Pévet (1995), tal fato pode ser devido ao uso de diferentes fixadores, como por exemplo dicromato de potássio e Bouin, os quais, de acordo com estes autores, são capazes de dissolver corpos arenáceos.

Contudo, observamos que tais estruturas foram mais abundantes em animais mais velhos, se comparados aos jovens, confirmando os achados de Calvo et al. (1988), Carvalho (1997), Cozzi (1986), Cozzi e Ferrandi (1984a, 1984b), Dellman (1982), Humbert e Pévet (1995), Karasek e Hansen (1982), Reiter (1973, 1984) e Vigh e Vigh-Teichmann (1992), e independentemente da fase reprodutiva, confrontando os achados de Cozzi (1986), o qual relatou maior ocorrência em animais jovens.

Esta divergência de relatos suscita-nos reflexão pelo real significado da existência das concreções, as quais devem ser encaradas não como simples depósitos de minerais, mas como estruturas organizadas e funcionais. Assim, a busca pela(s) causa(s) de sua ocorrência, bem como pelos padrões como se organizam, abrem novas possibilidades de investigações científicas.

Em búfalos, Carvalho (1997) verificou que a pineal parece sofrer regressivas alterações com a idade, as quais foram atribuídas às concreções calcáreas, em detrimento do parênquima glandular. Entretanto, embora aumentem em número com o decorrer do tempo, isso não implica em diminuição da atividade do órgão, segundo a autora.

No presente trabalho verificamos que estas concreções apresentaram-se por todas as regiões da glândula, bem como nos espaços intra e extracitoplasmáticos dos pinealócitos, em diferentes tamanhos e formas (circular, oval ou irregular). Os grânulos calcáreos, predominantemente em forma de anéis completos, tiveram aspecto granular em jovens e fortemente condensado em idosos. Nos primeiros, assemelharam-se a amoras, enquanto nos demais assumiram formato ovóide. De acordo com Humbert e Pévet (1995), o aspecto das concreções calcáreas nos permite classificá-las; propuseram, os autores, a denominação “tipo I” para aquelas cujo formato lembra amora, e “tipo II” para as ovóides.

Quanto ao processo de formação de concreções calcáreas, até o momento não há uma teoria conclusiva sobre o assunto. Segundo Schmid e Raykhtsaum (1995), a natureza da biomineralização lamelar é universalmente reconhecida pelos episódios de aposição de polímeros em uma matriz extracelular (frequentemente fibras colágenas), que serve como “andaime” hidrofóbico, no qual proteínas ácidas são agregadas. A deposição sequencial de material orgânico e inorgânico cria uma aparência de bandas claras e escuras, em lamelas ou em forma retilínea. Devido ao fato da mineralização ocorrer por aposição, é razoável propor uma sucessão de estágios a partir da forma globular até aquela característica, em forma de uva ou amora. Em pineais de humanos, aqueles autores demonstraram que as concreções calcáreas são formadas de lamelas crescentes, e com o passar da idade aumentam em número, e a largura decresce. Além disso, parece que a cristalização se dá simultaneamente no centro e na periferia, sugerindo uma formação em espiral. Assim, concluem que o fato das lamelas de concreções calcáreas tornarem-se mais estreitas com a idade, seja indicativo de que repetidas

deposições de material ocorram simultaneamente a processos de remodelagem, ou à reestruturação de todas as camadas ou lamelas.

Humbert e Pévet (1995) descreveram, para ratos, uma provável seqüência, similar àquela verificada no apêndice E, figura 11B. Nesta, há vários grupamentos com diferentes concentrações de grânulos de formação calcárea, os quais acreditamos representar as etapas de formação destas estruturas; inicialmente há formação de um espaço, delimitado por membrana e com conteúdo escasso; posteriormente, ocorre preenchimento parcial do espaço, por estrutura de aspecto eletrondenso; em seguida, há quase completo preenchimento, sendo que o material assume aspecto granular; finalmente, ocorre homogeneização do conteúdo, caracterizando concreção calcárea típica.

Para Reiter (1973), a formação destas concreções se dá em proteínas transportadoras dos hormônios produzidos pela pineal, denominadas pinealofisinas, e parece estar relacionada à exocitose presente no processo de secreção da glândula.

Baseando-nos em nossos resultados, acreditamos que a teoria de extravasamento de concreções para o meio extracelular seja verdadeira, pois ao verificarmos o apêndice E, figuras 12D, e 13A e B, observamos rupturas na membrana nuclear de pinealócitos, assim como no apêndice E, figura 12B, núcleos íntegros ou degenerados. Além disso, no apêndice E, figura 11, notam-se concreções calcáreas com envoltório preservado (E) ou rompido (D). Finalmente, como se observa no apêndice E, figura 11, constatamos a presença de concreções calcáreas tanto no citoplasma de um pinealócito, quanto no espaço extracelular, mais precisamente na periferia da glândula pineal (Apêndice E, Figura 12A); ou em contato com fibras nervosas (Apêndice E, Figuras 13C e D). Assim, sugerimos que estas estruturas formam-se no interior do núcleo e/ou citoplasma celular e, posteriormente, migram para o espaço extracitoplasmático e/ou extracelular.

Krstić (1985) sugeriu que altas concentrações de cálcio predisõem à formação de concreções calcáreas, fato comprovado por Humbert e Pévet (1991). Estes últimos observaram, em ratos idosos, que apresentavam grande quantidade de concreções calcáreas, concentrações de cálcio na glândula pineal muito mais elevadas se comparadas às de ratos jovens. Segundo estes últimos autores, as maiores concentrações de cálcio foram encontradas em pinealócitos escuros e, por isso, acreditam que as concreções originam-se nestas células. Além disso, observaram acúmulo de material eletrondenso em vesículas, vacúolos, mitocôndrias e gotas lipídicas, e sugeriram que estas organelas estejam envolvidas na gênese das concreções calcáreas, por representarem possíveis sítios de formação com deposições sucessivas de material.

Lukaszyk e Reiter (1975) acreditam que, embora o espaço intracelular seja o local clássico de mineralização, a rota extracelular parece ser também uma possível alternativa, visto que acúmulos de moléculas de cálcio foram também observados no espaço extracelular.

Paralelamente, Lehninger (1970), Somlyo (1984) e Wuthier (1985) defendem que a formação de concreções calcáreas se inicia dentro da célula, em retículo endoplasmático e mitocôndrias; nestas, o acúmulo de cálcio promove inchamento e causa perda de função da organela. Entretanto, para Krstić (1985, 1986), Reiter et al. (1976), Welsh (1984, 1985) e Welsh e Reiter (1978), as concreções calcáreas desenvolvem-se dentro de vacúolos de pinealócitos, com a participação de lipídeos e fibras colágenas. Os autores sugeriram que estas fibras sejam capazes de acumular cálcio e fósforo e que possam, então, atuar como sítios de enucleação, levando à precipitação de cristais de hidroxiapatita e, conseqüentemente, servirem como importantes iniciadores do processo de mineralização, inclusive no espaço extracelular.

Para Morton e Reiter (1992), considerando que o cálcio participa da biossíntese de melatonina, é muito provável que um desbalanço na homeostase desta substância contribua para formação das concreções calcáreas. Segundo estes, tais estruturas resultam de uma

disfunção celular, a qual é consequência de fatores primários ou secundários, associada à idade. Assim, as concreções iniciam-se no citoplasma dos pinealócitos, com a participação de vesículas lipídicas e citoesqueletos; posteriormente, alcançam o espaço extracelular, tendo como estruturas formadoras as fibras colágenas.

Contrariamente, Bojkowski e Arendt (1990), assim como Commentz et al. (1986) e Humbert e Pévet (1991), acreditam que o aparecimento de concreções calcáreas independe da produção de melatonina, visto que em todos mamíferos ocorre síntese deste hormônio, mas alguns não apresentam calcificações, fato este também constatado por Gomes (2003), em cães.

Entretanto, aqueles autores admitem que, por apresentarem a mesma matéria-prima presente no esmalte dos dentes, as concreções calcáreas se organizam conforme o padrão identificado em alvéolos dentários, determinado por código morfo-genético, o qual se manifesta com o avanço da idade. Inicialmente formam-se no interior da célula, em vesículas lipídicas, orientadas por citoesqueleto de tecido conjuntivo; posteriormente, alcançam o espaço extracelular, no qual utilizam fibras colágenas como base para sua formação.

Segundo Lukaszyk e Reiter (1975) e Reiter et al. (1976), a concentração de cálcio é diretamente proporcional à quantidade de tecido conjuntivo fibroso, e depósitos intracelulares são deslocados para o espaço extracelular. Entretanto, distrofias de células da glândula pineal, secundárias à deposição de cálcio, até agora não foram comprovadas.

A constatação de quantidades crescentes de concreções calcáreas, em pinealócitos vacuolizados de gerbil, levou Japha et al. (1976), Lukaszyk e Reiter (1975) e Welsh e Reiter (1978) a sugerirem que células em estágio de hipersecreção provavelmente passem por mudanças distróficas, sendo estas o fator desencadeante para ocorrência das concreções.

Segundo Lima et al. (2003), há bases morfológicas que sustentam a hipótese da origem matricial conjuntiva. No entanto, o autor não descarta a possibilidade de que as duas hipóteses estejam associadas aos processos de formação de concreções calcárias.

Considerando as várias similaridades entre as concreções calcárias da glândula pineal, a dentina e esmalte dentário e o tecido ósseo, Bocchi e Valdre (1993) admitem que as concreções calcárias sejam mais um produto fisiológico que patológico. Entretanto, como mencionado por Boskey (1989) e Wuthier (1985), muitos processos fisiológicos de biomineralização parecem ser desencadeados por células distróficas, cujos fragmentos de membrana servem como pontos de cristalizações. Paralelamente, Mann (1993) acredita que focos de mineralização também possam ocorrer por fenômenos eletrostáticos ou por interação estrutural e estereoquímica, embora não esclareça tais teorias.

Szymonowicz e Krauze (1935) afirmaram que a presença de concreções calcárias é decorrente de processos degenerativos da pineal. Entretanto, Bargmann (1943) propôs uma associação de ambos fatores, idade e eventos degenerativos da glândula pineal, como desencadeadores da formação destas estruturas.

De acordo com nossos achados, acreditamos também haver uma associação de causas; na nossa opinião a idade desencadeia os processos degenerativos, e esses, as concreções calcárias.

Segundo Carvalho (1997) e Reiter (1973), essas concreções parecem não interferir no funcionamento do órgão, observação também defendida por nós.

Quanto à mensuração de área dos pinealócitos, podemos observar que, ao contrário do que imaginávamos, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre a média das áreas das 1.920 células mensuradas em cada faixa etária, quando comparadas entre si e/ou entre fases, embora seja possível verificar um discreto predomínio de células maiores nos animais em anestro fisiológico (2ª Fase).

Apesar de não termos encontrado nenhuma referência na literatura consultada, e em qualquer espécie, acreditamos poder concluir que a idade, fase reprodutiva, bem como a interação entre elas não interferem, de forma expressiva, no tamanho dos pinealócitos. A diferença relativa a estas células, entre animais em atividade reprodutiva ou em anestro fisiológico, refere-se ao número, como será visto em seguida.

Assim, no que tange à avaliação da densidade de pinealócitos, em ambas as fases, a quantidade de células por animal não foi influenciada ($P > 0,05$) pela idade. Entretanto, confrontando-se as duas fases, a diferença foi significativa ($P < 0,05$), havendo maior densidade de pinealócitos na glândula pineal dos animais trabalhados na 2ª fase, bem como entre aqueles da mesma faixa etária em uma mesma fase reprodutiva, o que demonstra a existência de interação entre “fase reprodutiva x idade”. Assim, podemos concluir que tanto nos animais jovens quanto nos idosos, há maior densidade de pinealócitos quando se encontram em anestro fisiológico, se comparados àqueles em atividade reprodutiva.

Também para este parâmetro, a literatura consultada é extremamente escassa, senão inconsistente. Rao e Saigal (1971) observaram, em cabras, progressivas alterações degenerativas com a idade, as quais foram evidenciadas pela redução da densidade de células parenquimais por unidade de volume do órgão.

No que se refere a raposas, Karasek e Hansen (1982) avaliaram glândulas pineais de dez animais e, após contagem de apenas 2.041 células, concluíram que os pinealócitos do tipo I foram as células mais numerosas (56,01%), seguidas pelos do tipo II (39,27%) e pelos astrócitos (4,72%). Além de terem considerado uma amostragem pouco expressiva (cerca de 204 células por animal), os autores não mencionaram se a quantidade e/ou proporcionalidade destas estruturas diferiu(ram) em virtude de alguma variável considerada.

Relativamente a búfalos, ao contrário do que observamos, Rao e Saigal (1971) citaram que a densidade de pinealócitos foi maior em bezerros (7,507 células por mm^2) do que em

animais adultos (5,079 células por mm^2). Nesta mesma espécie, em animais de 20 a 58 meses, Carvalho (1997) relatou densidade volumétrica média de pinealócitos da ordem de $31,77 \pm 2,61\%$ do volume total da glândula, embora a autora não tenha citado o valor por unidade de área.

Em pineal de ratos, Ito e Matsushima (1968) verificaram que a densidade média destas células foi de 4,116 células por mm^2 . Também nesta espécie, embora não tenha especificado a metodologia empregada, Silvino (1999) verificou média de 1,13 célula/ mm^2 ; em coelhos, a autora encontrou 1,60 célula/ mm^2 .

No que tange a esta última variável, apesar das diferenças inerentes às espécies abordadas, e considerando que a glândula pineal não tem sido alvo de grandes modificações na escala filogenética, como proposto por Gomes (2003) e defendido por nós, podemos verificar uma grande discrepância entre nossos valores e aqueles apresentados pelos respectivos autores, não nos sendo possível qualquer forma comparativa.

Diante do exposto, podemos concluir, baseando-nos apenas em nosso trabalho, que as populações de pinealócitos dos tipos I e II, consideradas como um todo, foram indubitavelmente influenciadas pela fase reprodutiva na qual se encontravam os animais; aqueles analisados durante a estação de monta (1ª Fase) apresentaram média de 2.904 células, contrapondo-se a 5.493 pinealócitos para o grupo em anestro fisiológico (2ª Fase).

A explicação que supomos ser possível baseia-se na ação da melatonina, já descrita, e no fato de os equinos apresentarem hábitos reprodutivos sazonais. É sabido que este hormônio, sintetizado pelos pinealócitos, inibe a atividade das gônadas. Assim, na época de acasalamento (ou estação de monta), a qual coincide com a 1ª fase do experimento em questão, a concentração sanguínea de melatonina deve ser menor, fato que justifica a baixa atividade glandular e, conseqüentemente, menor densidade de pinealócitos presentes na pineal. O contrário ocorre quando consideramos a 2ª fase (anestro fisiológico); nesta situação,

o que impede que os animais ciclem são as altas concentrações de melatonina. Para tanto, pressupõe-se grande atividade da glândula pineal e, portanto, maior densidade de pinealócitos sintetizando melatonina.

A significativa diferença entre as médias observadas (2.904 células na 1ª Fase e 5.493 na 2ª Fase) leva-nos a admitir a possibilidade de que exista um processo de neoformação de pinealócitos, uma vez que estes aumentam em número e não em volume. Entretanto, não encontramos nenhuma referência na literatura consultada que pudesse elucidar esta questão. Assim, sendo células neoformadas, estas poderiam ser originadas no parênquima da própria glândula, ou advirem de outro local, como por exemplo da camada de células-tronco, de localização justa-epêndimária, em relação ao terceiro ventrículo.

Tais hipóteses, além de suscitarem curiosidade e interesse, representam novos campos de pesquisas para futuras investigações científicas.

As presentes observações sugerem que a glândula pineal de eqüinos, assim como a de outros mamíferos (CALVO et al., 1988; CARVALHO, 1997; COZZI, 1986; COZZI; FERRANDI, 1984a; DELLMAN, 1982; GOMES, 2003; HUMBERT; PÉVET, 1995; KARASEK; HANSEN 1982; REITER, 1973, 1984; SILVINO, 1999, 1992; VIGH; VIGH-TEICHMANN, 1992) pertence ao sistema neuro-endócrino, o qual exerce efeitos regulatórios diretos e indiretos sobre a concentração hormonal, modulando ritmos reprodutivos sazonais. Esta atividade é atribuída aos pinealócitos de diferentes populações, as quais parecem ser morfológica, mas não histoquimicamente distintas.

Como visto, os estudos sobre características morfométricas, mesoscópicas, microscópicas e ultra-estruturais da glândula pineal de eqüinos, assim como sua constituição celular são ainda muito escassos, o que faz deste assunto um grande desafio para a neurociência, justificando, assim, a continuidade de pesquisas que abordem tais aspectos.

Do que foi exposto, julgamos poder concluir que:

- ✚ A glândula pineal, presente em todos os animais estudados, mostrou localização coincidente com a descrita pela literatura, ou seja, em correspondência ao plano sagital mediano, posicionada dorso-caudalmente à aderência inter-talâmica, e ventralmente ao esplênio do corpo caloso;
- ✚ Nas éguas estudadas, este órgão apresentou-se de formato ovóide ou piriforme, podendo ser classificado como do tipo A, segundo critério de Vollrath (1979) e também como sub-calosa, conforme protocolo estabelecido por Blin e Maurin (1956);
- ✚ Em todos os casos analisados a glândula mostrou-se envolvida por cápsula de tecido conjuntivo, cuja espessura não variou em função da fase reprodutiva. Dela partem septos que, acompanhados por vasos sanguíneos, dividem o parênquima glandular em lóbulos;
- ✚ Não foi encontrada correspondência entre o tamanho do encéfalo e o da respectiva glândula pineal;
- ✚ Os principais componentes celulares das glândulas pineais estudadas são as células da glia (astrócitos) e os pinealócitos. A área destes não diferiu ($P>0,05$) entre os animais e fases reprodutivas;
- ✚ A densidade de pinealócitos no tecido glandular não foi influenciada ($P<0,05$) pela faixa etária, mas foi significativamente maior ($P>0,05$) no grupo de animais em

anestro fisiológico, fato que revela a existência de um processo de neoformação de pinealócitos;

- ✚ Nas glândulas pineais analisadas, as fibras elásticas apresentam-se de maneira uniforme, tanto nas éguas em atividade reprodutiva quanto fora dela, registrando-se, entretanto, maior quantidade nos animais jovens;
- ✚ O tecido conjuntivo, como um todo, apresentou-se em menor quantidade nas éguas em anestro fisiológico, enquanto o tecido conjuntivo fibroso mostrou-se mais abundante nas éguas idosas;
- ✚ As fibras colágenas, presentes nas glândulas pineais em todos os quatro grupos de animais, são evidenciadas como do tipo I (amarelo, laranja e vermelho) e III (verde);
- ✚ Concreções calcárias mostraram-se presentes em todas as glândulas, independentemente da idade e/ou fase reprodutiva, localizando-se no núcleo, citoplasma ou no espaço extracelular;
- ✚ Os núcleos dos pinealócitos mostram corpos eletrondensos, sendo que a cromatina nuclear, predominantemente condensada, assumiu disposições variadas, localizando-se próximo à membrana nuclear e ao nucléolo; este, freqüentemente localizado junto à margem do núcleo, com zonas fibrilar e granular bem distintas;

- ✚ O citoplasma dos pinealócitos, no qual são identificadas, em toda extensão, mitocôndrias alongadas, mostrou-se geralmente reduzido a estreita faixa ao redor do núcleo, exibindo, entretanto, variável número de expansões ou prolongamentos;
- ✚ Foram identificadas fibras nervosas, sendo algumas mielínicas, além de terminações nervosas, com vesículas granulares e agranulares, presentes tanto no citoplasma de pinealócitos quanto no espaço extracitoplasmático;
- ✚ Foi observada a presença de materiais eletrondensos no citoplasma de pinealócitos, sendo alguns deles muito grandes, medindo acima de 500 nm;
- ✚ As glândulas pineais analisadas mostraram características morfológicas diferentes, de acordo com a fase reprodutiva na qual se encontravam as éguas; naquelas em atividade reprodutiva (1ª Fase) pode-se evidenciar maior quantidade de tecido conjuntivo como um todo, e de fibras colágenas do tipo I (amarelo, laranja e vermelho). Em contrapartida, os animais em anestro fisiológico (2ª Fase) apresentaram maior quantidade de fibras colágenas do tipo III (verde), bem como maior densidade de pinealócitos.

ADAMS, G. P.; BOSU, W. T. K. Reproductive physiology of the nonpregnant mare. **Veterinary Clinics of North America – Equine Practice**, v. 4, n. 2, p. 161-176, 1988.

ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Control of the mare's oestrous cycle by prostaglandins. **Journal Reproduction Fertility**, v. 33, p. 539, 1973.

ANDERSON, E. The Anatomy of bovine and ovine pineals. Light and electron microscopic studies. **Journal of Ultrastructure Research**, n.12, p.1-80, 1965. Supplement 8.

ANDRADE, L. S. de; **Fisiologia e manejo da reprodução eqüina**. 2. ed. Pernambuco: [s.n.], 1986. 388 p.

ANGERVALL, L. A microradiographic and X-ray crystallographic study of calcium in the pineal body and intracranial tumors. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, v. 44, p. 113-119, 1958.

ARENDT, J. Melatonin and the mammalian pineal gland. London: **Chapman and Hall**, 1995. ___ p.

ARENDT, J. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. **Reviews of Reproduction**, n. 3, p. 13-22, 1998.

ARSTILA, A. U. Electron microscopic studies on the structure and histochemistry of the pineal gland of the rat. **Neuroendocrinology**, v. 2, p. 1-101, 1967.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 2. ed. Piracicaba: FCAV-UNESP; Funep, 1992. ___ p.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.

BARGMANN, W. Die epiphysis cerebri. In: VON MÖLLENDORFF, W. **Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen**. Berlin: Springer Verlag, 1943. v. 6, n. 4, p. 309-505.

BENSON, B.; SATTERFIELD, V. Ultrastructural characteristics of mouse pinealocytes following optic enucleation or continuous illumination. **Anatomical Record**, v. 181, p. 312-___, 1975.

BERGLUND, L. A.; SHARP, D. C.; GRUBAUGH, W. R. Effects of constant darkness on melatonin rhythms in pony mares. **Biology of Reproduction Supplement**, v. 24, n. 1, p. 71, 1981. __ p.

BINKLEY, S. **The pineal** - endocrine and nonendocrine function. London: Englewood Cliffs, Prentice Hall, 1988.

BLIN, P. C.; MAURIN, C. Anatomie macroscopique de l'épiphyse des mammifères domestiques. **Recueil Medicine Vétérinaire**, v. 132, p. 36-52, 1956.

BOCCHI, G.; VALDRE, G. Physical, chemical and mineralogical characterization of carbonate-hydroxyapatite concretions of the human pineal gland. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 49, p. 209-220, 1993.

BOJKOWSKY, C. J.; ARENDT, J. Factors influencing urinary 6-sulphatoxymelatonin, a major melatonin metabolite, in normal human subjects. **Clinical Endocrinology**, v. 33, p. 435-444, 1990.

BOSKEY, A. Phospholipids and calcification. In: HUKINS, D. W. L. (Ed.). **Calcified Tissue**, Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 215-245.

BRANCO, E. R.; GUIMARÃES, A.; MIGLINO, M. A.; DIDIO, L. J. A.; NURMBERGER, R.; SOUZA, W. M. Pesquisa anatômica da glândula pineal em capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n. 4, p. 191-195, 1997.

BRANCOFT, J. D.; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques**. 2. ed. Churchill Livingstone, 1982. __ p.

BRUNI, A. C.; ZIMMERL, U. **Anatomia degli animali**. Milano: Francesco Vallardi, 1947. v. 2, p. 268.

CABRAL, L. G. **Comportamento da artéria ovárica em éguas sem raça definida. (Equus caballus, LINNAEUS, 1758)**. 2002. 218 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

CALVO, J.; BOYA, J. Oxytalan fibres in the rat pineal gland. **Journal of Anatomy**, v. 136, p. 363-6, 1983a.

CALVO, J.; BOYA, J. Postnatal development of cell types in rat pineal gland. **Journal of Anatomy**, v. 137, p. 185-195, 1983b.

CALVO, J.; BOYA, J. Structure and ultrastructure of the aging rat pineal gland. **Journal of Pineal Research**, v. 1, p. 83-89, 1984.

CALVO, J.; BOYA, J.; GARCIA-MAURÍN, J. E.; LOPEZ-CARBONELL, A. Structure and ultrastructure of the pigmented cells in the adult dog pineal gland. **Journal of Anatomy**, v. 160, p. 67-73, 1988.

CARVALHO, A. F. **Histologia e histometria da glândula pineal de búfalo (*Bubalus bubalis* – Lineaus, 1758)**. 1997. 117 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1997.

CARVALHO, A. F.; SANTOS, T. C. **Glândula pineal**. 1998. In: Seminário – Fmvz, Universidade de São Paulo, 1998.

CHEMINEAU, P. Medio ambiente y reproducción animal. **World Animal Review**, n. 77, p. 2-14, 1993.

CIPPOLA NETO, J. **Controle neural do metabolismo da glândula pineal**. 1996. ___ f. Tese (Livre Docência) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

CIPPOLA NETO, J.; AFECHÉ, S. C. Glândula pineal: fisiologia celular e função. In: WAJCHENBERG, B. L. **Tratado de endocrinologia clínica**. São Paulo: Roca, 1992, p. 83-93.

COLLIN, J. P. Contribution à l'étude de l'organe pinéal. De l'épiphyse sensorielle à la glande pinéale: modalités de transformation et implications fonctionnelles. **Ann. Stat. Biol. de Besse en Chandesse**, p. 1-359, 1969. Supplement 1.

COLLIN, J. P.; CALAS, A.; JUILLARD, M. T. The avian pineal organ. Distribution of exogenous indoleamines: A qualitative study of the rudimentary photoreceptor cells by electron microscopic radioautography. **Experimental Brain Research**, v. 25, p. 15-33, 1976.

COLQUHOUN, K. M.; ECKERSALL, P. D.; RENTON, J. P.; DOUGLAS, T. A. Control of breeding in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 19, n. 2, p. 138-142, 1987.

COMMENTZ, J. C.; FISCHER, P.; STEGNER, H.; WINKLER, P.; HELMKE, K.; WILLIG, R. P. Pineal calcification does not affect melatonin production. **Journal of Neural Transmission**, v.21, p. 481-502, 1986. Supplement 21.

COZZI, B. Cell types in the pineal gland of the horse: an ultrastructural and immunocytochemical study. **The Anatomical Record**, v. 216, n. 2, p. 165-174, 1986.

COZZI, B.; FERRANDI, B. Fine structure and histochemistry of the equine pineal gland, with special reference to the possible functional role of the electron-dense intrapinealocyte bodies. **Clinica Veterinaria**, v. 107, p. 337-346, 1984a.

COZZI, B.; FERRANDI, B. The pineal gland of the horse. Morphological and histochemical results (With notes on the donkey and mule pineal). **Basic and Applied Histochemistry**, v. 28, n. 1, p. 81-90, 1984b.

CUTORE, G. Il corpo pineale di alcuni mammiferi. **Archivio Italiano di Anatomia e di Embriologia**, v. 9, p. 402-464, 1910.

DARAMOLA, G. F.; OLORU, A. O. Physiological and radiological implications of low incidence of pineal calcification in Nigeria. **Neuroendocrinology**, v. 9, p. 41-57, 1972.

DEL RIO-HORTEGA, P. Constitucion histologica de la glandula pineal. **Archivos de Neurobiología**, v. 3, p. 359-389, 1922.

DELLMAN, H. D. Sistema endócrino. In: DELLMAN, H. D.; BROW. M. E. (Ed.). **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 397 p.

DELLMAN, H. D.; BROWN, E. M. **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p. 305.

DIDIO, J. A. L. **Tratado de anatomia sistêmica aplicada**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. v. 2, 948 p.

DIEKMAN, M. A.; BRAUN, W.; PETER, D.; COOK, D. Seasonal serum concentrations of melatonin in cycling and noncycling mares. **Journal Animal Science**, n. 80, p. 2949-2952, 2002.

DIELEMAN, S. J.; BEVERS, M. M. Effects of monoclonal antibody against PMSG administered shortly after the preovulatory LH surge on time and number of ovulations in PMSG/PG-treated cows. **Journal Reproduction Fertility**, n. 81, p. 533-542, 1987.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Textbook of veterinary anatomy**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1987. p. 207.

EARLE, K. M. X-ray diffraction and other studies of the calcareous deposits in human pineal glands. **Journal of Neurology**, v. 24, p. 108-118, 1965.

EBLING, F. J. P.; HASTINGS, M. H. The neural basis of seasonal reproduction. **Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska. Section EE, Zootechnica**, v. 41, n. 3-4, p. 239-246, 1992.

ELLSWORTH, A. F.; YANG, T. J.; ELSSWORTH, M. L. The pineal body of the dog. **Acta Anatomica**, v. 122, p. 197-200, 1985.

ERHART, E. A. **Neuroanatomia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1962. ___ p.

EVANS, H. E.; MILLER, M. E. **Evans-Miller's anatomy of the dog**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1993. p. 572 – 573.

FASSBENDER, E. Topographie und mikroskopisch-anatomischer Feinbau der Epiphysis cerebri des Pferdes. **Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch**, v. 103, p. 457-483, 1962.

FAVALLI, N. **Nozioni comparate di anatomia e fisiologia degli animale rurali**. Torino: Unione Tipografico, 1931. p. 147.

GALLIANI, I.; FRANK, F.; GOBBI, P.; GIANCASPERO, F.; FALCIERI, E. Histochemical and ultrastructural study of the human pineal gland in the course of aging. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v. 21, p. 571-578, 1989.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Color atlas of histology**. 2. ed. [S.I.]: Ed. William & Wilkins, 1994. ___ p.

GERLACH, F. Untersuchungen an der Epiphysis cerebri von Pferde. **Anatomischer Anzeiger**, v. 50, p. 49-65, 1917.

GINTHER, O. J. **Reproductive biology of the mare**. Madison: Wisconsin, 1979. 413 p.

GODINA, G. Sulla fine struttura dell'epiphysis cerebri di alcuni mammiferi domestici. **Archivio Italiano di Anatomia e di Embriologia**, v. 40, n. 4, p. 459-490, 1938.

GOMES, L. A. **Estudo morfológico da glândula pineal no cão**. 2003. 82 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GOMEZ DUMM, C. L. A.; ITURRIZA, F. C. On the presence of Conspicuous Electron Dense Bodies in the Pinealocytes of the Pig. **Cell and Tissue Research**, v. 201, p. 507-510, 1979.

GUILLAUME, D.; PALMER, P. Effect of oral melatonin on the date of the first ovulation after ovarian inactivity of mares under artificial photoperiod. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, p. 249-257, 1991.

GUTTE, G.; GRUTZE, I. Histochemische Untersuchungen an den Parenchymzellen der Epyphysis cerebri von Rind (*Bos taurus domesticus*) und Schwein (*Sus scrofa domesticus*). **Acta Histochemica**, v. 60, p. 204-210, 1977.

GUTTE, G.; GRUTZE, I. Morphologische Veränderungen an der Epyphysis cerebri von Hausschweinen (*Sus scrofa domesticus*) in Abhängigkeit vom Licht. **Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin**, v. 33/36, p. 899-907, 1979.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1988. 720 p.

HAM, A.W.; CORMACK, D.H. Sistema endócrino. In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. p.777-779.

HASTINGS, M. H.; EBLING, F. J. P. The neural basis of seasonal reproduction. **Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska. Section EE, Zootechnica**, v. 41, n. 3-4, p. 239-246, 1992.

HEINZELLER, T. Impact of psychological stress on pineal structure of male gerbils (*Meriones unguiculatus*, Cricetidae). **Journal of Pineal Research**, v. 2, p. 145-159, 1985.

HENRY, M. R. J. M. **Some special aspects of the physiopathology of reproduction in mares**. 1981. 219 p. Proefschrift (geaggregeerde) – Faculteit van de Diergeneeskunde. Rijksuniversiteit Gent, Gent, 1981.

HENRY, M. R. J. M.; GASTAL, E. L.; ALLEN, W. R.; PINHEIRO, L. E. L. Placentação e alguns parâmetros reprodutivos de uma mula fértil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL**, 8., 1989, Belo Horizonte. **Anais...** 1989. v. Supplement 1. p. 149.

HENRY, M. R. J. M.; GASTAL, E. L.; PINHEIRO, L. E. L.; GUIMARAES, S. E. F. Matting pattern and chromosome analysis of a mule and her offsprings. **Biology of Reproduction**, v. 1, p. 273-279, 1995.

HENRY, M. R. J. M.; GASTAL, E. L.; PINHEIRO, L. E. L.; GUIMARÃES, S. E. F. Uma mula fértil: relato de um caso. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION EQUINA DEL EJERCITO ARGENTINO**, 1., 2002, Tandil. **Anais...** 2002. v. 1. p. 1-2.

HING-SING, Y. U.; REITER, R. J. Melatonin and reproduction in sheep and goats. En melatonin: **biosynthesis, physiological effects and clinical applications**. H. S. Yu y R.J. Reiter, ed., CRC Press, Boca Publ., p. 2-7, 226-244, 1993.

HOLANDA-BARROS, P. M. **Estudo da pineal em jararacas (*B. jararaca*) e cascavéis (*C. durissus*)**. 2002. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

HONTANG, M. **A psicologia do cavalo-1**. 2. ed. Rio de Janeiro: Globo, 1989. 11 p.

HOPSU, V. K.; ARSTILA, A. V. An apparent somatosomatic structure in the pineal of the rat. **Experimental Cell Research**, v. 37, p. 484-487, 1965.

HÜLSEMAN, M. Vergleichende histologische Untersuchungen über das Vorkommen von Gliafasern in der Epiphysis cerebri von Säugetieren. **Acta Anatomica**, v. 66, p. 249-278, 1967.

HUMBERT, W.; PÉVET, P. Calcium concretions in the pineal gland of age rats: ultrastructural and microanalytical study of their biogenesis. **Cell and Tissue Research**, v. 279, n. 3, p. 565-573, 1995.

HUMBERT, W.; PÉVET, P. Calcium content and concretions of pineal glands of young and old rats. A scanning and X-ray micro analytical study. **Cell and Tissue Research**, v. 263, p. 593-596, 1991.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina anatomica veterinaria**. 4. ed. Zurich, 1994. (Together with nomina histologica, 2. ed., 1992 and nomina embriologica veterinaria, 1992).

ITO, T.; MATSUSHIMA, S. Electron microscopic observations on the mouse pineal, with particular emphasis on its secretory nature. **Archivum Histologicum Japonicum**, v. 30, p. 1-15, 1968.

JAPHA, J. L.; EDER, T. J.; GOLDSMITH, E. D. Calcified inclusions in the superficial pineal gland of the Mongolian gerbil. **Acta Anatomica**, v. 94, p. 533-544, 1976.

JORDAN, H. E. The microscopy anatomy of the epiphysis of the opossum. **The Anatomy Record**, v. 5, n. 7, p. 325-338, 1911.

JUILLARD, M. T.; COLLIN, J. P. Pools of serotonin in the pineal gland of the mouse: The mammalian pinealocyte as a component of the diffuse neuroendocrine system. **Cell and Tissue Research**, v. 213, p. 273-291, 1980.

JUNQUEIRA, L. C. U.; BIGNOLAS, G.; BRETANI, R. Picrossirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, v. 11, p. 447-455, 1979.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 353 p.

KAPPERS, J. A. **Correlative anatomy of the nervous system**. New York: The MacMillan Company, 1962. p. 268-271.

KAPPERS, J. A. **The pineal organ: introduction** – the pineal gland. Churchill Livingstone: Ciba Foundation Symposium, 1971. ___ p.

KAPPERS, J. A.; HUBER, C.; CROSBY, E. C. **The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates, including man**. New York: Hafner Publishing, 1960. v. 2, p. 1100-1101.

KARASEK, M. The role of the pineal body in mammals. **Pol. Endocr.**, v. 22, p. 315-327, 1971.

KARASEK, M.; HANSEN, J. T. Ultrastructure of the pineal gland of the fox. **The American Journal of Anatomy**, n. 163, p. 257-267, 1982.

KARASEK, M.; WYRZYKOWSKI, Z. Ultrastructure of the pig pinealocytes. **Cell and Tissue Research**, n. 211, p. 151-161, 1980.

KILMER, D. M.; SHARP, D. C.; BERGLUND, L. A.; GRUBAUGH, W.; McDOWELL, K. J.; PECK, L. S. Melatonin rhythms in pony mares and foals. **Journal of Reproduction and Fertility**, n. 32, p.303-307, 1982. Supplement.

KITAY, J. I.; ALTSCHULE, M. D. **The pineal gland** – a review of the physiologic literature. Cambrige: Harvard University Press, 1954. ___ p.

KITAY, J. I.; ALTSCHULE, M. D. **The pineal gland**. In: _____; BINKLEY, S. The pineal: endocrine and nonendocrine function. London: Englewood Cliffs, Prentice Hall, 1988. ___ p.

KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. p. 59-60.

KOSKINEN, E.; KUNTSI, H.; LINDEMBERG, H.; KATILA, T. Predicting ovulation in the mare on the basis of follicular growth and serum oestrone sulfate and progesterone levels. **Journal of Veterinary Medicine – Series A**, v. 36, n. 4, p. 299-304, 1989.

KRSTIC', R. Pineal calcification: its mechanism and significance. **Journal of Neural Transmission**, v. 21, p. 415-432, 1986. Supplement.

KRSTIC', R. Ultracytochemical localization of calcium in the superficial pineal gland of the Mongolian gerbil. **Journal of Pineal Research**, v. 2, p. 21-38, 1985.

LANZ, A. Über das Gewicht der Zirbeldrüse des Pferdes. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 1, p. 6-7, 1941.

LASZLO, F. Beiträge zur pathologischen Anatomie und Histologie der Zirbel. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 43, n. 42, p. 685-689, 1934.

LASZLO, F. Weitere Beitrage zur vergleichenden pathologischen Anatomie der Zirbel. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 16, n. 43, p. 245-247, 1935.

LEGAIT, H.; LEGAIT, E.; OBOUSSIER, H. Recherches sur la glande pineale des ongles. **Bulletin de l'Association des Anatomistes**, v. 62, n. 176, p. 101-111, 1978.

LEHNINGER, A.L. Mitochondria and calcium ion transport. **Biochemical Journal**, v. 119, p. 129-138, 1970.

LERNER, A. B. The Pineal. In: WILLIAMS, R. **Textbook of endocrinology**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1962. p. 880.

LERNER, A. B.; CASE, J. S.; TAKAHASHI, Y.; LEE, T. H.; MORI, W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. **Journal of American Chemistry Society**, n. 80, p. 2587, 1958.

LESSON, C. R.; LESSON, T. S. **Histologia**. 6. ed. São Paulo: Interamericana, 1977, p. 421-424.

LIMA, L. C. N.; PEREIRA, K. F.; CONEGERO, C. I. Estudo da glândula pineal de suínos por meio de microscopia de luz. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 453-458, 2003.

LOTUFO, C. M. C. **Efeito da melatonina sobre as alterações vasculares que caracterizam a inflamação aguda**. 2003. 88 f. Dissertação (Doutorado em Fisiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

LUKASZYK, A.; REITER, R. J. Histophysiological evidence for the secretion of polypeptides by the pineal gland. **American Journal of Anatomy**, v. 143, p. 451-464, 1975.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia funcional**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 363 p.

MACHADO, A. B. M. Dados histológicos e embriológicos sobre a região pineal em alguns marsupiais brasileiros. **Ciência e Cultura**, v. 17, n. 2, p. 249, 1965.

MACHADO, G. V. **Determinação das idades dos eqüinos pelo exame dos dentes**. Viçosa: Departamento de Medicina Veterinária, 1992. 10 p. Apostila.

MAÇANARES, C. A. F. **Morfologia da glândula pineal de gambás (*Didelphis sp*)**. 2004. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MANN, S. Molecular tectonics in biomineralization and biomimetic materials chemistry. **Nature**, v. 365, p. 499-505, 1993.

MARTINEZ-SORIANO, F.; WELKER, H. A.; VOLLRATH, L. Correlation of the number of pineal “synaptic” ribbons and spherules with the level of serum melatonin over a 24-hour period in male rabbits. **Cell and Tissue Research**, v. 236, p. 555-560, 1984.

McDOWELL, E.; TRUMP, B. F. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 100, p. 405-413, 1976.

McNULTY, J. A.; HAZLETT, J. The pineal region in opossum, *Didelphis virginiana*. I. Ultrastructural observations. **Cell and Tissue Research**, v. 207, n. 1, p. 109-121, 1980.

MIKAMI, S. Cytological and histochemical studies of the pineal bodies of domestic animals. **Tohoku Journal Agriculture Research**, v. 2, p. 41-48, 1951.

MOLLER, M. The ultrastructure of the human fetal pineal gland. 1. Cell types and blood vessels. **Cell and Tissue Research**, v. 152, p. 13-30, 1974.

MORROW, D. A. **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986. 1143 p.

MORTON, D. J.; REITER, R. J. Involvement of calcium in pineal gland function. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 197, p. 378-383, 1992.

NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 60/61, p. 245–262, 2000.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A. S.; SEIFERLE, E. **The viscera of the domestic mammals**. Berlin: Paul Parey, 1979, p. 385-386.

NORRIS, D. O.; JONES, R. E. **Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles**. New Cork: Plenum Press, 1987, p. 449-455.

NUSSHAG, W. **Compendio de anatomía y fisiología de los animales domésticos**. Zaragoza: Acríbia, 1967. 385p.

OKSHE, A. Survey of the development and comparative morphology of the pineal organ. In: _____; VOLLRATH, L. **The pineal organ**. Berlin: Springer-Verlag, 1981. 665 p.

OLIVEIRA, C. A. **Estudo endocrinológico do ciclo estral em potras da raça “Brasileiro de hipismo”**. 2001. 70 f. Tese (Livre docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

OLIVEIRA, S. F. **Estudo da estrutura da glândula pineal humana empregando métodos de microscopia de luz, eletrônica de varredura, microscopia de varredura por espectrometria de raios-X e difração de raios-X**. 1988. 129 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia Funcional: Estrutura e Ultra-estrutura) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

ORTAVANT, R.; PELLETIER, J.; RAVAUULT, J. P.; THIMONIER, J.; VOLLAND-NAIL, P. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. **Oxford Reviews of Reproductive Biology**, n. 7, p. 305-345, 1985.

PAVEL, S. Evidence for the ependymal origin of arginine vasotocin in the bovine pineal gland. **Endocrinology**, v. 89/2, p. 613-614, 1971.

PEARSE, A. G. E.; TAKOR-TAKOR, T. Embryology of the diffuse neuroendocrine system and its relationship to the common peptides. **Federation Proceedings**, v. 38/9, p. 2288-2294, 1979.

PELLEGRINI, R. Gli effetti della castrazione sulla ghiandola pineale. **Archivio per la Scienze Mediche**, v. 38, n. 2, p. 121-142, 1914.

PÉVET, P. On the presence of different populations of pinealocytes in the mammalian pineal gland. **Journal of Neural Transmission**, n. 40, p. 289-304, 1977.

PÉVET, P. Secretory processes in the mammalian pinealocyte under natural and experimental conditions. **Progress in Brain Research**, v. 52, p. 149-192, 1979.

PÉVET, P.; KARASEK, M. Are the pineal active compounds of mammals proteinaceous in nature? – An ultrastructural contribution. **Acta Medica Polona**, v. 18, p. 351-353, 1977.

PÉVET, P.; KUYPER, M. A. The ultrastructure of pinealocytes in the golden mole (*Amblysomus hottentorus*) with special reference to the granular vesicles. **Cell and Tissue Research**, v. 191, p. 39-56, 1978.

PÉVET, P.; KAPPERS, J. A.; NEVO, E. The pineal gland of the mole-rat (*Spalax ehrenbergi*, Nehring). I. The fine structure of pinealocytes. **Cell and Tissue Research**, v. 174, p. 1-21, 1976.

PÉVET, P.; KAPPERS, J. A.; VOUTE, A. M. The pineal gland of nocturnal mammals. I. The pinealocytes of the bat (*Nyctalus noctula*, Shreber). **Journal of Neural Transmission**, v. 40, p. 47-68, 1977.

PINHEIRO, L. E. L.; HENRY, M.; ROCA, M. I. C.; GASTAL, E. L.; GUIMARAES, S. E. L. Caracterização cromossômica de uma mula fértil e sua progênie. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL**, 8., 1989, Belo Horizonte. **Anais...** 1989. v. Supplement, 1. p. 110.

PLOTKA, E. D. Periovulatory changes in peripheral plasma progesterone and estrogen concentrations in the mare. **American Journal Veterinary Research**, v. 36, p. 1359-1362, 1975.

PYCOCK, J. F.; DIELEMAN S. J.; DRIJFHOUT, P.; VAN DER BRUG, Y.; OEI, C.; VAN DER WEIJDEN, G. C. Correlation of plasma concentrations of progesterone and estradiol with ultrasound characteristics of the uterus and duration of oestrus behaviour in the cyclic mare. **Reproduction Domestic Animal**, v. 30, p. 224-227, 1995.

QUAY, W. B.; RENZONI, A.; EAKIN, R. M. Pineal ultrastructure in *Melopsittacus undulatus* with particular regard to cell types and functions. **Rivista di Biologia**, v. LXI, p. 371-393, 1968.

R Development Core Team (2005). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 2005.

RAO, G. S.; SAIGAL, R. P. A quantitative morphological study of pineal organ in the buffalo. **Indian Journal Animal Science**, v. 41, p. 438-443, 1971.

REITER, R. J. Circannual reproductive rhythms in mammals related to photoperiod and pineal function: a review. **Chronobiologia**, v. 1, p. 365-395, 1974.

REITER, R. J. Comparative Physiology: Pineal Gland. **Annual Review of Physiology**, n.35, p.305-328, 1973.

REITER, R. J. **Comprehensive endocrinology: The Pineal Gland**. New York: Raven Press, 1984. 382 p.

REITER, R. J. Interaction of photoperiod, pineal and seasonal reproduction as exemplified by findings in the hamster. **Prog. Reprod. Biol.**, v. 4, p. 169-190, 1978.

REITER, R. J. Pineal gland: Interface between the photoperiodic environment and the endocrine system. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 2, p. 13-19, 1991.

REITER, R. J. The mammalian pineal gland: Structure and function. **American Journal of Anatomy**, n. 162, p. 287-313, 1981.

REITER, R. J.; RICHARDSON, B. A.; JOHNSON, L. Y.; STEGER, R. W.; PETERBORG, L. J. Pineal melatonin rhythms: reduction in aging syrian hamsters. **Science**, v. 210, p. 1372-1373, 1980.

REITER, R. J.; VAUGHAN, M. K. A study of indoles which inhibit pineal antigonadotropic activity in male hamster. **Endocrine Research Communications**, v. 2, p. 299-308, 1975.

REITER, R. J.; WELSH, M. G.; VAUGHAN, M. K. Age related changes in the intact and sympathetically denervated gerbil pineal gland. **American Journal of Anatomy**, v. 146, p. 427-432, 1976.

ROBERTS, S. J. **Obstetricia veterinaria y patologia de la reproducción (Teriogenologia)**. 2. ed. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur S.A., 1984. 1021 p.

ROBINSON, N. E. **Current therapy in equine medicine**. Pennsylvania: W. B. Saunders Company, 1992. 847 p.

ROMEIS, B. **Mikroskopische technik**. 16. Aufl. München. Oldenbourg, 1968, p. 368-389.

ROMIJN, H. J. Structure and innervation of the pineal gland of the rabbit *Oryctolagus cuniculus* (L.). II Electron microscopic investigation of the pinealocytes. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, v. 141, p. 545-560, 1973.

ROSSDALE, P. D.; RICKETTS, S. W. **Medicina práctica en el haras**. 1. ed. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur S.A., 1979. 464 p.

SAMARASINGLE, D.; DELAHUNT, B. The ependyma of the saccular pineal gland in the non-eutherian mammal *Trichosurus vulpeca*. **Cell and Tissue Research**, v. 213, n. 3, p. 417-432, 1980.

SATO, T.; DEGUCHI, T.; ICHIKAWA, T.; FUJIEDA, H. Localization of hydroxyndole-o-methyltransferase - Synthesizing cells in bovine epithalamus: immunocytochemistry and in-situ hybridization. **Cell and Tissue Research**, v. 263, p. 413-418, 1991.

SCHARENBERG, K.; LISS, L. The histologic structure of the human pineal body. **Progress In Brain Research**, v. 10, p. 193-217, 1965.

SCHMID, H. A.; RAYKHTSAUM, G. Age-related differences in the structure of human pineal calcium deposits: Results of transmission electron microscope and mineralographic microanalysis. **Journal of Pineal Research**, v. 18, p. 12-20, 1995.

SHARP, D. C.; GRUBAUGH, W. R. Pulsatile secretion of melatonin during the scotophase in mares. **Biology of Reproduction**, v. 128, p. 100, 1983. Supplement.

SHERIDAN, M. N.; REITER, R. J. The fine structure of the hamster pineal gland. **American Journal of Anatomy**, v. 122, p. 357-376, 1968.

SHERIDAN, M. N.; REITER, R. J. The fine structure of the pineal gland in the pocket gopher, *Geomys bursarius*. **American Journal of Anatomy**, v. 136, p. 363-382, 1973.

SHIDELER, R. K. Progesterone therapy of ovariectomized pregnant mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32, p. 459-464, 1982. Supplement.

SILVINO, M. J. **Aspectos de anatomia macroscópica e microscópica da glândula pineal em cutias (*Dasyprocta aguti*)**. 1992. 122 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

SILVINO, M. J. **Aspectos morfológicos da glândula pineal em ratos e coelhos**. 1999. 70 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

SILVINO, M. J.; MIGLINO, M. A.; DIDIO, L. A.; HERNANDEZ-BLASQUEZ, F. J. The pineal gland in adult “golden cutia”(*Dasyprocta aguti*, rodentia, caviomorpha). **Revista Chilena de Anatomia**, v. 13, n. 2, p. 17-23, 1995.

SISSON, S. Aparelho urogenital do Equino. In: _____; GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. v. 1, cap. 20, p. 507-512.

SISVAR (2004). **Programa de análises estatísticas (statistical analysis software) e planejamento de experimentos**. Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Lavras. Disponível em: <http://www.dex.ufla.br/danielff/dff02>. Acesso em: 2005.

SKENE, D. J.; VIVIEN-ROELS, B.; SPARKS, J. C.; HUNSAKER, J. C.; PÉVET, P.; RAVID, D.; SWAAB, D. F. Daily variation in the concentration of melatonin and 5-methoxytryptophol in the human pineal gland: Effect of age and Alzheimer’s disease. **Brain Research**, v. 428, p. 170-174, 1990.

SNEDECOR, G. W. **Statistical methods. Applied to experiments in agriculture and biology**. 4. ed. [S.I.: s.n.], 1946. 485 p.

SOMLYO, A. P. Cellular sites of calcium regulation. **Nature**, v. 309, p. 516-517, 1984.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill Book, 1960. 481 p.

STOKKA, K. A.; REITER, R. J.; NONAKA, K. O.; LERCHL, A.; Yu, B. P.; VAUGHAN, M. K. Food restriction retards aging of the pineal gland. **Brain Research**, v. 545, p. 66-72, 1991.

SZYMONOWICZ, L.; KRAUZE, R. **Tratado de histología y anatomía microscópica**. Barcelona: Labor, 1935. p. 197-199.

THARASANIT T.; COLENBRANDER, B.; BEVERS, M. M.; STOUT, T. A. E. Effects of recombinant human follicle stimulating hormone on follicle development and ovulation in the mare. **Theriogenology**, 2005. In Press. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?>. Acesso em: 2005.

TILDEN, A. R.; HUTCHINSON, V. H. Influence of photoperiod and temperature on serum melatonin in the Diamondback Water Snake (*Nerodia rhombifera*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 92, n. 3, p. 347-354, 1993.

TOLOSA, E. M.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2. ed. Barueri: Manole, 2003. 331 p.

TORRES, A. P.; JARDIM, W. R. **Criação do cavalo e de outros eqüinos**. 3. ed. São Paulo: Nobel, 1987. 654 p.

TRAUTMAN, A.; FIEBERG, J. **Histología y anatomia microscópica comparada de los animales domésticos**. Barcelona: Labor, 1942, p. 164-165.

UEMURA, S. Zur normalen und pathologischen Anatomie der Glandula pinealis des Menschen und einiger Haustiere. **Frankfurter Zeitschrift für Pathologie**, v. 20, p. 381-488, 1917.

UPSON, R. H.; BENSON, B.; SATTERFIELD, V. Quantitation of ultrastructural changes in the mouse pineal in response to continuous illumination. **Anatomical Record**, v. 184, p. 311-324, 1976.

VAN NIEKERK, F. E.; VAN NIEKERK, C. H. (1997). The effect of dietary protein on reproduction in the mare. IV. Serum progesterone, FSH, LH and melatonin concentrations during the anovulatory, transitional and ovulatory periods in the non-pregnant mare. **Journal of the South African Veterinary Medical Association**, v. 68, n. 4, p. 114-120, 1997.

VENZKE, W. G. Endocrinologia do Carnívoro. In: _____; GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. v. 2, cap. 54, p. 1496.

VIGH, B.; VIGH-TEICHMANN, I. Comparative neurohistology and immunocytochemistry of the pineal complex with special reference to CSF-contacting neuronal structures. **Pineal Research Review**, v. 6, p. 1-65, 1988.

VIGH, B.; VIGH-TEICHMANN, I. The pinealocyte forming receptor and effector endings: immunoelectron-microscopy and calcium histochemistry. **Archives of Histology and Cytology**, v. 52, p. 433-440, 1989. Supplement.

VIGH, B.; VIGH-TEICHMANN, I. Two components of the pineal organ in the mink (*Mustela vison*): their structural similarity to submammalian pineal complexes and calcification. **Archives of Histology and Cytology**, v. 55, n. 5, p. 477-489, 1992.

VIGH, B.; VIGH-TEICHMANN, I.; HEINZELLER, T.; TUTTER, I. Meningeal calcification of the rat pineal organ. Fine structural localization of calcium ions. **Histochemistry**, v. 91, p. 161-168, 1989.

VOLLRATH, L. Comparative morphology of the vertebrate pineal complex. **Progress in Brain Research**, v. 52, p. 25-38, 1979.

VOLLRATH, L. **The pineal organ**. Berlin: Springer-Verlag, 1981. 665 p.

VOLLRATH, L. The pineal organ. In: OKSCHE, A; VOLLRATH, L. (Ed.). **Handbuch der mikroskopischen anatomie des menschen**. New York: Springer-Verlag; Berlin: Heidelberg, 1981. v. 6/7, p. 1-665.

VOLLRATH, L.; HUSS, H. The synaptic ribbons of the guinea-pig pineal gland under normal and experimental conditions. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, v. 145, p. 171-183, 1973.

VRIEND, J.; HINKLE, P. M. Evidence for a TRH antagonist in bovine pineal glands. **Anatomical Record**, v. 196/3, p. 197A, 1980.

WALZ, B. Calcium sequestering smooth endoplasmic reticulum in retinal cells of the blowfly. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 81, p. 240-248, 1992.

WELSER, J. R.; HINSMAN, E. J.; STROMBERG, M. W. Fine structure of the canine pinealocytes. **American Journal of Veterinary Research**, v. 29, p. 587-599, 1968.

WELSH, M. G. Cytochemical analysis of calcium distribution in the superficial pineal gland of the Mongolian gerbil. **Journal of Pineal Research**, v. 1, p. 305-316, 1984.

WELSH, M. G. Pineal calcification: Structural and functional aspects. **Pineal Research Review**, v. 3, p. 41-68, 1985.

WELSH, M. G.; REITER, R. J. The pineal gland of the gerbil, *Meriones unguiculatus*. I. An ultrastructural study. **Cell and Tissue Research**, v. 193, p. 323-336, 1978.

WOLFE, D. E. The epiphyseal cell: an electron-microscopic study of its intercellular relationship and intracellular morphology in the pineal body of the albino rat. **Progress in Brain Research**, v. 10, p. 332-376, 1965.

WURTMAN, R. J.; ANTON-TAY, F. The mammalian pineal as a neuroendocrine transducer. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 25, p. 493-522, 1969.

WUTHIER, R.E. A review of the primary mechanism of endochondrial calcification with special emphasis on the role of cells, mitochondria and matrix vesicles. **Clinical Orthopaedics**, v. 169, p. 219-242, 1982.

WUTHIER, R.E. The role of phospholipids in biologic calcification. **Clinical Orthopaedics**, v. 90, p. 191-200, 1985.

WYRZYKOWSKI, Z.; PRZYBYLSKA, B.; WYRZKOWSKI, K. Ultrastructure and topography of the dense bodies in pinealocytes of castrated males of domestic pig. **Folia Morphological**, v. 64, n. 1-3, p. 175-185, 1985.

APÊNDICE A – Gráficos (1 a 16) referentes aos dados sobre peso vivo, altura, dimensões dos ovários, encéfalos e glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 1 – Médias do peso vivo (kg) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 2 – Médias da altura (cm) de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 3 – Médias (mm) do comprimento, largura e altura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 4 – Médias (mm) do comprimento, largura e altura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 5 – Médias (mm), por faixa etária, da largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 6 – Médias (mm), por fase reprodutiva, da largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 7 – Médias (mm) do comprimento e largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 8 – Médias (mm) do comprimento, largura e altura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 9 – Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas jovens em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 10 – Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas idosas em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 11 – Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas jovens em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 12 – Distribuição, por intervalos em μm^2 , da frequência de áreas de pinealócitos de éguas idosas em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 13 – Médias das áreas (μm^2) de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 14 – Médias, por fase reprodutiva, das áreas (μm^2) de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 15 – Médias, em 2,48 mm² de tecido glandular, do número de pinealócitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1^a FASE) e em anestro fisiológico (2^a FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 16 – Médias, por fase reprodutiva, do número de pinealócitos em 1,0 e 2,48 mm² de tecido glandular, de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1^a FASE) e em anestro fisiológico (2^a FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

APÊNDICE B – Tabelas (1 a 18) referentes às análises estatísticas aplicadas aos dados relativos a éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **PESO VIVO DOS ANIMAIS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	7124.260417	7124.260417	3.524	0.0751
IDADE	1	388.010417	388.010417	0.192	0.6660
EM*IDADE	1	7.593750	7.593750	0.004	0.9517
ERRO	20	40428.875000	2021.443750		
TOTAL CORRIGIDO	23	47948.739583			
CV(%) :	18.47				
MÉDIA GERAL:	243.4791667	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			
MÉDIAS PARA ESTAÇÃO DE MONTA					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
ANESTRO		226.250000			
ATIVIDADE		260.708333			
MÉDIAS PARA IDADES					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		239.458333			
IDOSO		247.500000			

Tabela 1 – Análises estatísticas referentes ao peso vivo de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **ALTURA DOS ANIMAIS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	128.343750	128.343750	2.798	0.1099
IDADE	1	3.760417	3.760417	0.082	0.7776
EM*IDADE	1	1.260417	1.260417	0.027	0.8700
ERRO	20	917.375000	45.868750		
TOTAL CORRIGIDO:	23	1050.739583			
CV(%) :	4.97				
MÉDIA GERAL:	136.1458333	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			
MÉDIAS PARA AS ESTAÇÕES DE MONTA					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
ANESTRO		133.833333			
ATIVIDADE		138.458333			
MÉDIAS PARA AS IDADES					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		135.750000			
IDOSO		136.541667			

Tabela 2 – Análises estatísticas referentes à altura de éguas jovens e idosas em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE ESTRADIOL**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	11.764900	11.764900	0.590	0.4571
IDADE	1	56.325025	56.325025	2.827	0.1185
EM*IDADE	1	27.615025	27.615025	1.386	0.2619
ERRO	12	239.100150	19.925012		
TOTAL CORRIGIDO:	15	334.805100			
CV(%) :	62.41				
MÉDIA GERAL:	7.1525000	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 16			

TESTE PARA VERIFICAR A NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:
SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST: W = 0.9158, P-VALUE = 0.1445

Tabela 3 – Análises estatísticas referentes às concentrações séricas de estradiol em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE PROGESTERONA**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	11.340056	11.340056	7.468	0.0182*
IDADE	1	5.347656	5.347656	3.522	0.0851
EM*IDADE	1	3.792756	3.792756	2.498	0.1400
ERRO	12	18.222175	1.518515		
TOTAL CORRIGIDO	15	38.702644			
CV(%):	116.46				
MÉDIA GERAL:	1.0581250	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 16			

TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM

NMS: 0,05

ERRO PADRÃO: 0,435676856071867

TRATAMENTOS	MÉDIAS	RESULTADO DO TESTE
ANESTRO	0.216250	A1
ATIVIDADE	1.900000	A2

TABELA DE MÉDIAS DAS IDADES

TRATAMENTOS	MÉDIAS
JOVEM	0.480000
IDOSO	1.636250

TESTE PARA VERIFICAR A NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:

SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST: W = 0.9172, P-VALUE = 0.1523

Tabela 4 – Análises estatísticas referentes às concentrações séricas de progesterona em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MELATONINA**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	1.925156	1.925156	0.064	0.8051
IDADE	1	107.485056	107.485056	3.554	0.0838
EM*IDADE	1	1.482306	1.482306	0.049	0.8285
ERRO	12	362.901525	30.241794		
TOTAL CORRIGIDO:	15	473.794044			
CV(%) :	103.72				
MÉDIA GERAL:	5.3018750				
		NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 16			

TABELA DE MÉDIAS

TRATAMENTOS	MÉDIAS
ANESTRO	4.955000
ATIVIDADE	5.648750
TRATAMENTOS	MÉDIAS
JOVEM	7.893750
IDOSO	2.710000

TESTE PARA VERIFICAR A NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:

SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST W = 0.9449, P-VALUE = 0.4138

Tabela 5 – Análises estatísticas referentes às concentrações séricas de melatonina em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **COMPRIMENTO DOS OVÁRIOS DIREITOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	1256.430104	1256.430104	22.635	0.0001*
IDADE	1	148.752604	148.752604	2.680	0.1173
EM*IDADE	1	137.042604	137.042604	2.469	0.1318
ERRO	20	1110.154583	55.507729		
TOTAL CORRIGIDO	23	2652.379896			
CV(%) :	16.55				
MÉDIA GERAL:	45.0270833	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			
TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM					
NMS: 0,05					
ERRO PADRÃO: 2,15073106110974					
TRATAMENTOS		MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE		
ANESTRO		37.791667	A1		
ATIVIDADE		52.262500	A2		
MÉDIA PARA IDADE					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		42.537500			
IDOSO		47.516667			

Tabela 6 — Análises estatísticas referentes ao comprimento dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **LARGURA DOS OVÁRIOS DIREITOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	505.083750	505.083750	10.735	0.0038*
IDADE	1	5.415000	5.415000	0.115	0.7380
EM*IDADE	1	0.120417	0.120417	0.003	0.9602
ERRO	20	940.960833	47.048042		
TOTAL CORRIGIDO	23	1451.580000			
CV(%) :	22.02				
MÉDIA GERAL:	31.1500000	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			
TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM					
NMS: 0,05					
ERRO PADRÃO: 1,98006821571604					
TRATAMENTOS		MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE		
ANESTRO		26.562500	A1		
ATIVIDADE		35.737500	A2		
MÉDIA PARA IDADE					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		30.675000			
IDOSO		31.625000			

Tabela 7 — Análises estatísticas referentes à largura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **ALTURA DOS OVÁRIOS DIREITOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	480.615000	480.615000	10.784	0.0037*
IDADE	1	38.760417	38.760417	0.870	0.3622
EM*IDADE	1	1.983750	1.983750	0.045	0.8350
ERRO	20	891.354167	44.567708		
TOTAL CORRIGIDO	23	1412.713333			
CV(%) :	24.38				
MÉDIA GERAL:	27.3833333	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			
TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM					
NMS: 0,05					
ERRO PADRÃO: 1,92716779094205					
TRATAMENTOS		MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE		
ANESTRO		22.908333	A1		
ATIVIDADE		31.858333	A2		
MÉDIA PARA IDADE					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		26.112500			
IDOSO		28.654167			

Tabela 8 — Análises estatísticas referentes à altura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **COMPRIMENTO DOS OVÁRIOS ESQUERDOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	1074.012604	1074.012604	23.277	0.0001*
IDADE	1	21.565104	21.565104	0.467	0.5020
EM*IDADE	1	147.758437	147.758437	3.202	0.0887
ERRO	20	922.808750	46.140437		
TOTAL CORRIGIDO	23	2166.144896			
CV(%) :	15.07				
MÉDIA GERAL:	45.0729167	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			
TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM					
NMS: 0,05					
ERRO PADRÃO: 1,96087645157295					
TRATAMENTOS		MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE		
ANESTRO		38.383333	A1		
ATIVIDADE		51.762500	A2		
MÉDIA PARA IDADE					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		46.020833			
IDOSO		44.125000			

Tabela 9 – Análises estatísticas referentes ao comprimento dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **LARGURA DOS OVÁRIOS ESQUERDOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	325.975104	325.975104	8.728	0.0078*
IDADE	1	325.975104	325.975104	8.728	0.0078*
EM*IDADE	1	465.080104	465.080104	12.453	0.0021*
ERRO	20	746.939583	37.346979		

TOTAL CORRIGIDO	23	1863.969896			

CV(%) :	19.05				
MÉDIA GERAL:	32.0770833	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			

TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM					

NMS: 0,05					

ERRO PADRÃO: 1,76415653043852					

TRATAMENTOS		MÉDIAS		RESULTADOS DO TESTE	
ANESTRO		28.391667		A1	
ATIVIDADE		35.762500		A2	

TESTE SCOTT-KNOTT (1974) PARA A FV IDADE					

NMS: 0,05					

ERRO PADRÃO: 1,76415653043852					

TRATAMENTOS		MÉDIAS		RESULTADOS DO TESTE	
JOVEM		35.762500		A1	
IDOSO		28.391667		A2	

ANÁLISE DO DESDOBRAMENTO DE EM DENTRO DE CADA NÍVEL DE IDADE					

FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM D.JOVEM	1	784.891875	784.891875	21.016	0.0002*
EM D.IDOSO	1	6.163333	6.163333	0.165	0.6889
RESÍDUO	20	746.939583	37.346979		

TESTE DE SCOTT-KNOTT (1974) PARA O DESDOBRAMENTO DE EM DENTRO DA IDADE JOVEM					
NMS: 0,05					

ERRO PADRÃO: 2,49489409149522					

TRATAMENTOS		MÉDIAS		RESULTADOS DO TESTE	
ANESTRO		27.675000		A1	
ATIVIDADE		43.850000		A2	

MÉDIA PARA O DESDOBRAMENTO DE EM DENTRO DA IDADE IDOSO					

TRATAMENTOS		MÉDIAS			
ANESTRO		29.108333			
ATIVIDADE		27.675000			

Tabela 10 – Análises estatísticas referentes à largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **ALTURA DOS OVÁRIOS ESQUERDOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	438.187604	438.187604	14.783	0.0010*
IDADE	1	53.850104	53.850104	1.817	0.1928
EM*IDADE	1	45.237604	45.237604	1.526	0.2310
ERRO	20	592.838750	29.641938		
TOTAL CORRIGIDO	23	1130.114062			
CV(%) :	18.79				
MÉDIA GERAL:	28.9812500	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 24			
TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM					
NMS: 0,05					
ERRO PADRÃO: 1,57167473044944					
TRATAMENTOS		MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE		
ANESTRO		24.708333	A1		
ATIVIDADE		33.254167	A2		
MÉDIA PARA IDADE					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		30.479167			
IDOSO		27.483333			

Tabela 11 – Análises estatísticas referentes à altura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **COMPRIMENTO DOS ENCÉFALOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	6.212813	6.212813	0.106	0.7610
IDADE	1	5.297512	5.297512	0.090	0.7786
EM*IDADE	1	15.262813	15.262813	0.261	0.6366
ERRO	4	234.315250	58.578812		
TOTAL CORRIGIDO	7	261.088388			
CV(%) :	5.37				
MÉDIA GERAL:	142.6162500	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 8			

MÉDIA PARA AS ESTAÇÕES DE MONTA

TRATAMENTOS	MÉDIAS
ANESTRO	143.497500
ATIVIDADE	141.735000

MÉDIA PARA AS IDADES

TRATAMENTOS	MÉDIAS
JOVEM	141.802500
IDOSO	143.430000

TESTE PARA VERIFICAR A NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:

SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST: W = 0.9336, P-VALUE = 0.5496

- Tabela 12 – Análises estatísticas referentes ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **LARGURA DOS ENCÉFALOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	28.312812	28.312812	1.159	0.3424
IDADE	1	25.311613	25.311613	1.036	0.3664
EM*IDADE	1	1.369513	1.369513	0.056	0.8245
ERRO	4	97.756650	24.439162		
TOTAL CORRIGIDO	7	152.750587			
CV(%) :	6.81				
MÉDIA GERAL:	72.6462500	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 8			

TESTE PARA VERIFICAR A NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:

SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST: W = 0.9638, P-VALUE = 0.8452

MÉDIAS PARA ESTAÇÃO DE MONTA (EM)

TRATAMENTOS	MÉDIAS
ANESTRO	74.527500
ATIVIDADE	70.765000

MÉDIAS PARA IDADES

TRATAMENTOS	MÉDIAS
JOVEM	70.867500
IDOSO	74.425000

Tabela 13 – Análises estatísticas referentes à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **COMPRIMENTO DAS GLÂNDULAS PINEAIS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	13.184113	13.184113	2.307	0.2034
IDADE	1	3.187813	3.187813	0.558	0.4966
EM*IDADE	1	3.367013	3.367013	0.589	0.4855
ERRO	4	22.857450	5.714363		
TOTAL CORRIGIDO	7	42.596388			
CV(%) :	25.60				
MÉDIA GERAL:	9.3362500	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 8			

TESTE PARA VERIFICAR A NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:
SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST: W = 0.9551, P-VALUE = 0.7625

MÉDIAS PARA ESTAÇÃO DE MONTA (EM)

TRATAMENTOS	MÉDIAS
ANESTRO	8.052500
ATIVIDADE	10.620000

MÉDIAS PARA IDADES

TRATAMENTOS	MÉDIAS
JOVEM	8.705000
IDOSO	9.967500

Tabela 14 – Análises estatísticas referentes ao comprimento das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **LARGURA DAS GLÂNDULAS PINEAIS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	0.040612	0.040612	0.059	0.8202
IDADE	1	2.194512	2.194512	3.183	0.1490
EM*IDADE	1	0.122513	0.122513	0.178	0.6950
ERRO	4	2.757550	0.689387		
TOTAL CORRIGIDO	7	5.115187			
CV(%) :	15.68				
MÉDIA GERAL:	5.2937500	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 8			

MÉDIAS PARA ESTAÇÃO DE MONTA (EM)

TRATAMENTOS	MÉDIAS
ATIVIDADE	5.222500
ANESTRO	5.365000

TESTE PARA VERIFICAR NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:

SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST: W = 0.9624, P-VALUE = 0.8326

Tabela 15 – Análises estatísticas referentes à largura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **ALTURA DAS GLÂNDULAS PINEAIS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	0.080000	0.080000	0.157	0.7118
IDADE	1	1.786050	1.786050	3.514	0.1341
EM*IDADE	1	0.022050	0.022050	0.043	0.8452
ERRO	4	2.033300	0.508325		
TOTAL CORRIGIDO	7	3.921400			
CV(%) :	14.10				
MÉDIA GERAL:	5.0550000	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 8			

MÉDIAS PARA ESTAÇÃO DE MONTA (EM)

TRATAMENTOS	MÉDIAS
ANESTRO	4.955000
ATIVIDADE	5.155000

Tabela 16 – Análises estatísticas referentes à altura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **ÁREA DE PINEALÓCITOS**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	0.406406	0.406406	3.913	0.0713
IDADE	1	0.066306	0.066306	0.638	0.4398
EM*IDADE	1	0.273006	0.273006	2.629	0.1309
ERRO	12	1.246225	0.103852		
TOTAL CORRIGIDO	15	1.991944			
CV(%) :	9.39				
MÉDIA GERAL:	3.4331250	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 16			
MÉDIAS PARA ESTAÇÃO DE MONTA (EM)					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
ANESTRO		3.273750			
ATIVIDADE		3.592500			
MÉDIA PARA IDADES					
TRATAMENTOS		MÉDIAS			
JOVEM		3.497500			
IDOSO		3.368750			

Tabela 17 – Análises estatísticas referentes à mensuração da área de pinealócitos em éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

VARIÁVEL ANALISADA: **AValiação DA DENSIDADE DE PINEALÓCITOS NO TECIDO GLANDULAR**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM	1	26829810.062500	26829810.062500	194.696	0.0000*
IDADE	1	149575.562500	149575.562500	1.085	0.3180
EM*IDADE	1	1107230.062500	1107230.062500	8.035	0.0150*
ERRO	12	1653647.250000	137803.937500		
TOTAL CORRIGIDO	15	29740262.937500			
CV(%):	8.84				
MÉDIA GERAL:	4198.0625000	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES: 16			

TESTE SCOTT-KNOTT PARA A FV EM

NMS: 0,05

ERRO PADRÃO: 131,245922555712

TRATAMENTOS	MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE
ANESTRO	5493.000000	A1
ATIVIDADE	2903.125000	A2

ANÁLISE DO DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO EM*IDADE PARA AVALIAR O COMPORTAMENTO DE EM DENTRO DE CADA NÍVEL DE IDADE

FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
EM DENTRO DE JOVEM	1	19418912.000000	19418912.000000	140.917	0.0000*
EM DENTRO DE IDOSO	1	8518128.125000	8518128.125000	61.813	0.0000*
RESÍDUO	12	1653647.250000	137803.937500		

TESTE DE SCOTT-KNOTT PARA O DESDOBRAMENTO DE EM DENTRO DA IDADE JOVEM

TRATAMENTOS	MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE
ATIVIDADE	2736.750000	A1
ANESTRO	5852.750000	A2

TESTE DE SCOTT-KNOTT PARA O DESDOBRAMENTO DE EM DENTRO DA IDADE IDOSO

TRATAMENTOS	MÉDIAS	RESULTADOS DO TESTE
ANESTRO	5133.250000	A1
ATIVIDADE	3069.500000	A2

TESTE PARA VERIFICAR A NORMALIDADE DOS RESÍDUOS:

SHAPIRO-WILK NORMALITY TEST: W = 0.9273, P-VALUE = 0.2212

Tabela 18 – Análises estatísticas referentes à densidade de pinealócitos nas glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

APÊNDICE C – Fotografias (7 a 13) do sistema genital de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Fotografia 7 – Sistema genital de égua jovem, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se presença de folículo ovariano (F)

Fotografia 8 – Sistema genital de égua jovem, em atividade reprodutiva (1ª FASE) oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se presença de corpo lúteo (CL)

Fotografia 9 – Sistema genital de égua idosa, em atividade reprodutiva (1ª FASE) oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se presença de corpo lúteo (CL)

Fotografia 10 – Sistema genital de égua jovem, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se ovário com características de anestro

Fotografia 11 – Sistema genital de égua jovem, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se ovário com características de anestro

Fotografia 12 – Sistema genital de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se ovário com características de anestro

Fotografia 13 – Sistema genital de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se ovários com dimensões reduzidas, característicos de anestro

APÊNDICE D – Fotografias (14 a 16) de glândula pineal de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Fotografia 14 – Antímero direito de encéfalo de égua jovem, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004 (3x), destacando-se a glândula pineal (P), de aspecto piriforme, localizada dorso-caudalmente à aderência inter-talâmica (A). E: esplênio do corpo caloso

Fotografia 15 – Glândula pineal de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004 (3x), destacando-se a glândula pineal (P), de aspecto ovóide, localizada dorso-caudalmente à aderência inter-talâmica (A). E: esplênio do corpo caloso

Fotografia 16 – Glândula pineal de égua idosa, em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004 (18x), destacando-se a glândula pineal, de aspecto piriforme, bem como a intensa vascularização presente no ápice (A) do órgão

APÊNDICE E – Figuras (micrografias e eletron-micrografias – 1 a 15) da glândula pineal de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

- Figura 1 – **Micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, D, E e H) e idosas (GII: B, C, F e G), em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.** **A:** delgada cápsula de tecido conjuntivo (seta), apresentando vaso (V) e envolvendo o parênquima da GP (*). **B:** o mesmo aspecto da figura anterior, em animais idosos. Comparar a espessura da cápsula (V: vaso). **C:** septos conjuntivos densos (setas) penetrando no parênquima da GP. Notar os pinealócitos aglomerados em um compartimento delimitado pelo tecido conjuntivo (cabeças de setas). **D:** delgadas fibras de tecido conjuntivo (setas), no parênquima da GP, entremeadas aos pinealócitos esparsamente distribuídos. **E:** amplo espaço vascular (V) localizado no interior do parênquima da GP, delimitado por delgada parede endotelial (setas). **F:** em maior aumento, espaços vasculares (V); notar o tecido conjuntivo relativamente espesso (setas) ao redor do endotélio destes. **G:** pinealócitos densamente agrupados e fibras de tecido conjuntivo mais espessas (cabeças de setas). Em determinadas regiões, verdadeiros septos de tecido conjuntivo (setas) estão presentes no parênquima da GP. **H:** parênquima da GP ampliado, evidenciando a presença de delgadas fibras de tecido conjuntivo (setas), bem como distribuição esparsa de pinealócitos. (H.E. **A-E, G:** 424x; **F, H:** 715x)

Figura 2 – **Micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, B e E) e idosas (GII: C, D, e F), em atividade reprodutiva (1ª FASE)**, oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. Em todas as regiões da GP (cápsula, septos e paredes dos espaços vasculares) de ambos os grupos verifica-se o predomínio de fibras colágenas do tipo I (vermelho, laranja e amarela), como constituintes destas estruturas. Em alguns locais observam-se poucas fibras colágenas do tipo III (verdes / Picrossirius sob luz polarizada. **A-D**: 274x; **E e F**: 133x

Figura 3 – **Micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, C, D, E, F, G e I) e idosas (GII: B e H), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004**.** **A:** membrana elástica interna (seta) de uma pequena artéria associada à cápsula (*) da GP. **B:** camada superficial de fibras elásticas (seta), constituindo a cápsula da GP. Notar o espesso feixe de fibras elásticas (*), presente no septo glandular. **C:** delgadas fibras elásticas (setas) evidenciadas na espessura da cápsula da GP. **D:** fibras elásticas presentes na parede de um espaço vascular da GP (setas). **E:** fibras elásticas escassas (cabeças de setas) verificadas no início de um septo glandular. Notar que na espessura da cápsula (*) as fibras elásticas são delgadas (setas). **F e G:** espessos feixes de fibras elásticas (setas), constituindo os septos mais internos da GP. **H e I:** delgados feixes de fibras elásticas (setas), dispersos no parênquima glandular. (*Verhoeff*. **A e B:** 274x; **C-I:** 715x)

***as ilustrações se referem à GP de éguas, tanto em atividade reprodutiva (1ª FASE) quanto em anestro fisiológico (2ª FASE)*

Figura 4 – **Eletron-micrografias, evidenciando-se concreções calcáreas em glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A e C) e idosas (GII: B e D), em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. Notar o aspecto granulado destas concreções em animais jovens, e fortemente condensado nos idosos. (A: 23.100x; B: 66.000x; C e D: 110.550x)**

Figura 5 – **Eletron-micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, B e D) e idosa (GII: C), em atividade reprodutiva (1ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. A:** três pinealócitos (P), nos quais nota-se a cromatina nuclear condensada sob diferentes formas (setas). **B:** vesículas granulares (setas) e agranulares (cabeças de setas), contidas em uma terminação nervosa. **C:** diversas terminações nervosas (*) entre os pinealócitos (P). **D:** material eletrondenso semelhante a desmossoma (setas), entre duas fibras nervosas (F / **A** e **B**: 132.000x; **C**: 23.100x; **D**: 110.550x)

Figura 6 – **Eletron-micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens, em atividade reprodutiva (1ª FASE)**, oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. **A:** fibrilas colágenas (*), constituintes da cápsula da GP, dispersas ao redor de um fibroblasto (F). Notar terminações nervosas (setas), bem como o núcleo (N) de um pinealócito. **B:** núcleo (N) de um pinealócito, com cromatina densa, predominantemente próxima à membrana nuclear, e uma fibra mielinica (seta). **C:** fibras axonais paralelas, em corte longitudinal (*) e transversal (setas), próximas a um pinealócito (P). **D:** mesmo aspecto da figura C, em maior aumento. (**A, B e D:** 23.100x; **C:** 16.500x)

Figura 7 – **Micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, C e E) e idosas (GII: B, D e F), em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.** **A:** cápsula de tecido conjuntivo, delgada e frouxamente arranjada (*). **B:** superfície da GP, na qual não se observa cápsula definida (*). **C:** septo conjuntivo espesso (*) com prolongamentos (setas), caracterizando semi-lobação (**) da GP. **D:** espessa cápsula da GP, com arranjo irregular e grande quantidade de vasos (V). **E:** dois semi-lóbulos (*) separados por septo conjuntivo espesso, porém pouco definido (seta). **F:** septo irregular de tecido conjuntivo, entre dois semi-lóbulos (*). Notar a presença de vasos (V) no interior do septo (H.E. **A-F:** 425x)

Figura 8 – **Micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, C e E) e idosas (GII: B, D e F), em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.** **A:** pinealócitos densamente arranjados em semi-lóbulo da GP (*). **B:** tecido conjuntivo espesso no interior da GP, em grande parte não organizado (setas), formando “ilhas” de pinealócitos (*). **C:** em maior aumento verifica-se a presença de tecido conjuntivo (*), entremeado aos pinealócitos. **D:** grande quantidade de tecido conjuntivo (*) interposto aos pinealócitos. Observar, nas pequenas “ilhas” de pinealócitos, algumas dessas células fortemente coradas e com contorno alterado (setas). **E:** amplo espaço vascular (V) no interior da GP, com paredes bem definidas (setas). **F:** diversos espaços vasculares no interior da GP (V). Notar a parede delgada (setas) dos mesmos. (H.E. **A, B e F:** 425x; **C, D e E:** 715x)

Figura 9 – **Micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, C, D e G) e idosas (GII: B, E, F e H), em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. A:** cápsula de tecido conjuntivo, formada por delgada camada externa de fibras colágenas do tipo I (amarelo, laranja e vermelho); internamente a ela observa-se uma camada ligeiramente mais espessa, constituída por colágeno do tipo III (verde). **B, C e F:** cápsula e septos formados por fibras colágenas do tipo I. **D, E e G:** em alguns locais das estruturas de tecido conjuntivo internas da GP (septos principalmente) não se verifica o predomínio de fibras colágenas do tipo I. **H:** delgada malha de fibras colágenas do tipo I, no interior da GP. (Picrossirius sob luz polarizada. A-H: 274x)

Figura 10 – **Eletron-micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens (GI: A, B e D) e idosa (GII: C), em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004.** **A:** aspecto geral de um pinealócito destacando-se a eucromatina nuclear (*) e a cromatina condensada ou heterocromatina (setas maiores), arranjada na periferia do núcleo junto à membrana nuclear. Neste caso verifica-se a presença do nucléolo, envolvido por cromatina condensada, em posição bastante excêntrica (cabeça de seta). No citoplasma observam-se numerosas mitocôndrias (setas menores), e concreções calcáreas (C). Junto ao citoplasma nota-se, ainda, a presença de agrupamento de terminações nervosas (**). **B:** dois pinealócitos contíguos, com destaque para a presença de poros na membrana nuclear (setas). **C:** zonas fibrilar (F) e granular (G) do nucléolo de um pinealócito, bem distintas. **D:** destaque para um feixe de fibras nervosas (*), relativamente espesso. (A: 10.725x; B: 35.750x; C: 71.500x; D: 42.900x)

Figura 11 – **Eletron-micrografias de glândula pineal (GP) de éguas jovens, em anestro fisiológico (2ª FASE)**, oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. **A:** aspecto geral de um pinealócito com concreções calcáreas (C), de diferentes formas e tamanhos, no interior de seu citoplasma. Notar a presença de terminações nervosas (*), com diferentes tipos de vesículas, próximas à superfície citoplasmática (N: núcleo; M= mitocôndrias). **B:** provável seqüência de formação de concreções calcáreas; 1- espaço delimitado por membrana, com conteúdo escasso; 2- preenchimento parcial do espaço, por estrutura de aspecto eletrondenso; 3- grande quantidade de material eletrondenso no espaço, porém de aspecto granular; 4- material eletrondenso homogêneo, caracterizando concreção calcárea típica. **C:** concreções calcáreas, principalmente de aspecto granular, de diferentes formas e tamanhos. **D e E:** em maior aumento, dois tipos de concreções calcáreas granulares. Notar em D o envoltório da concreção em processo de degeneração (seta), e compará-lo ao que se verifica em E, no qual o envoltório íntegro (seta) circunda completamente a concreção. (**A:** 17.160x; **B:** 42.900x; **C:** 35.750x; **D:** 107.250x; **E:** 143.000x)

Figura 12 – **Eletron-micrografias de glândula pineal (GP) de éguas idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE)**, oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. **A**: presença de uma grande quantidade de concreções calcáreas (C) eletrondensas extracelulares, de diferentes tamanhos, na periferia da glândula, e em contato com fibrilas colágenas (*). Notar a presença de prolongamentos de um fibroblasto (**). **B**: aspecto de núcleos de pinealócitos, íntegro (I) e em degeneração (D). Observar, neste último, o contorno totalmente irregular da membrana nuclear. **C**: nucléolo de pinealócito com a zona fibrilar (F) bem evidente, e presença de um amplo espaço entre esta e a zona granular (G). **D**: membrana nuclear (seta) de pinealócito, parcialmente rompida. (A: 21.450x; B: 5.720x; C e D: 71.500x)

Figura 13 – **Eletron-micrografias de glândula pineal (GP) de éguas idosas, em anestro fisiológico (2ª FASE)**, oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004. **A:** aparente invaginação do citoplasma (setas) de um pinealócito, para o interior do núcleo da célula. Observar a grande quantidade de terminações nervosas (*) relacionadas à membrana celular. **B:** em maior aumento observa-se que, em determinados pontos, a membrana nuclear encontra-se preservada (setas), e em outros, em aparente estágio de degeneração (cabeças de setas). **C:** concreções calcáreas extracitoplasmáticas, em contato com fibras nervosas (*), no interior da glândula. **D:** em maior aumento verifica-se penetração de uma concreção calcárea (setas) no feixe nervoso. (**A:** 14.300x; **B:** 85.800x; **C:** 57.200x; **D:** 143.000x)

Figura 14 – **Micrografia de glândula pineal de égua idosa, em atividade reprodutiva (1ª FASE)**, oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se pinealócitos claros (setas espessas) e escuros (setas finas)

Figura 15 – **Micrografia da glândula pineal de égua idosa, em anestro fisiológico (2ª FASE)**, oriunda do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004, evidenciando-se pinealócitos claros (setas espessas) e escuros (setas finas)

- APÊNDICE F** – Gráficos (17 a 44) de dispersão ou regressão, entre dados relativos ao peso vivo, altura, dimensões dos ovários, encéfalos e glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 17 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 18 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 19 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 20 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e ao comprimento das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 21 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 22 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 23 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 24 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à largura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 25 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à altura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 26 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à altura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 27 – Dispersão entre dados relativos ao peso vivo e à altura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 28 – Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 29 – Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 30 – Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 31 – Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e ao comprimento das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 32 – Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 33 – Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 34 – Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 35 – Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e à largura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 36 – Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à altura dos ovários direitos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 37 – Dispersão entre dados relativos à altura à cernelha e à altura dos ovários esquerdos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 38 – Regressão entre dados relativos à altura à cernelha e à altura das glândulas pineais de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 39 – Dispersão entre dados relativos ao comprimento das glândulas pineais e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 40 – Dispersão entre dados relativos à largura das glândulas pineais e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 41 – Dispersão entre dados relativos à altura das glândulas pineais e à largura dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 42 – Dispersão entre dados relativos ao comprimento das glândulas pineais e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 43 – Dispersão entre dados relativos à largura das glândulas pineais e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004

Gráfico 44 – Dispersão entre dados relativos à altura das glândulas pineais e ao comprimento dos encéfalos de éguas jovens e idosas, em atividade reprodutiva (1ª FASE) e em anestro fisiológico (2ª FASE), oriundas do Frigorífico Belo Vale, município de Campo Belo (MG) – 2004