

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

ULTRA-SONOGRAFIA GINECOLÓGICA E OBSTÉTRICA EM
MACACO-DA-NOITE (*Aotus azarai infulatus*) AOTIDAE -
“PRIMATES”

Frederico Ozanan Barros Monteiro

Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Agosto – 2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ULTRA-SONOGRAFIA GINECOLÓGICA E OBSTÉTRICA EM
MACACO-DA-NOITE (*Aotus azarai infulatus*) AOTIDAE –
“PRIMATES”**

Frederico Ozanan Barros Monteiro

Orientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, *Campus* de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Reprodução Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Agosto – 2007

M775u Monteiro, Frederico Ozanan Barros
Ultra-sonografia ginecológica e obstétrica em macaco-da-noite
(*Aotus azarai infulatus*) Aotidae - "Primates" / Frederico Ozanan
Barros Monteiro. – Jaboticabal, 2007.
x, 73 f.: il.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007.
Orientador: Wilter Ricardo Russiano Vicente
Banca examinadora: Alcides Pissinatti, Julio Carlos Canola, Karin
Werther, Nereu Carlos Prestes.
Bibliografia

1. Ultra-sonografia. 2. Gestação. 3. Ginecologia. 4. *Aotus sp. I.*
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-073:599.822

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, *Campus* de
Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Frederico Ozanan Barros Monteiro, Fortaleza (CE), 16 de abril de 1973. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Ceará (1998) e mestrado em Medicina Veterinária com área de concentração em Reprodução Animal, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal (2004). Atualmente é doutorando pela mesma instituição e professor assistente da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém (2004). Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Fisiologia Animal, atuando principalmente nos seguintes temas: reprodução de primatas não-humanos (*Aotus sp*), animais selvagens e diagnóstico por ultra-som.

Por amor e respeito aos animais

Dedico:

Ao meu querido pai, Geraldo Majela Ribeiro Monteiro (*in memoriam*), colega de profissão e amigo de todas as horas. À minha mãe amada, Cleide Barros Monteiro, que sempre dedicou parte da sua vida à responsabilidade de nos educar. À minha esposa Christina Wippich Whiteman, companheira amada, que sempre foi minha fonte de inspiração.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Geraldo Majela Ribeiro Monteiro (*in memorian*), Cleide Barros Monteiro e irmãos Maria Vivina Barros Monteiro, Valéria Barros Monteiro, André Luís Barros Monteiro. Obrigado pelo carinho e amizade que dedicaram durante toda minha vida.

À minha querida e amada esposa Christina Wippich Whiteman, que sempre foi motivo de orgulho e admiração. Obrigado pelo incentivo, apoio e por ser a fonte de inspiração para tudo que faço.

Aos meus sogros José Antonio Whiteman e Isabel Wippich pela consideração e estima que sempre tiveram por mim.

Ao professor Wilter Ricardo Russiano Vicente que já durante o mestrado demonstrou amizade e confiança em nosso trabalho. Essas relações são recíprocas e certamente se propagarão por toda nossa existência. Muito obrigado por tudo!

Ao amigo e professor da Universidade Federal do Semi-árido Celsemy Eleutério Maia pela inestimável colaboração na análise estatística deste trabalho.

Aos professores César Roberto Esper, Marcia Rita Fernandes Machado, Paulo Henrique Franceschini, Julio Carlos Canola, Karin Whether, Alcides Pissinatti e Nereu Carlos Prestes por terem contribuído na melhoria da qualidade científica deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP) por me acolher como estudante de pós-graduação durante o mestrado e doutorado, contribuído com o engrandecimento da minha vida profissional.

À diretoria do Centro Nacional de Primatas (CENP), Carlos Jorge Costa Faro e , que acreditou e patrocinou esta pesquisa.

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) pelo apoio e estímulo para a conclusão deste trabalho.

Aos médicos veterinários do CENP Paulo Henrique Gomes de Castro e José Augusto Pereira Carneiro Muniz pela recepção cordial e colaboração em nosso trabalho.

Ao ex-diretor do CENP, Dr. Reinaldo de Amorim Carvalho, pelo apoio e confiança depositada neste trabalho.

A colega Klena Sarges Silva que, em momentos difíceis, participou efetivamente da realização deste trabalho. Obrigado pela força e pela inestimável colaboração.

Aos demais colegas que desenvolvem trabalhos científicos no CENP: Sheyla Farhayldes Souza Domingues, Rodrigo Del Rio do Valle, Cristiane Macedo Del Rio do Valle, Tatiana Kugelmeier. Obrigado pelo apoio e incentivo.

Aos colegas da UNESP de Jaboticabal: Mabel Freitas Cordeiro, Marcelo Barbosa Bezerra, Michelly Fernandes Macedo, Max Vitória Resende, Ana Paula Coelho Ribeiro. Obrigado pela ajuda e amizade incondicional.

Aos estudantes de medicina veterinária e zootecnia da UFRA, especialmente aos estagiários que colaboraram com esta pesquisa: Leandro Nassar Coutinho, Eliana do Socorro de Souza Pompeu e Kelice Feitosa de Araújo. Obrigado pela disponibilidade e desejo em ajudar.

Aos funcionários do CENP Francisco de Assis C. Fonseca, Paulo Rodrigues Ferreira, José Miguel Tavares dos Santos, Souzimar Rodrigues de Lima, Reginaldo dos Santos Silva, Miguel Alfredo Sá da Costa, Osvaldo Leal dos Santos Filho, José Hermenegildo Ribeiro Viana, Laura Raimunda Ferro Soares e Adilene dos Santos Martins, pela gentileza, cordialidade e inestimável colaboração.

Aos tratadores e auxiliares de limpeza do CENP especialmente os responsáveis pelo galpão experimental I e pelo complexo clínico-cirúrgico Leonardson Antônio Bailosa da Costa, Lindomax Lima Pereira, Maria do Socorro do Carmo Santos, Rosa Maria Lima da Silva, Raimundo Cristiano S. R. da Silva e Dojean Froes Araújo.

Agradeço a todo o corpo funcional do CENP (técnicos e administrativos), que sempre foram extremamente atenciosos às nossas solicitações.

Aos colegas das disciplinas da área de Fisiologia Animal, professores da UFRA, Maria das Dores Correia Palha e Luiz Fernando de Souza Rodrigues pela amizade que sempre demonstraram desde a minha chegada nessa instituição. Obrigado pelo estímulo e apoio para que pudesse concluir esta pesquisa.

A diretora do Instituto da Saúde e Produção Animal (ISPA/UFRA), professora Nazaré de Souza Fonseca pela compreensão e apoio ao nosso trabalho.

Aos professores da UFRA, Ana Silvia Sardinha Ribeiro, Djacy Barbosa Ribeiro, Washington Luis Assunção Pereira e Fernando Elias pela recepção amigável e cordial.

Finalmente, agradeço em especial aos animais utilizados neste experimento. Almejamos que os resultados obtidos justifiquem sua utilização.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	ii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	2
1.1 INTRODUÇÃO.....	2
1.2 REVISÃO DA LITERATURA.....	2
1.2.1 Classificação taxonômica e características gerais	2
1.2.2 Morfofisiologia e comportamento reprodutivo	2
1.2.3 A ultra-sonografia ginecológica e obstétrica em primatas não-humanos	2
CAPÍTULO 2 - ULTRA-SONOGRAFIA GINECOLÓGICA EM MACACO-DA-NOITE (<i>Aotus azarai infulatus</i>) AOTIDAE – “PRIMATES”	2
2.1 INTRODUÇÃO.....	2
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	2
2.2.1 Animais	2
2.2.2 Condições de cativeiro	2
2.2.3 Métodos de captura e contenção	2
2.2.4 Avaliação da frequência cardíaca e do tempo de exame.....	2
2.2.5 Exame de ultra-som ginecológico	2
2.2.6 Análise estatística	2
2.3 RESULTADOS	2
2.4 DISCUSSÃO.....	2
2.5 CONCLUSÕES.....	2
CAPÍTULO 3 – ULTRA-SONOGRAFIA OBSTÉTRICA EM MACACO-DA-NOITE (<i>Aotus azarai infulatus</i>) AOTIDAE – “PRIMATES”	2
3.1 INTRODUÇÃO.....	2
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	2
3.2.1 Animais	2
3.2.2 Exame de ultra-som obstétrico.....	2
3.2.3 Análise estatística	2
3.3 RESULTADOS	2
3.4 DISCUSSÃO.....	2
3.5 CONCLUSÕES.....	2
4. REFERÊNCIAS.....	2

LISTA DE ABREVIATURAS

ACA – Área da circunferência abdominal
ACC – Área da circunferência craniana
ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico
ALT – Alanina aminotransferase
AST – Aspartato aminotransferase
bpm – Batimentos por minuto
CA – Circunferência abdominal
CC – Circunferência craniana
CCC – Comprimento crânio caudal
CENP – Centro Nacional de Primatas
CF – Comprimento do fêmur
CL – Corpo lúteo
COD – Comprimento do ovário direito
COE – Comprimento do ovário esquerdo
DBP – Diâmetro biparietal
DCC – Diâmetro crânio caudal
DDV – Diâmetro dorso ventral
DMSG – Diâmetro médio do saco gestacional
DOF – Diâmetro occítoprontal
DT – Diâmetro transversal
EE – Espessamento endometrial
EOD – Espessura do ovário direito
EOE – Espessura do ovário esquerdo
Fc M – Frequência cardíaca média
Fc1 – Frequência cardíaca inicial
Fc2 – Frequência cardíaca final
LOD – Largura do ovário direito
LOE – Largura do ovário esquerdo
MHz – Mega Hertz
P1 – Primeiro período
P2 – Segundo período
SG – Saco gestacional
SUSEG – Sinais ultra-sonográficos evolutivos da gestação
SUSPG – Sinais ultra-sonográficos precoces da gestação
T1 – Turno um (8:00 às 11:59)
T2 – Turno dois (12:00 às 16:59)
T3 – Turno três (17:00 às 19:59)
TE – Tempo de exame
VOD – Volume do ovário direito
VOE – Volume do ovário esquerdo
VU – Volume uterino

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a mais rica comunidade de primatas do mundo, mais do que o dobro de qualquer outro país neotropical. Entretanto, as pressões econômicas sobre o uso da terra na América Latina têm colocado em risco inúmeras espécies (AYRES & DEUTSCH, 1982). Pouco se conhece sobre a fisiologia reprodutiva dos primatas da Amazônia brasileira. Dessa forma, é necessário ampliar os conhecimentos nessa área, objetivando reverter o quadro de desaparecimento de muitas espécies de mamíferos amazônicos, principalmente os chamados primatas não-humanos. Diante dessa perspectiva, o Centro Nacional de Primatas (CENP), órgão pertencente a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde (MS), localizado no município de Ananindeua – PA, vem desenvolvendo trabalhos de reprodução de primatas em condições controladas para que sejam utilizados em pesquisas no Brasil e no exterior. Atualmente o plantel soma 588 exemplares, entre primatas do Velho Mundo (88) e primatas do Novo Mundo (500), distribuídos em 23 espécies classificadas segundo RYLANDS et al. (2000).

A ultra-sonografia ginecológica e obstétrica tem se tornado um método indispensável no manejo de rotina, na avaliação da saúde e em pesquisas com reprodução de primatas não-humanos em cativeiro (SEIER et al., 2000). O exame do útero e dos ovários sempre foi de grande preocupação na ginecologia, uma vez que podem sediar inúmeras doenças relacionadas com a redução da fertilidade ou ocasionar sérios danos à saúde das fêmeas. Várias técnicas têm sido utilizadas para a detecção da gestação em mamíferos, algumas dessas representam avanços tecnológicos na prática com animais de cativeiro, como é o caso da ultra-sonografia e da laparoscopia (HUTCHINS et al., 1996). O uso crescente de primatas gestantes e de seus fetos nas pesquisas científicas (CORRADINI et al., 1998), torna importante o diagnóstico e monitoramento da gestação, uma vez que possibilita manejar adequadamente a fêmea gestante.

Os macacos-da-noite são extremamente susceptíveis ao estresse quando se deseja realizar exames ultra-sonográficos. A utilização de drogas anestésicas e os métodos de captura devem ser cuidadosamente avaliados antes do processo de contenção (MONTEIRO et al., 2006). Sendo assim, objetivou-se realizar exames de ultra-som ginecológico e obstétrico por meio do condicionamento, sem uso de contenção química, em macacos-da-noite (*Aotus azarai infulatus*).

1.2 REVISÃO DA LITERATURA

1.2.1 Classificação taxonômica e características gerais

A classificação taxonômica dos macacos-da-noite tem sido foco de grandes controvérsias devido, principalmente, a novas descobertas de espécies e subespécies (THORINGTON, 1976). Eram enquadrados em uma única espécie: *Aotus trivirgatus*, e em várias subespécies (THORINGTON, 1976; AYRES & DEUTSCH, 1982; FORD, 1994). Segundo MITTERMEIER et al. (1988) e FORD (1994), este gênero é formado por oito espécies, além da já citada. SCHNEIDER et al. (1993) classificaram o gênero *Aotus* da seguinte forma: reino “Animalia”, filo “Chordata”, classe “Mammalia”, ordem “Primates”, subordem “Anthropoidea”, infraordem “Platirrhini”, família “Cebidae” e gênero “*Aotus*”.

Um entendimento completo sobre a diversidade dos primatas é de vital importância em propostas de conservação, tanto *in situ* como *ex situ*. Dessa forma, RYLANDS et al. (2000) propuseram uma nova classificação taxonômica para primatas neotropicais, na qual os primatas do Novo Mundo foram listados em cinco famílias (Callitrichidae, Cebidae, Aotidae, Pitheciidae e Atelidae), 18 gêneros (*Cebuella*, *Mico*, *Callithrix*, *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Saimiri*, *Cebus*, *Aotus*, *Callicebus*, *Pithecia*, *Chiropotes*, *Cacajao*, *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix*, *Oreonax* e *Brachyteles*), 110 espécies e 205 espécies e subespécies. Nessa nova classificação o gênero *Aotus* saiu da família “Cebidae”, passando a constituir a família “Aotidae”, com 13 espécies e subespécies: *Aotus trivirgatus*, *A. vociferans*, *A. miconax*, *A. nancymae*, *A. nigriceps*, *A. herskovitzi*, *A. lemurinus lemurinus*, *A. lemurinus griseimembra*, *A. lemurinus*

zonalis, *A. lemurinus brumbacki*, *A. azarai azarai*, *A. azarai boliviensis* e *A. azarai infulatus*.

Os macacos-da-noite são os únicos primatas antropóides que apresentam hábitos noturnos. Ocorrem no norte da Argentina, na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Panamá, Paraguai, Peru e Venezuela, representando a mais ampla distribuição entre primatas da América do Sul (ELLIOT et al., 1976; AYRES & DEUTSCH, 1982; DIXSON, 1983; FORD, 1994). O gênero *Aotus* é mais comumente encontrado em áreas de planícies, mas na Colômbia podem ser encontrados em altitudes superiores a 3200 metros (EISENBERG & REDFORD, 1989). Possuem *habitat* generalista, ocupando florestas primárias e secundárias, além de fragmentos florestais (AQUINO & ENCARNACION, 1994). Durante o dia ficam escondidos em troncos ou na copa das árvores e, por volta das 18 horas iniciam suas atividades, interrompendo-as as cinco ou seis horas da manhã seguinte (AYRES & DEUTSCH, 1982; AQUINO & ENCARNACION, 1994). Durante a noite podem percorrer cerca de oitocentos metros à procura de frutos, folhas, insetos, ovos de pequenos vertebrados, pequenos morcegos e filhotes de aves (AYRES & DEUTSCH, 1982; COIMBRA FILHO, 1982).

Do ponto de vista biomédico os macacos-da-noite são excelentes animais experimentais. Existem estudos sobre malária (THORRIGTON, 1976; AYRES & DEUTSCH, 1982), câncer (ABLASHI et al, 1972; BARAHONA et al., 1976), além dos relacionados à fisiologia visual (ALLMAN & KAAS, 1974).

1.2.2 Morfofisiologia e comportamento reprodutivo

O útero dos primatas tem formato de pêra e origina-se da fusão dos ductos de Müller pareados. Existe um septo entre os ductos fundidos, que é subsequente reabsorvido, formando, assim, uma cavidade uterina única, dividida em três regiões: fundo, corpo e cérvix. Em mulheres o útero é um dos órgãos mais dinâmicos, seu volume e configuração modificam-se sob influência hormonal da puberdade, menacme, menopausa e pelo número de partos (ALMEIDA, 1999; HALL & YODER, 1994; SAUERBREI et al., 2000).

Observou-se mediante os estudos de HERTIG et al. (1976) e de MONTEIRO et al. (2006), que os macacos-da-noite possuem úteros simples, característico da ordem

“Primates”, dividido em três regiões: fundo, corpo e cérvix e se localizado medialmente à cavidade pélvica e ventralmente à bexiga.

Os ovários dos animais da infraordem Platyrrhini são proporcionalmente maiores que os Catarrhini, principalmente no que se relaciona ao tecido intersticial glandular. Dessa forma, a extensa luteinização ocorrida nos ovários dos primatas neotropicais talvez seja responsável pelos altos níveis de progesterona mensurados no plasma desses animais (KOERING, 1974). Os ovários de macacos-da-noite são estruturas grandes, comparativamente ao tamanho dos animais, de formato ovóide. HERTIG et al. (1976) observaram, para esses órgãos, comprimento variando entre 0,47 e 0,87cm, sendo mais freqüente comprimentos de 0,60 e 0,80cm. A largura variou entre 0,30 e 1,00cm, sendo mais comum larguras de 0,40 e 0,70cm. A variável espessura apresentou medidas oscilando entre 0,20 e 0,64cm, sendo mais observado medidas de 0,40 e 0,50cm. Histologicamente observou-se grande quantidade de tecido intersticial luteinizado na região medular, ocasionando estreitamento da camada cortical. Esse tecido não apresentou organização celular bem definida, dificultando a identificação macro e microscópica da ovulação e do corpo lúteo (CL) em macacos-da-noite. Outros autores também relataram a dificuldade de identificar o CL em primatas neotropicais (DEMPSEY, 1939; WISLOCKI, 1939). A ovulação e o CL inicial não foram facilmente identificados por ultra-som em macacos *rhesus* (MORGAN et al. 1987), embora isso não tenha sido descrito por outros autores (ADAMS, et al., 1992; OERKE et al., 1996).

Esses primatas não apresentam dimorfismo sexual visível em relação ao seu tamanho ou a sua conformação geral, com peso em torno de um quilograma (kg) para ambos os sexos (FORD, 1994). Observações semelhantes foram registradas por CASTRO et al. (2003), quando realizaram a biometria de *Aotus azarai infulatus* (n = 40), não sendo constatadas diferenças significativas entre os pesos de machos e fêmeas 0.980 ± 0.06 e 0.946 ± 0.09 kg (média \pm dp), respectivamente. Entretanto, HERTIG et al. (1976) observaram que, quando sexualmente maduros, são animais de pequeno porte pesando entre 0,442 e 0,970kg, estando a maioria na faixa de 0,700 e 0,800kg.

Em cativeiro, a maturidade sexual das crias de macacos-da-noite é tolerada pelos pais, não havendo comportamento contrário à presença dos jovens em puberdade no grupo familiar, embora, em alguns grupos, possam ocorrer sérias brigas

decorrentes da aproximação da maturidade, entre 18 e 24 meses de idade. Em condições naturais, talvez ocorra a emigração da cria madura de seu grupo familiar, antes do desencadeamento de agressões (DIXSON, 1983, 1994).

Em vida livre andam em grupos familiares de dois a quatro indivíduos, constituídos normalmente pelo casal (monogâmico) e suas crias jovens. Uma característica dos primatas monogâmicos é a freqüência relativamente baixa de comportamento copulatório em pares estabelecidos (KLEIMAN, 1977 *apud* DIXSON, 1994). Experimentos realizados com cinco grupos desses animais sugeriram que a cópula seja coincidente com o período periovulatório da fêmea, pois elas tornaram-se gestantes mesmo com a baixa freqüência observada (19 montas em 278h). No entanto, estudos mais detalhados da atividade sexual afirmaram que a fêmea não é receptiva apenas durante a fase periovulatória. Entretanto, caso os mesmos parceiros sejam mantidos, existe tendência de aumento da freqüência copulatória em todos os estágios do ciclo (DIXSON, 1994).

Tradicionalmente, a reprodução em cativeiro de macacos-da-noite pode ser considerada difícil e delicada (DIXSON, 1994). Entretanto, segundo MÁLAGA et al. (1997), eles são capazes de reproduzir em cativeiro, desde que se mantenham práticas de manejo que simulem ao máximo a estrutura social observada em seu ambiente natural. Há evidências de que, em condições controladas, não exista influência estacional na reprodução desses animais, embora alguns autores não saibam se o mesmo ocorre em condições naturais (ELLIOT et al., 1976; DIXSON, 1983; MÁLAGA et al., 1997). FERNANDES-DUQUE et al. (2002), estudando populações de vida livre de macacos-da-noite na região do Chaco argentino, constataram que as mudanças no fotoperíodo e na temperatura podem promover a atividade reprodutiva das fêmeas. Nessa região, os acasalamentos concentram-se nos meses de abril, maio e junho, quando os dias são mais curtos e as temperaturas mais amenas, fazendo com que as fêmeas iniciassem a gestação nos períodos de abundância de comida.

Segundo HODGES (1987), pode-se dividir o ciclo ovariano dos primatas em três fases distintas: folicular, ovulatória e lútea. Essas fases estão diretamente relacionadas ao comportamento endócrino do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, que pode ou não sofrer influência da sazonalidade. De acordo com DIXSON (1994), a fase folicular

do ciclo ovariano de macacos-da-noite dura, em média, seis dias e a fase luteal 10 dias. Essas observações basearam-se na análise hormonal de metabólitos urinários e nas concentrações plasmáticas de hormônios, realizadas nos trabalhos de BONNEY et al. (1979, 1980). Esses autores encontraram níveis basais de 17β estradiol entre 0,1 e 0,2 ng/mL e níveis de pico de $0,68 \pm 0,05$ ng/mL, ocorrendo em intervalos de 15,5 dias.

A análise das quantidades de esteróides excretados na urina e presentes no plasma de fêmeas da espécie *Aotus trivirgatus*, indicou que o ciclo ovariano seja de aproximadamente 16 dias. O 17β estradiol foi o estrogênio de maior concentração presente na urina dessas fêmeas (BONNEY et al., 1979 e 1980), semelhante ao observado com outros primatas do Novo Mundo (*Callithrix jacchus*) e em primatas do Velho Mundo (*Pan troglodytes* e *Pongo pygmaeus*) (GRAHAM et al., 1972; COLLINS et al., 1975 *apud* DIXSON, 1994). Os níveis circulantes de progesterona foram muito mais elevados, em média 250 ng/mL, durante a metade da fase luteal (BONNEY et al., 1979 e 1980). Altos níveis de progesterona nessa fase também foram encontrados em outros primatas do Novo Mundo (*Callithrix sp.*, *Saguinus sp.*, *Saimiri sp.* e *Cebus sp.*), em contraste com os primatas do Velho Mundo (DIXSON, 1994). Os níveis circulantes de progesterona em fêmeas de primatas neotropicais foram 8 a 12 vezes mais altos que os encontrados em fêmeas de primatas do Velho Mundo e 6 a 10 vezes mais altos que os descritos em seres humanos (GUIMARÃES, 2001).

Segundo HODGES (1987), a menstruação ocorreria em primatas do Velho Mundo e na mulher, estando ausente na maioria dos primatas do Novo Mundo. BONNEY & SETCHELL (1980) relataram que o macaco-da-noite não apresentou visível ciclo estral, como se verifica em outros mamíferos, e nem detectável ciclo menstrual tal qual em primatas do Velho Mundo. Com exceção dos macacos-de-cheiro (*Saimiri sp.*) e dos macacos-da-noite (*Aotus sp.*), todos os outros cebídeos menstruam (NAGLE, 1991). Porém, segundo DIXSON (1983) o macaco prego é a única espécie dessa família que apresenta menstruação visível.

Por longo período pensou-se que apenas os primatas do Velho Mundo menstruavam, em decorrência da abundante perda sangüínea por via vaginal, fator não observado em fêmeas do Novo Mundo. Esse fenômeno ocorre devido à presença de arteríolas espiraladas no endométrio das fêmeas da infraordem Catarrhini. Nelas, a

menstruação é precedida por uma vasoconstrição, resultando em necrose endometrial e lesão endotelial dos vasos, gerando conseqüente descarga sangüínea. Nos primatas neotropicais, a hemorragia menstrual pode ser observada utilizando-se a técnica da citologia vaginal, onde pode ser observado aumento de hemácias, através de microscopia ótica (GUIMARÃES, 2001).

Em cativeiro, os macacos-da-noite iniciam a reprodução após ambientação variável (até 24 meses) e, em condições normais, ela é mantida havendo, em média, uma cria a cada oito meses (JONES & SIMPSON, 1982; DIXSON, 1983). Entretanto, segundo DIXSON (1994), não existe padrão definido de intervalo entre partos, como se poderia esperar se ocorresse estro pós-parto. MÁLAGA et al. (1997), identificaram intervalos médios entre partos de $14,6 \pm 7,7$ meses, que se tornaram progressivamente menores para os partos subseqüentes. Esses estudos foram realizados, ao logo de oito anos, com *Aotus nancymae* (n = 534), *A. lemurinus griseimembra* (n = 151), *A. vociferans* (n = 36) e *A. azarai boliviensis* (n = 9). O abortamento foi considerado a principal causa de falha reprodutiva em macacos-da-noite, com média de 22% nas gestações avaliadas (n = 368). As espécies *A. lemurinus griseimembra* e *A. vociferans* apresentaram maiores taxas de abortamento: 40% e 33%, respectivamente. Sessenta e cinco por cento dessas fêmeas abortaram o primeiro concepto e produziram um neonato na segunda concepção (MÁLAGA et al., 1997). UMAÑA & ESPINAL (1982) estudando a reprodução de uma colônia de *Aotus trivirgatus* (n = 30), observaram, durante três anos, 47 gestações das quais resultaram 63,8% de crias viáveis e 32,2% de perdas embrionárias e/ou fetais. A mortalidade pré-natal pode ter muitas causas tais como a nutrição materna, estresse, doença, sobrecarga uterina e desenvolvimento inadequado do feto. Todos esses fatores somados aos métodos de monitoramento de gestação exercem influências na variação da mortalidade pré-natal. A maior parte da mortalidade pré-natal em primatas não-humanos ocorre antes ou durante a organogênese (JAQUISH, et al., 1996). MONTEIRO et al. (2006) observaram taxas de 100% de reabsorção embrionária após o monitoramento ultra-sonográfico de macacos-da-noite, quando se utilizou a contenção química.

Em condições naturais, os primatas do gênero *Aotus* produzem um filhote por gestação e o macho adulto tem papel importante no cuidado e transporte do filhote

após o nascimento (COIMBRA FILHO, 1982). Observações de cativeiro, em 13 grupos de *Aotus lemurinus*, demonstraram que machos e fêmeas ocuparam a maior parte do tempo carregando e dando atenção à sua cria. O recém-nascido pesa entre 90 e 105g; seu desenvolvimento é rápido e em alguns casos ele consegue passar da mãe para o pai no mesmo dia do nascimento (DIXSON, 1994). Em 287 nascimentos em cativeiro observados por MÁLAGA et al. (1997), a proporção entre machos e fêmeas foi de 1,2:1 com apenas um caso de gêmeos. Nesse mesmo estudo a mortalidade neonatal média na primeira semana foi de 6,2%, com 85,9% das crias remanescentes sobrevivendo após três meses. Quanto ao período de duração da gestação, verificaram-se variações entre 149 – 159 dias (ELLIOT et al., 1976) e entre 120 – 140 dias (DUKELOW, 1980, MÁLAGA et al., 1997). Entretanto, com base no período de acasalamento, é confiável assumir que seja de 133 dias (19 semanas) (HUNTER et al., 1979).

1.2.3 A ultra-sonografia ginecológica e obstétrica em primatas não-humanos

A primeira aplicação da técnica ultra-sonográfica data da década de cinquenta do século XX, quando foi utilizada para estudar a caracterização de tecidos moles em seres humanos (DONALD et al., 1958 *apud* HILDEBRANDT & GÖRITZ, 1999). A ultra-sonografia foi incorporada à medicina veterinária 20 anos após sua primeira utilização em medicina. Subseqüentemente, já existe um notável desenvolvimento da técnica. Ela é utilizada em diversas aplicações incluindo: a oftalmologia, cardiologia, neurologia, ginecologia, andrologia, obstetrícia, transplantes de órgãos, oncologia, ortopedia e dermatologia (HILDEBRANDT & GÖRITZ, 1999).

Os transdutores convertem uma forma de energia em outra. Transdutores de ultra-som são algumas vezes chamados de sondas ou cabeças de varredura. Eles convertem energia elétrica em energia ultra-sônica e vice-versa. O transdutor ultra-sonográfico opera de acordo com o princípio piezoelétrico, que foi descrito em 1880. Esse princípio afirma que alguns materiais tais quais a cerâmica, o quartzo, o polivinilidênio fluorado e outros produzem corrente elétrica quando deformados sob pressão, sendo também capazes de produzir pressão quando submetidos à corrente elétrica (KREMKAU, 1996).

A frequência do transdutor é muito importante e deve ser selecionada de acordo com a anatomia da região a ser examinada e com o porte do animal. Frequências maiores possibilitam melhor definição, mas menor penetração. Dessa forma, frequências mais altas são indicadas para pequenos animais e para o exame de estruturas superficiais (KREMKAU, 1996; HILDEBRANDT & GÖRITZ, 1999; AUGUSTO, 2001 e 2006). Em ginecologia e obstetrícia de primatas do Velho Mundo as frequências mais utilizadas são as de 3,5; 5 e 7,5MHz (NYLAND et al., 1984; MORGAN et al., 1987; TARANTAL & HENDRICKX, 1988; TARANTAL et al., 1990; HERRING et al., 1991; HUTZ, 1994; LEMERY et al., 1995; SEIER et al., 2000). Para primatas do Novo Mundo as frequências de 5; 7,5 e 10 MHz foram as mais citadas na literatura (OERKE et al., 1996; KUEDERLING & HEISTERMANN, 1997; TARDIF et al., 1998; CORRADINI et al., 1998; OERKE et al., 2002; MONTEIRO et al., 2006).

Vários autores têm utilizado a técnica de ultra-som para estudos relacionados ao monitoramento da atividade ovariana em *Callithrix jacchus* (OERKE et al., 1996), avaliação do crescimento fetal, avaliação endometrial, morfologia ovariana e em *Macaca mulata* (NYLAND et al., 1984; MORGAN et al., 1987; HUTZ, 1994), diagnóstico precoce da gestação em *Macaca fascicularis* (CONRAD, et al., 1989), acompanhamento da gestação em babuínos e macaco verde africano (FARINE et al., 1988; HERRING et al., 1991; DEVONALD et al., 1996; SANTOLAYA-FORGAS et al., 1997; SEIER et al., 2000), estudo do desenvolvimento pré-natal em macaco prego (CORRADINI et al., 1998), monitoramento ultra-sonográfico da gestação em *Saguinus fuscicollis* (KUEDERLING & HEISTERMANN, 1997), estimativa da idade gestacional em *Callithrix jacchus* (TARDIF et al., 1998). Portanto, embora amplamente disponível para outras espécies de primatas, em macacos-da-noite, só foi encontrado o trabalho de MONTEIRO et al (2006) relacionado à utilização de técnica de ultra-sonografia para avaliação uterina e diagnóstico de gestação.

Para se realizar exames ultra-sonográficos consistentes e detalhados em ginecologia e obstetrícia é necessário seguir normas pré-estabelecidas. Para isso, a "American Institute of Ultrasound in Medicine" (AIUM) estabeleceu orientações para a avaliação ultra-sonográfica da pelve feminina (SAUERBREI et al., 2000). Entretanto, esses mesmos autores frisaram que a adesão às normas não assegura a acurácia dos

resultados e que elas necessitam evoluir e serem aperfeiçoadas com o tempo. Algumas dessas orientações podem ser adaptadas para o exame de ultra-som ginecológico e obstétrico de primatas neotropicais.

A avaliação ultra-sonográfica do útero e dos ovários deve ser feita por meio de varreduras sagitais e transversais sendo analisados a textura ecogênica, contornos, forma, posição e dimensões. A textura ecogênica do útero deve ser homogênea, ou seja, seu parênquima não deve apresentar alterações de ecogenicidade. A ecotextura dos ovários é variável de acordo com a fase do ciclo ovariano. Em geral, os ovários de mulheres apresentam variações consideráveis em tamanho, forma e posição tanto entre quanto no mesmo indivíduo. A localização também é variável, mas podem ser encontrados, com frequência, em posição anterior aos vasos ilíacos, lateralmente ao útero e superficialmente ao músculo obturador interno (HALL & YODER, 1994; SAUERBREI et al., 2000).

No que se refere às dimensões, a literatura define que, ao corte sagital, é possível avaliar o comprimento ou diâmetro crânio-caudal do útero (DCC), que representa a distância do fundo até a cérvix. O diâmetro dorso-ventral (DDV) indica a profundidade do útero, e é obtido perpendicularmente ao DCC. A largura do útero é medida no plano transversal e representa o diâmetro transversal (DT) (SAUERBREI et al., 2000; MONTEIRO et al., 2006). De posse dessas dimensões é possível calcular o volume uterino (VU), aproximando-o do modelo geométrico esferoidal de três distâncias (GE MEDICAL SYSTEMS, 2000).

A avaliação uterina de macacos-da-noite, por ultra-som, foi recentemente realizada por MONTEIRO et al. (2006). Ao analisar as dimensões uterinas, esses autores constataram $P < 0,05$ para as variáveis DCC e DDV na comparação entre primíparas e pluríparas. Entretanto não foram observadas diferenças significativas para a variável DT. As variações dessas medidas apresentaram reflexos diretos nos volumes uterinos, indicando que o VU de macacos-da-noite foi diretamente proporcional ao número de partições.

O endométrio deve ser analisado quanto a sua espessura, anormalidade focal e quanto a presença de líquido ou massa na cavidade endometrial. O miométrio e a cérvix devem ser avaliados quanto a mudanças em seu contorno, ecogenicidade e

tumorações (SAUERBREI et al., 2000). Em mulheres, o miométrio e o endométrio são facilmente distinguidos. O miométrio aparece homoganeamente cinza (ou moderadamente ecogênico) e não ocorrem mudanças durante o ciclo menstrual (CALLEN et al., 1979 *apud* MORGAN et al., 1987). O endométrio apresenta aparência semelhante a uma linha única, hiperecogênica, cortando medialmente o útero. É composto de duas camadas, uma basal mais profunda, que passa por pequenas mudanças, e uma camada funcional, próxima da cavidade uterina, que passa por mudanças cíclicas que podem ser observadas por ultra-som. As alterações cíclicas do endométrio foram detectadas ultra-sonograficamente em macacos *rhesus* (MORGAN et al., 1987). KUEDERLING & HEISTERMANN (1997), relataram que o útero de *Saguinus fuscicollis* se assemelha a uma estrutura arredondada a oval, notadamente mais escura (hipoecogênica) que os tecidos adjacentes.

Com o advento da ultra-sonografia os ovários puderam ser observados de forma não invasiva (HUTZ, 1994). A varredura ultra-sonográfica desses órgãos tem sido usada como importante ferramenta na investigação de várias causas de infertilidade em mulheres. O desenvolvimento tecnológico dos equipamentos de ultra-som e o uso de transdutores de alta frequência têm contribuído nas pesquisas que tratam da avaliação dos ovários, pois proporcionam imagens com boa resolução que podem ser associadas a técnicas modernas de análise de imagem (LASS & BRINSDEN, 1999; SINGH et al., 2003). Entretanto, infelizmente ainda existem poucas referências na literatura relacionadas à avaliação ultra-sonográfica dos ovários de primatas não-humanos, sobretudo para os neotropicais. Os estudos existentes estão mais relacionados às descrições macro e microscópicas dos ovários (DEMPSEY, 1939; WISLOCKI, 1939; ECKSTEIN, 1958; GURAYA, 1968; HERTIG et al. 1971; HERTIG et al., 1976; CLAVER et al., 1984; HAYAMA et al., 1997; DOMINGUES et al., 2004).

Segundo JAINUDEEN & HAFEZ (2000), os métodos para diagnóstico de gestação são divididos em três tipos: o não retorno ao estro, os testes imunológicos e os métodos clínicos. O não retorno ao estro é uma característica comum e tradicionalmente utilizada para relacionar ao estabelecimento da gestação. Durante a gestação o embrião inibe a regressão do corpo lúteo e impossibilita que o animal retorne ao estro. Conseqüentemente, o animal que não retorna ao estro após o coito é,

a princípio, assumido como gestante (NOAKES, 2001). Entretanto, é importante lembrar que a ausência de ciclicidade não deve ser interpretada como método seguro de diagnóstico de gestação, principalmente nos animais que exibem estacionalidade reprodutiva, como é o caso dos ovinos e caprinos (ISHWAR, 1995). Estresse lactacional, fatores comportamentais e condições patológicas do útero e dos ovários também afetam a exibição do estro (GOEL & AGRAWAL, 1992 e ISHWAR, 1995).

Dos testes imunológicos destacam-se os hormonais (progesterona, estrógenos, prolactina, gonadotrofinas coriônicas) e as substâncias associadas à gestação (fator precoce da gestação, proteína B). Entretanto, o tipo de método empregado depende de alguns fatores como: a espécie, substrato (sangue, fezes, urina, leite), estágio da gestação, custo, precisão e rapidez do diagnóstico (HUTCHINS et al., 1996; JAINUDEEN & HAFEZ, 2000). A partir da terceira semana de gestação, mediante a utilização da técnica de radioimunoensaio, é possível detectar baixos níveis de gonadotrofina coriônica na urina de *Aotus trivirgatus* (HALL & HODGEN, 1979).

Dentre os métodos clínicos destacam-se a palpação retal e/ou transabdominal, a laparoscopia e a ultra-sonografia que pode ser utilizada em todas as espécies. MITCHELL & JONES (1975) descreveram a palpação transabdominal, realizada experimentalmente, como sendo o método mais bem sucedido para o diagnóstico de prenhez em *Callithrix jacchus*. Segundo PHILLIPS & GRIST (1975) a palpação transabdominal em *C. jacchus* pode indicar uma gestação positiva 15 a 20 dias pós-concepção, mas raramente ela é confirmada antes de 20 a 30 dias. Entretanto, segundo HALL & HODGEN (1979) esse procedimento requer uma manipulação freqüente dos primatas, podendo contribuir para a ocorrência de abortamentos e natimortos.

Em animais de cativeiro o diagnóstico precoce da gestação auxilia na adoção de mudanças apropriadas à nutrição da fêmea gestante e pode estimar o dia do nascimento, que é especialmente importante em manejo de animais de zoológicos, pois possibilita, quando necessário, uma melhor assistência ao parto (HUTCHINS et al., 1996). Segundo CONRAD et al. (1989), o diagnóstico precoce da gestação em primatas não-humanos é importante por razões clínicas e investigativas. Para os pesquisadores que utilizam esses animais como modelos em reprodução humana, a habilidade de diagnosticar a gestação 14 dias após a provável concepção, promoveria oportunidades

para o estudo de fisiologia e patologia. Dessa forma, alguns autores consideraram o ultra-som em tempo real um importante método para o diagnóstico e monitoramento da gestação em primatas de laboratório, pois possibilita o acompanhamento do desenvolvimento e da viabilidade embrionária/fetal desde a concepção até o parto (KUEDERLING & HEISTERMANN, 1997). Segundo TARANTAL (1990), a técnica ultrasonográfica está bem estabelecida como modalidade de imagem para o diagnóstico e monitoramento da gestação em primatas humanos e não-humanos. Observa-se que as publicações ainda são muito mais numerosas em primatas do Velho Mundo (NYLAND et al., 1984; TARANTAL & HENDRICKX, 1988; FARINE et al., 1988; CONRAD et al., 1989; TARANTAL et al., 1990; TARANTAL, 1990; HERRING et al., 1991; TEARE et al., 1996; DEVONALD et al., 1996; TARANTAL et al., 1997; SANTOLAYA-FORGAS et al., 1997; SEIER et al., 2000) do que em primatas neotropicais (NAGLE et al., 1987; NARITA et al., 1988; JAQUISH et al., 1996; KUEDERLING & HEISTERMANN, 1997; TARDIF et al., 1998; CORRADINI et al., 1998).

Segundo CORRADINI et al. (1998), tem sido constante o uso de primatas gestantes e de seus fetos na pesquisa científica. Dessa forma, a descrição do crescimento e do desenvolvimento fetal durante a gestação tem sido um importante fator para a compreensão da fisiologia gestacional. No estudo do desenvolvimento pré-natal em *Cebus apella*, pela ultra-sonografia transabdominal, os mesmos autores observaram o desenvolvimento embrionário e o início do desenvolvimento fetal. Em seis animais a gestação pôde ser diagnosticada entre 15 e 27 dias de gestação. O saco gestacional (SG) foi visível com média de $23,7 \pm 2,8$ dias. O desenvolvimento embrionário foi avaliado através das maiores medidas do SG e do comprimento crânio-caudal (CCC). O desenvolvimento fetal foi avaliado através do CCC, do diâmetro biparietal (DBP), altura torácica (AT) e do comprimento do fêmur (CF). Os autores concluíram que a ultra-sonografia é um método de diagnóstico útil para a determinação e avaliação da idade gestacional nessa espécie. O macaco prego segue o plano geral de desenvolvimento embrionário dos mamíferos e o desenvolvimento fetal foi cronologicamente muito similar ao observado em outros primatas (*Macaca fascicularis*, *M. mulatta* e em *Papio anubis*) com períodos gestacionais similares (TARANTAL & HENDRICKX, 1988; HERRING et al., 1991).

KUEDERLING & HEISTERMANN (1997), estudando a gestação de *Saguinus fuscicollis* (142 - 150 dias), comparativamente, por ultra-som e por dosagem de progesterona plasmática, verificaram que o exame ultra-sonográfico foi mais precoce para o diagnóstico de gestação. Após a concepção, as superfícies do endométrio se separam e formam um lúmen, o qual foi detectado entre 16 e 18 dias de gestação ($17,2 \pm 1,0$ dias). Nesse momento, a cavidade uterina apresentou pequena estrutura hipocogênica no meio da linha endometrial, representando uma indicação segura do diagnóstico de gestação. O saco amniótico pôde ser visibilizado entre a quarta e quinta semana, ao redor de 32 a 52 dias de gestação. Uma semana antes do tempo estimado para a concepção foram detectados níveis baixos de progesterona com valores médios de $4,7 \pm 1,6$ ng/mL. Observou-se marcante aumento pós-concepção, resultando em concentrações médias de $107,1 \pm 46,0$ ng/mL ao redor de 24 dias de gestação. Depois disso, os níveis de progesterona decresceram para $71,6 \pm 30,3$ ng/mL e se mantiveram nesse platô até aproximadamente dois meses antes do parto, quando ocorreu um segundo aumento significativo. Picos de $278,5 \pm 67,3$ ng/mL foram encontrados um mês antes do parto, declinando para níveis próximos aos da pré-concepção ($7,4 \pm 7,8$ ng/mL), dentro de uma semana após o parto.

CAPÍTULO 2 - ULTRA-SONOGRAFIA GINECOLÓGICA EM MACACO-DA-NOITE (*Aotus azarai infulatus*) AOTIDAE – “PRIMATES”

RESUMO – Objetivou-se condicionar fêmeas de macacos-da-noite ao exame de ultra-som ginecológico. Estabeleceu-se protocolo onde foram avaliadas frequências cardíacas iniciais, finais e médias (Fc1, Fc2 e Fc M), tempo de exame (TE), útero e ovários, durante dois períodos e em diferentes turnos. Utilizou-se transdutor linear de 5-12MHz. O útero e os ovários foram avaliados em cortes sagitais e transversais. Para o útero, levou-se em consideração o número de partos das fêmeas (nulípara, primípara e plurípara). As Fc2 foram mais baixas que as Fc1 ($P < 0,01$) nos dois períodos. Observou-se correlação negativa entre o TE e Fc2 ($r = - 0,14$ e $P < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os turnos. O volume uterino foi diretamente proporcional ao número de partos. O volume do ovário direito (VOD) foi maior que o do ovário esquerdo (VOE). Observaram-se correlações positivas ($P < 0,05$) entre o peso das fêmeas e o VOD ($r = 0,28$) e VOE ($r = 0,16$).

Palavras chave: *Aotus* sp, primata neotropical, frequência cardíaca, estresse, ginecologia, ultra-som.

SUMMARY – The objective was to condition female owl monkeys to the gynaecological ultrasound exam. A protocol was established, where initial, final and average heart rate (HR1, HR2 and AHR) were evaluated, time spent on the examination procedure (TS), uterus and ovary, during two periods and in two different shifts. A linear probe of 5-12MHz was utilized. The uterus and ovary were evaluated at the sagittal and transversal scan. As for the uterus, the females' number of parturitions (nuliparous, primiparous and pluriparous) was considered. The HR2 were lower than the HR1 ($P < 0.01$) in the two periods. A negative correlation was observed between TS and HR2 ($r = - 0.14$ and $P < 0.05$). There was no significant difference between the shifts. The uterine volume was directly proportional to the number of parturitions. The volume of the right ovary (ROV) was larger than the left ovary (LOV). Positive correlations were observed ($P < 0.05$) between the females' weight and the ROV ($r = 0.28$) and VLO ($r = 0.16$).

Key words: *Aotus* sp, neotropical primate heart rate, stress, gynaecology, ultrasound

2.1 INTRODUÇÃO

A utilização da ultra-sonografia em animais selvagens tornou-se regular no início da década de noventa do século passado, mas faz poucos anos que adquiriu notoriedade nos animais de zoológicos na América do Sul. Entretanto, a necessidade de contenção e o acoplamento adequado do transdutor à superfície corporal de mamíferos, aves, répteis e anfíbios, têm dificultado a utilização da ultra-sonografia em animais de zoológicos, pois requer diversos tipos de transdutores com frequências variadas (2 até 10 MHz) (HILDEBRANDT & GÖRITZ, 1999; AUGUSTO, 2001).

A ultra-sonografia ginecológica e obstétrica tem se tornado um método indispensável no manejo de rotina, na avaliação da saúde e em pesquisas com reprodução de primatas não-humanos em cativeiro (SEIER et al., 2000). Embora a técnica seja considerada não invasiva a necessidade de sedação, em algumas espécies de primatas e o alto custo do equipamento, muitas vezes, inviabilizam a utilização dessa técnica por algumas instituições brasileiras. Diante disso, o Centro Nacional de Primatas (CENP), instituição vinculada à Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde do Brasil, investiu na aquisição de um moderno aparato de ultra-som com a finalidade de desenvolver pesquisas de reprodução e na modernização de recursos de diagnóstico para o seu plantel.

O exame uterino sempre foi uma grande preocupação em ginecologia, uma vez que é o órgão do desenvolvimento da gestação e pode sediar inúmeras doenças que reduzem a fertilidade ou ocasionam sérios danos à saúde das fêmeas. Os ovários são, concomitantemente ao útero, importantes pontos de referência durante a ultra-sonografia ginecológica.

Os macacos-da-noite são extremamente susceptíveis ao estresse quando se deseja realizar exames ultra-sonográficos. A utilização de drogas anestésicas e os métodos de captura devem ser cuidadosamente avaliados antes do processo de contenção (MONTEIRO et al., 2006). Sendo assim, objetivou-se condicionar fêmeas de macacos-da-noite (*Aotus azarai infulatus*) ao exame de ultra-som ginecológico.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Animais

Todos os animais eram nascidos em cativeiro e pertencentes à colônia de reprodução do CENP, localizado no município de Ananindeua, Pará, Brasil (latitude 1°38'26" e longitude 48°38'22"). O projeto experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais do Instituto Evandro Chagas (protocolo CEPAN / IEC – n° 047/2005). Para identificação e controle, os animais possuíam um código de três de letras tatuadas na face interna da coxa direita e "microchip" implantado na porção dorsal na região interescapular.

Na seleção dos animais avaliou-se a condição de saúde com a realização de exames hematológicos, sendo colhidas amostras de sangue (3mL), pela punção da veia femoral, com utilização de seringas e agulhas estéreis. Do material colhido, foi realizado hemograma completo, utilizando contador automático Celm CC-550, e determinações de química seca (uréia, creatinina, ALT e AST), em Sistema Vitros® DTSC II, DT60 e DTE2. Também foram coletadas amostras para exames coproparasitológicos, sendo as fezes acondicionadas, logo após as defecações, em frascos plásticos estéreis identificados. As amostras foram analisadas mediante realização do exame direto e da técnica de Hoffman. Os animais que apresentaram alteração nos exames citados receberam protocolos terapêuticos preconizados pelo corpo clínico da instituição.

Inicialmente o estudo foi realizado com 10 casais previamente estabelecidos, de macacos-da-noite (*Aotus azarai infulatus*). Apenas as fêmeas foram monitoradas por ultra-som em dois períodos diferentes. O primeiro período (P1) aconteceu sem acasalamento e as fêmeas foram monitoradas, diariamente, por quatro meses, sendo cinco delas nos primeiros dois meses e outras cinco nos dois meses seguintes (n=10). Ao final do P1 as fêmeas foram acasaladas por 30 dias, porém sem monitoramento ultra-sonográfico. Nesse intervalo de tempo, ocorreu o óbito de uma das fêmeas e passou-se a trabalhar com nove casais. O segundo período (P2) ocorreu com acasalamento e o monitoramento foi semanal por sete meses seguidos (n=9). Durante os dois períodos foram realizados 717 exames de ultra-som ginecológico, sendo 522 exames no P1 e 195 no P2. Os exames foram realizados em três turnos: T1 (8:00 às

11:59), T2 (12:00 às 16:59) e T3 (17:00 às 19:59), objetivando-se correlacionar o horário do exame ao aumento ou diminuição da frequência cardíaca.

2.2.2 Condições de cativeiro

Os animais selecionados foram alojados, em sistema “indoor” com recintos de alvenaria revestidos de azulejo e tela metálica, instaladas no galpão de reprodução de número I (destinado às espécies monogâmicas) (Figura 1). Foram utilizados recintos medindo 3,85m de comprimento x 1,20m de largura x 2,40m de altura. Externamente, os recintos possuíam uma caixa abrigo de dimensões 35cm x 30cm x 30cm, com porta tipo guilhotina e suporte para bebedouro (Figura 1B). Internamente, possuíam duas pranchas de madeira para locomoção e acesso aos recipientes de alimentação. As fêmeas foram alimentadas conforme o manejo adotado pela instituição: diversos tipos de frutas, legumes, tubérculos, leite, ovos, ração canina (fonte de suplementação protéica), suplementos vitamínicos e minerais, além de água *ad libitum*.



Figura 1: **(A)** Visão externa do galpão de reprodução I do CENP, destinado às espécies monogâmicas. **(B)** Recintos de alvenaria revestidos de azulejo e tela metálica, utilizados para alojar os animais, onde se evidencia a caixa abrigo (**ca**), importante durante a captura no recinto.

2.2.3 Métodos de captura e contenção

As fêmeas foram capturadas com o auxílio do tratador que foi instruído a entrar no recinto, colocar uma fruta na caixa abrigo e estimular a entrada da fêmea. Em seguida a caixa foi imediatamente fechada através da porta guilhotina. Ato contínuo

transferiu-se a fêmea para uma caixa de transporte de madeira (35cm x 30cm x 40cm), levando-a para sala de ultra-sonografia do complexo clínico-cirúrgico do CENP.

Antes de iniciar o exame ultra-sonográfico as fêmeas foram pesadas, ainda no interior da caixa transporte, por meio da tara em balança eletrônica Filizola[®] MF-30 com capacidade mínima de 0,125 e máxima de 30kg. Em seguida foram contidas, utilizando-se luvas de couro (Figura 2A e B) e tricotomizadas na região pélvico-abdominal. Antes do início, durante e depois do exame, ofereceu-se diversos tipos de frutas, principalmente abacate, abacaxi, banana, goiaba, mamão, melancia e melão (Figura 2C). As frutas foram cortadas longitudinalmente em pedaços de aproximadamente 10cm para diminuir a probabilidade de acidentes (mordidas) durante o oferecimento.

Os exames ultra-sonográficos foram realizados utilizando-se o aparelho de ultra-som Medical SonoAce 9900[®] equipado com transdutor de banda larga transabdominal linear multifreqüencial (5-12 MHz). As imagens obtidas foram analisadas em monitor de 14", registradas em papel térmico acoplado a impressora Sony[®] vídeo graphic printer VP 895 MD e em CD-Rom R.



Figura 2: **(A)** Retirada da fêmea da caixa transporte (ct). **(B)** Contenção física, utilizando-se luvas de couro, para iniciar o exame de ultra-som. **(C)** Contenção em posição supina para oferecimento de frutas e realização da ultra-sonografia ginecológica.

2.2.4 Avaliação da freqüência cardíaca e do tempo de exame

Durante o exame as fêmeas foram contidas em posição supina (Figura 2C) para avaliação das freqüências cardíacas em batimentos por minuto (bpm) e do tempo de

exame em minutos (min.). As frequências cardíacas iniciais (Fc1) e finais (Fc2) de cada fêmea foram calculadas a partir da distância entre um pico sistólico e outro, obtido em Modo Doppler Espectral direcionado nas artérias ilíacas (Figura 3). A frequência cardíaca média (Fc M) de cada exame foi calculada através da média aritmética entre Fc1 e Fc2. O tempo inicial do exame (TI) foi registrado no momento da retirada da fêmea da caixa transporte (Figura 2A) e o tempo final (TF) quando ela era devolvida à caixa. O tempo de exame (TE) foi avaliado pela diferença entre TF e TI. De posse desses dados, foi possível estabelecer um comparativo entre as médias das Fc1, Fc2 e Fc M, correlacionando-as com o TE, durante os dois períodos de exame (P1 e P2).

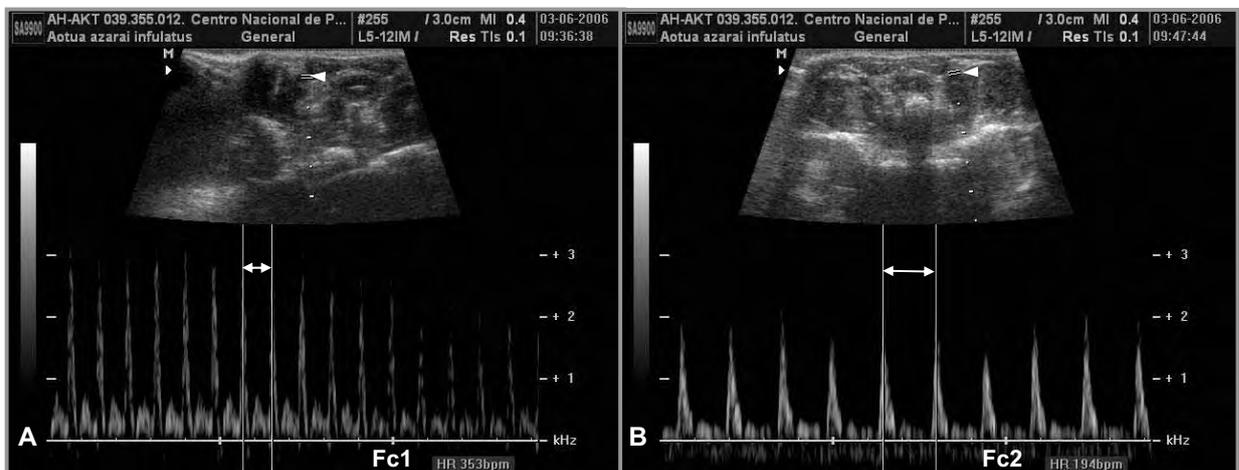


Figura 3: Avaliação das frequências cardíacas em Modo Doppler Espectral direcionado nas artérias ilíacas (cabeça da seta), calculadas a partir da distância entre um pico sistólico e outro (setas duplas). **(A)** Frequência cardíaca inicial (Fc1 = 353bpm). **(B)** Frequência cardíaca final (Fc2 = 194bpm), evidenciando redução de 159 bpm em relação a Fc1.

2.2.5 Exame de ultra-som ginecológico

Foram avaliados os seguintes parâmetros uterinos: contorno, forma, textura ecogênica, posição e dimensões. Para isso, procederam-se cortes ultra-sonográficos, do parênquima uterino nos planos sagitais e transversais. As variáveis que representaram o diâmetro crânio-caudal (DCC) e o diâmetro dorso-ventral (DDV) do útero foram obtidas ao corte sagital. A variável que representa o diâmetro transversal (DT) do útero foi mensurada ao corte transversal (Figura 4A). Cada variável uterina foi mensurada por um único observador, por três vezes, empregando a média das mesmas para o cálculo do volume. Sendo assim, o cálculo do volume uterino (VU), foi realizado

pela aproximação com o modelo geométrico esferoidal de três distâncias, conforme descrito por MONTEIRO et al. (2006). As dimensões e o volume uterino foram comparados ao número de partos das fêmeas, considerando-se como nulípara a fêmea que nunca pariu (n=1), primípara aquela com um único parto (n=1) e plurípara aquela com dois ou mais partos (n=8 em P1 e n=7 em P2)*.

Os ovários foram avaliados individualmente quanto: aos contornos, à forma, à textura ecogênica, à posição na cavidade abdominal, às dimensões das variáveis ovarianas e pela presença ou ausência de folículos. Para isso, foram realizados cortes ultra-sonográficos, nos planos sagitais e transversais, pelo maior diâmetro do parênquima ovariano. O útero foi utilizado como referência para identificação do ovário direito ou do esquerdo (OD - OE), que eram localizados movendo-se o transdutor levemente para os respectivos lados. A técnica de medição dos ovários foi semelhante à descrita por SAUERBREI et al. (2000). A variável comprimento foi obtida ao corte sagital, sendo representada pelo comprimento de cada ovário (COD - COE). As variáveis espessura e largura de cada ovário (EOD - EOE ou LOD - LOE) foram mensuradas ao corte transversal, obtido perpendicularmente ao comprimento.

Cada variável ovariana foi mensurada por um único observador, por três vezes, empregando a média das mesmas para o cálculo do volume. De posse dessas médias foi possível calcular o volume de cada ovário (VOD - VOE), semelhantemente ao descrito para o útero. Quando se detectou presença de folículos nos ovários, procedeu-se a mensuração através do seu maior diâmetro interno, repetindo-se a medida por três varreduras independentes (Figura 4B).

* A diferença no número de animais múltiparos nos períodos P1 e P2 ocorreu em função do óbito de uma das fêmeas, conforme descrito anteriormente.

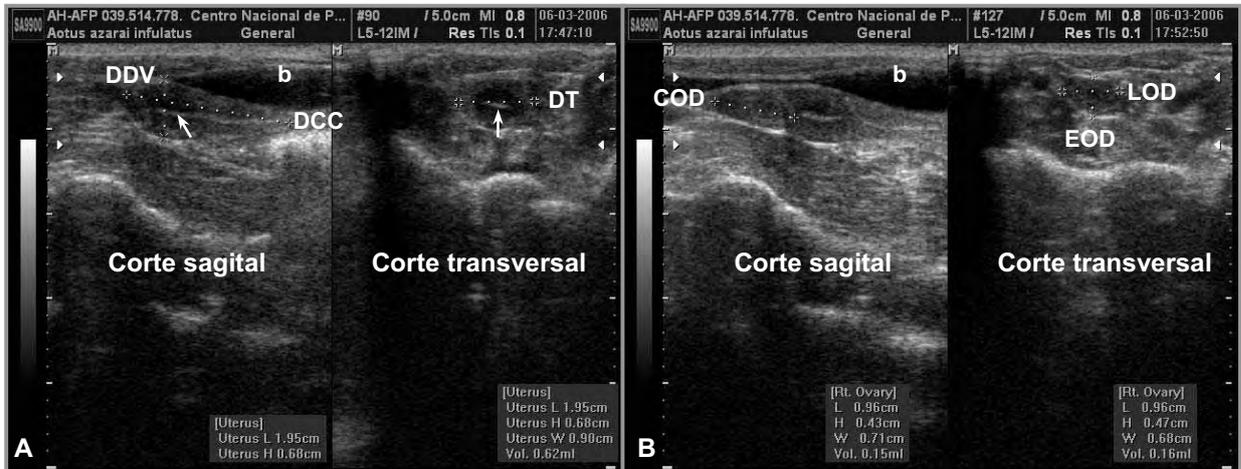


Figura 4: Plano de exame uterino e ovariano em fêmea adulta de *Aotus azarai infulatus*. **(A)** Mostra as variáveis uterinas. O diâmetro crânio-caudal (DCC) e diâmetro dorso-ventral (DDV) foram obtidos ao corte sagital e o diâmetro transversal (DT) foi mensurado ao corte transversal. Linha hiperecogênica no centro do útero indica as superfícies internas do endométrio (seta). **(B)** Mostra os planos de exame dos ovários. A variável comprimento foi obtida ao corte sagital, aqui representada pelo comprimento do ovário direito (COD). As variáveis espessura e largura foram mensuradas ao corte transversal, obtido perpendicularmente ao comprimento, sendo representadas pela espessura do ovário direito (EOD) e largura do ovário direito (LOD). A letra **b** nas figuras **A** e **B** mostra a bexiga urinária parcialmente repleta.

2.2.6 Análise estatística

Para comparação das características avaliadas foram calculados a média e o desvio padrão e aplicado o teste “t de Student”, sendo as médias das variáveis Fc1, Fc2, Fc M e TE comparadas por turno dentro do mesmo período e entre períodos. As médias das variáveis uterinas foram comparadas de acordo com número de partos por período. As médias das variáveis ovarianas foram comparadas entre cada ovário por período e entre períodos. Foi realizado ainda teste de correlação de Pearson entre o TE e Fc2 e entre o peso das fêmeas e o VU, VOD e VOE, todos independentemente do período do exame. Os testes de média e de correlação foram realizados de acordo com STEEL et al. (1997) com nível de significância de até 5% de probabilidade.

2.3 RESULTADOS

Durante a avaliação da saúde dos animais observou-se que os exames de hemograma completo e de química seca apresentaram-se normais para o padrão da espécie. Entretanto, os exames coproparasitológicos acusaram a presença de ovos compatíveis com *Tripanoxyuris* sp., em 50% dos animais. Os animais positivos foram tratados, por via oral, com dose única de 9,5mg de pamoato de oxantel associado a 14,5mg de pamoato de pirantel por quilograma de peso (Basken suspensão[®], König do Brasil, Ltda), repetindo-se após 21 dias. Como medida profilática utilizou-se lanças-chamas no recinto, objetivando eliminar focos de contaminação do nematóide.

As fêmeas foram facilmente condicionadas a entrarem nas caixas de abrigo e de transporte, entretanto apresentaram comportamento indicador de estresse no momento da contenção física. Os animais vocalizavam, urinavam, defecavam e realizavam tentativas de fuga durante a contenção. Em muitos casos a micção e a defecação eram observadas durante o transporte para o local do exame ou no momento da abertura da caixa transporte. No decorrer do experimento observou-se que o número de repetições dos exames e o oferecimento de frutas durante o processo de contenção foram considerados aspectos importantes para reduzir os indicadores de estresse, pois mesmo não os tendo quantificado, foi possível verificar sua diminuição. Isso sugere que os animais se habituaram ao exame ultra-sonográfico à medida que iam sendo realizados. Constatou-se maior predileção pelas frutas mais suculentas, abacaxi e melancia, em detrimento das outras. O corte das frutas em pedaços, com aproximadamente 10cm, diminuiu os riscos de mordidas durante o oferecimento, pois proporcionou maior distanciamento da boca do animal em relação à mão do examinador. É importante ressaltar que o óbito de uma das fêmeas não teve qualquer relação com o protocolo experimental, sendo ocasionado por acidente no recinto que gerou fratura das porções distais da tíbia, fíbula e lesão por cisalhamento do tarso e metatarso. O animal foi submetido a sucessivas cirurgias reparadoras indo a óbito 30 dias após a lesão.

Na Tabela 1 verifica-se o efeito do horário de realização do exame ultra-sonográfico (turnos T1, T2 e T3) nas frequências cardíacas (Fc1, Fc2 e Fc M) e no tempo de exame (TE). Durante o P1 não foram observadas diferenças significativas

quanto ao horário do exame. O período dois apresentou $P < 0,05$ quando foram comparadas as Fc2 nos turnos dois e três, entretanto, esse resultado não foi significativo para Fc1 e Fc M. Quando se realizou a análise independentemente do período em que o exame foi realizado, observou-se $P > 0,05$, com Fc2 de $288,27 \pm 49,85$ e $290,50 \pm 46,37$ bpm (média \pm dp) para os turnos T2 e T3, respectivamente. Isso sugere que não houve efeito do horário de realização dos exames (turnos) sobre as variáveis analisadas. O TE não apresentou diferenças significativas quando comparados entre os turnos em ambos os períodos. Entretanto, o TE médio obtido no P1 foi maior ($P < 0,01$) que o obtido em P2 (Tabela 2).

Tabela 1: Efeito do horário de realização dos exames ultra-sonográficos nas freqüências cardíacas e tempo de exame (média \pm desvio padrão) durante os períodos (P1) (sem acasalamento, monitoradas diariamente) e P2 (com acasalamento, monitoradas semanalmente). (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

Var.	Períodos e Turnos					
	P1			P2		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Fc1 (bpm)	336,16 ^a \pm 43,86	317,05 ^a \pm 52,32	321,82 ^a \pm 46,69	312,00 ^a \pm 43,42	316,00 ^a \pm 45,55	316,76 ^a \pm 38,76
Fc2 (bpm)	293,55 ^a \pm 56,73	285,99 ^a \pm 48,29	296,49 ^a \pm 42,37	278,22 ^{ab} \pm 51,80	292,91 ^a \pm 52,97	263,35 ^b \pm 54,92
Fc M (bpm)	316,82 ^a \pm 46,74	302,02 ^a \pm 46,44	312,09 ^a \pm 42,11	295,11 ^a \pm 39,89	304,46 ^a \pm 42,88	290,06 ^a \pm 38,60
TE (min.)	17,42 ^a \pm 6,30	18,88 ^a \pm 7,11	18,45 ^a \pm 7,67	13,93 ^a \pm 3,38	13,66 ^a \pm 3,28	13,24 ^a \pm 2,77

Var., variáveis; Fc1, freqüência cardíaca inicial; Fc2 freqüência cardíaca final; Fc M, freqüência cardíaca média; TE, tempo de exame. T1, turno um (8:00 as 11:59); T2, turno dois (12:00 as 16:59); T3, turno três (17:00 as 19:59). Comparação realiza entre turnos no mesmo período. Letras diferentes na mesma linha indicam $P < 0,05$ pelo teste t.

Observou-se, mediante os dados apresentados na Tabela 2, que houve variação significativa entre as freqüências cardíacas, ou seja, as Fc2 foram menores que as Fc1 nos dois períodos avaliados ($P < 0,01$). Em alguns exames constataram-se diferenças de até 159 bpm entre Fc1 e Fc2 (Figura 3). As Fc1 e Fc2, obtidas em P2, foram mais baixas do que as obtidas em P1, entretanto o nível de significância só foi considerado significativo ($P < 0,01$), na comparação com as Fc M, que apresentaram médias de $307,89 \pm 45,98$ e $297,91 \pm 40,95$ bpm (média \pm dp) para P1 e P2, respectivamente.

Tabela 2: Comparação entre as freqüências cardíacas e tempo de exame (média \pm desvio padrão) durante os períodos (P1) (sem acasalamento, monitoradas diariamente) e P2 (com acasalamento, monitoradas semanalmente). (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

Períodos	Freqüências cardíacas (bpm)			Tempo de exame (min.)
	Fc1	Fc2	Fc M	
P1	323,25 ^{AA} \pm 49,44	290,46 ^{AB} \pm 48,64	307,89 ^A \pm 45,98	18,51 ^A \pm 7,13
P2	313,78 ^{AA} \pm 43,65	282,04 ^{AB} \pm 52,95	297,91 ^B \pm 40,95	13,78 ^B \pm 3,29

Fc1, freqüência cardíaca inicial; Fc2, freqüência cardíaca final; Fc M, freqüência cardíaca média. Médias com letras diferentes apresentam $P < 0,01$ pelo teste t. Letras minúsculas comparação realizada nas colunas. Letras maiúsculas comparação realizada nas linhas entre Fc1 e Fc2.

O teste de correlação (r) feito entre o TE e Fc2 indicaram haver correlações negativas de baixa intensidade, porém significativas ($r = -0,14$ e $P < 0,05$), ou seja, à medida que o TE aumentou, houve tendência para diminuição de Fc2.

A utilização do transdutor de banda larga (5-12 MHz) proporcionou excelente avaliação da estrutura uterina e ovariana. Ultra-sonograficamente as fêmeas apresentaram úteros simples, com contornos regulares e de aspecto moderadamente ecogênico em relação aos tecidos adjacentes. Em três fêmeas (30%) observou-se presença de estrutura hiperecogênica na região do fundo uterino, compatível com área de fibrose decorrente de cirurgia cesariana. Foi possível visibilizar diferenças morfológicas entre os úteros analisados. O útero nulíparo apresentou formato achatado dorsoventralmente quando comparado ao útero primíparo e múltiparo. Aos cortes sagital e transversal foi possível observar linha hiperecogênica no centro do útero que representou as superfícies internas do endométrio (Figura 4A). A localização do útero não variou entre as fêmeas, apresentando-se na porção central da cavidade pélvica, posicionando-se ventral e longitudinalmente à bexiga urinária. As regiões do fundo e do corpo do útero foram visibilizadas ultra-sonograficamente, entretanto o orifício cervical e o canal vaginal não foram visibilizados adequadamente na maioria dos exames.

Na Tabela 3 estão representados os resultados das médias e desvio padrão das variáveis uterinas (DCC, DDV, DT e VU) obtidas em P1 e P2. Foram verificadas diferenças significativas ($P < 0,01$) relacionadas ao efeito do número de partos sobre a maioria das variáveis uterinas, durante os dois períodos analisados. As correlações

feitas entre o peso das fêmeas e o VU apresentaram baixos coeficientes de correlação (r), sem significância estatística ($r = 0,12$ e $P > 0,05$).

Todos os animais apresentaram os dois ovários, não sendo observado, ultrasonograficamente, quaisquer sinais patológicos congênitos ou adquiridos. Os ovários apresentaram variações na forma, dimensões e posição tanto entre fêmeas como no mesmo indivíduo. Observou-se formato elipsóide ou ovalado com contornos regulares e bem definidos (Figura 4B e 5). A posição dos ovários na cavidade abdominal variou de acordo com a repleção da bexiga e das alças intestinais. Observou-se alta mobilidade dos ovários na cavidade abdominal, que pôde ser constatada durante as varreduras ultra-sonográficas para a localização dos mesmos. Em alguns exames posicionaram-se próximos um ao outro, sendo necessário minuciosa varredura ultra-sonográfica para diferenciá-los, evitando a medição repetida do mesmo ovário.

Tabela 3: Efeito do número de partos nas variáveis uterinas (média \pm desvio padrão) durante os períodos (P1) (sem acasalamento, monitoradas diariamente) e P2 (com acasalamento, monitoradas semanalmente). (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

Variáveis uterinas	Períodos e Número de partos					
	P1			P2		
	Nulípara	Primípara	Plurípara	Nulípara	Primípara	Plurípara
DCC (cm)	1,71 ^b \pm 0,12	1,99 ^a \pm 0,14	1,96 ^a \pm 0,24	1,74 ^a \pm 0,11	1,73 ^a \pm 0,14	1,78 ^a \pm 0,21
DDV (cm)	0,39 ^c \pm 0,03	0,54 ^b \pm 0,05	0,64 ^a \pm 0,08	0,50 ^c \pm 0,04	0,54 ^b \pm 0,04	0,67 ^a \pm 0,09
DT (cm)	0,57 ^c \pm 0,05	0,79 ^b \pm 0,06	0,87 ^a \pm 0,08	0,74 ^c \pm 0,05	0,78 ^b \pm 0,07	0,88 ^a \pm 0,07
VU (cm³)	0,20 ^c \pm 0,03	0,44 ^b \pm 0,018	0,57 ^a \pm 0,12	0,33 ^c \pm 0,03	0,39 ^b \pm 0,07	0,56 ^a \pm 0,13

DCC, diâmetro crânio caudal; DDV, diâmetro dorso ventral; DT, diâmetro transversal, VU, volume uterino. Comparação realiza entre número de partos: nulípara (nenhum parto), primípara (um parto), plurípara (dois ou mais partos) no mesmo período. Letras diferentes na mesma linha indicam $P < 0,01$ pelo teste t.

O parênquima ovariano apresentou ecotextura variável (homogênea ou heterogênea) de acordo com a presença ou ausência de folículos. Quando não foram evidenciados folículos o parênquima apresentou textura homogênea. A identificação dos folículos foi possível pelo contraste de ecogenicidade entre o líquido folicular (anecóico) e o tecido ovariano (hipoecóico) evidenciando-se textura heterogênea (Figura 5). Durante o P1 apenas duas fêmeas (20%) apresentaram crescimento

folicular, sendo observado um único folículo mensurável ao ultra-som em intervalos irregulares (30 ± 9 dias). As dimensões do diâmetro folicular interno variaram de 0,18 a 0,34cm. Devido ao baixo número de fêmeas que apresentaram folículos mensuráveis e a irregularidade com que foram evidenciados, não foi possível estabelecer correlação entre o crescimento folicular e a ciclicidade das fêmeas durante esse período. Em P2 não foi realizado monitoramento do crescimento folicular, já que os exames só eram realizados uma vez por semana. Entretanto, observou-se a presença de folículos ocasionais em três fêmeas (33%). É importante ressaltar que nem a ovulação e nem o corpo lúteo (CL) foram visibilizados durante os dois períodos analisados.

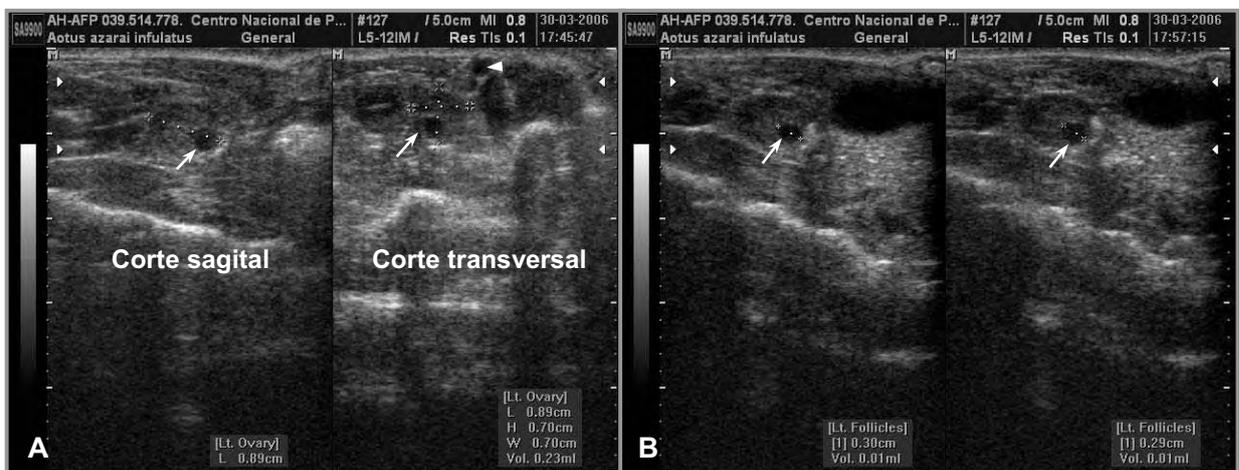


Figura 5: Ovários de formato elipsóide ou ovalado com contornos regulares e bem definidos. **(A)** Mostra a mensuração do ovário esquerdo, aos cortes sagital e transversal onde se evidencia presença de folículo (setas finas) e artéria ilíaca (cabeça da seta). **(B)** Mostra mensurações ao corte sagital do diâmetro interno do folículo ovariano (29 – 30cm), localizado no ovário esquerdo da mesma fêmea. A identificação do folículo foi possível através do contraste de ecogenicidade entre o líquido folicular (anecóico) e o tecido ovariano (hipoecóico).

Os dados da Tabela 4 apresentam a comparação entre as dimensões representadas pelas variáveis ovarianas (COD x COE; EOD x EOE; LOD x LOE; VOD x VOE) durante P1 e P2. O período de realização do exame influenciou significativamente no tamanho dos ovários das fêmeas, pois tanto o ovário direito quanto o ovário esquerdo apresentaram $P < 0,01$ para todas as variáveis em P2, período em que as fêmeas estavam acasaladas. Quando se analisou cada período individualmente observou-se $P < 0,01$ em relação à maioria das variáveis analisadas, excetuando-se a variável espessura (EOD – EOE), para ambos os períodos. Isso sugere com alto grau

de probabilidade, que o volume do ovário direito foi maior que o do ovário esquerdo, uma vez que apenas a variável espessura não apresentou significância. Constatou-se que houve correlação positiva baixa, porém significativa, entre o peso das fêmeas com o VOD ($r = 0,28$ e $P < 0,05$) e VOE ($r = 0,16$ e $P < 0,05$).

Tabela 4: Comparação entre as variáveis ovarianas (média \pm desvio padrão) durante os períodos (P1) (sem acasalamento, monitoradas diariamente) e P2 (com acasalamento, monitoradas semanalmente). (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

Variáveis ovarianas	Período	
	P1	P2
Comprimento do ovário direito - COD (cm)	0,96 ^{aA} \pm 0,11	0,99 ^{aB} \pm 0,11
Comprimento do ovário esquerdo - COE (cm)	0,90 ^{bA} \pm 0,12	0,94 ^{bB} \pm 0,11
Espessura do ovário direito – EOD (cm)	0,55 ^{aA} \pm 0,09	0,61 ^{aB} \pm 0,08
Espessura do ovário esquerdo - EOE (cm)	0,55 ^{aA} \pm 0,09	0,60 ^{aB} \pm 0,09
Largura do ovário direito - LOD (cm)	0,75 ^{aA} \pm 0,12	0,79 ^{aB} \pm 0,11
Largura do ovário esquerdo – LOE (cm)	0,69 ^{bA} \pm 0,10	0,75 ^{bB} \pm 0,11
Volume do ovário direito - VOD (cm ³)	0,21 ^{aA} \pm 0,06	0,26 ^{aB} \pm 0,06
Volume do ovário esquerdo – VOE (cm ³)	0,19 ^{bA} \pm 0,07	0,23 ^{bB} \pm 0,07

Médias com letras diferentes apresentam $P < 0,01$ pelo teste t. Letras minúsculas comparação realizada nas colunas. Letras maiúsculas comparação realizada nas linhas.

2.4 DISCUSSÃO

A detecção de parasitismo pelo *Tripanoxyuris* sp, corrobora com os dados de TANTALEÁN & GOZALO (1994), os quais afirmaram que da fauna de nematóides oxiurídeos parasitas de *Aotus* sp. esse é o mais freqüentemente encontrado. O considerável índice de infestação observado neste trabalho (50%) pode estar relacionado a repetidos eventos de auto-infestação ou de infestação cruzadas típicas dos nematódeos oxiurídeos, que podem ser resultado de baixa resposta imunológica (FLYNN, 1973). Estudos com espécies selvagens de primatas do Novo Mundo mostraram taxas de infestação semelhante (54,7%) na espécie *Aotus nancymae* e inferior (8,7%) em *A. vociferans* (MICHAUD et al., 2003). Não foram observadas alterações significativas no número de eosinófilos e basófilos nas análises

hematológicas de animais infestados e não infestados, o mesmo fato também foi observado por FELT & WHITE (2005) ao diagnosticar parasitismo por *Tripanoxyuris microon* em *A. nancymaae*.

Todo animal silvestre de cativeiro, em algum momento, necessita ser capturado e contido por meio físico, químico ou por ambos. A habilidade para realizar esses procedimentos com segurança é o componente básico do manejo e dos cuidados com a saúde do plantel. Em primatas de pequeno porte (<2kg) a contenção física deve ser o método de escolha para realização de procedimentos que não ocasionem dor ao animal (BUSH, 1996). O presente estudo seguiu os preceitos descritos na literatura objetivando testar a viabilidade de realização do exame de ultra-som ginecológico sem uso de contenção química.

O método de oferecimento das frutas serviu como estímulo positivo para que os animais associassem o exame a algo agradável, estimulante (comer). Isso está de acordo com MELLEEN & ELLIS (1996) que citaram o oferecimento de comida como estímulo positivo para que determinado comportamento desejado aconteça. Os mesmos autores relataram que os estímulos utilizando comida ou líquidos são chamados de primários, porque promovem conseqüências biológicas imediatas. Essa afirmação pode ser comparada com a diminuição dos indicadores de estresse observados neste experimento. Os efeitos benéficos de treinar animais para colaborar em pesquisas científicas também são descritos por outros autores (PRESCOTT & BUCHANAN-SMITH, 2003; BENTSON et al., 2003; REINHARDT, 2003; SCHAPIRO, et al., 2005; CAPITANIO et al., 2006).

A análise dos resultados demonstrou que o comportamento indicador de estresse está de acordo com os achados de MONTEIRO et al. (2006), que relataram a micção e a defecação durante o procedimento de contenção física em macacos-da-noite. A variação da frequência cardíaca foi o único indicador de estresse quantificado e mostrou resultados semelhantes aos outros indicadores, pois diminuiu significativamente nos dois períodos analisados. Esses achados são extremamente semelhantes nos animais e no homem, podendo ser explicados pelo mecanismo de “luta ou fuga”, desempenhado pelo sistema nervoso autônomo e pelas ações do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (FOWLER, 1986; HAINES, 1997; GUYTON & HALL,

2000; HALL et al., 2004). Alguns estudos realizados em seres humanos e em animais experimentais indicaram que neurônios autonômicos e o aumento das concentrações plasmáticas do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) atuam na motilidade do cólon intestinal promovendo a defecação ou ocasionando diarreia (BARONE et al., 1990; MONNIKES et al., 1993; OKANO et al., 2005).

Por sua vez, a variabilidade da frequência cardíaca é um parâmetro de avaliação da funcionalidade neurocardíaca, já que a modulação autonômica, por meio dos ramos simpáticos e parassimpáticos, influencia de forma direta e diferencial nas oscilações dessa variável (MALIKI, 1996). O aumento da frequência cardíaca é a resposta cardiovascular mais relacionada ao estresse descrita na literatura (HERD, 1991). Sendo assim, os resultados apresentados neste estudo indicaram que o estresse ocasionado pelo início da contenção provocou aumento da atividade simpática, promovendo elevação da frequência cardíaca inicial (Fc1). Ao final do exame os estímulos positivos relacionados ao oferecimento das frutas e habituação dos animais favoreceram a modulação parassimpática, o que justificaria a diminuição da frequência cardíaca final (Fc2). Essa inferência foi reforçada pelas correlações negativas observadas entre o TE e as Fc2, já que em seres humanos foi evidenciado que a ativação vagal apresenta efeito protetor sobre a atividade cardíaca (REIS et al., 1998). Estudos realizados, por meio de radio telemetria, em *Callithrix jacchus*, *Macaca mulatta* e *M. fascicularis* indicaram que os parâmetros de pressão e frequência cardíaca são significativamente maiores quando os animais são submetidos a situações de estresse, mesmo que tenham sido previamente treinados para tais procedimentos (MANN et al., 1991; SCHNELL & WOOD, 1993; SCHNELL & GERBER, 1997).

O TE foi adequado à realização do ultra-som, seguindo os preceitos de que a contenção deve durar apenas o mínimo necessário para realização do procedimento desejado (FOWLER, 1986). As diferenças significativas relacionadas ao TE quando comparados a P1 e P2, foram atribuídas ao menor condicionamento das fêmeas em P1, pois elas estavam menos habituadas ao exame de ultra-som. Segundo MELLEN & ELLIS (1996), a habituação é um tipo de aprendizado que os animais desenvolvem em resposta a estímulos freqüentemente repetidos. A redução dos riscos de mordidas pela técnica do corte das frutas está de acordo com o preconizado por FOWLER (1986),

quando afirma que fatores como a segurança (do animal e examinador/auxiliar) e o tipo de contenção devem ser cuidadosamente estudados.

Os resultados relacionados à avaliação uterina por ultra-som em macacos-da-noite foram muito semelhantes aos descritos por MONTEIRO et al. (2006). Entretanto, várias particularidades metodológicas diferenciaram os dois experimentos, dentre as quais podemos citar: (1) o presente trabalho foi realizado sem uso de contenção química, possibilitando um prolongado período de monitoramento, com maior número de repetições no tempo, favorecendo o condicionamento dos animais ao exame de ultra-som; (2) utilizou-se equipamento mais moderno com transdutor mais adequado à espécie, resultando em imagens de alta resolução. Isso tornou desnecessário o enchimento da bexiga e favoreceu o diagnóstico de alterações uterinas, além de ter proporcionado maior precisão nas mensurações das variáveis uterinas; (3) o efeito do número de partos sobre as variáveis uterinas foi analisado em nulíparas, diferentemente do trabalho anterior que só comparou primíparas e pluríparas; (4) proporcionou a avaliação dos ovários. Segundo MAUAD-FILHO et al. (2001) o volume do útero de mulheres sofre alterações com a idade, número de partos e por influência hormonal. Neste trabalho apenas o efeito do número de partos foi testado, ficando evidente que o volume uterino dessa espécie é proporcional ao número de partições, em concordância com o relatado por MAUAD-FILHO et al. (2001) e MONTEIRO et al. (2006).

Com o advento da ultra-sonografia o desenvolvimento do ovário pôde ser observado de forma não invasiva (HUTZ, 1994). A varredura ultra-sonográfica dos ovários tem sido usada como uma importante ferramenta na investigação de várias causas de infertilidade em mulheres. O desenvolvimento tecnológico de aparelhos de ultra-som e o uso de transdutores de alta frequência têm contribuído muito nas pesquisas que tratam da avaliação dos ovários, pois proporcionam imagens com boa resolução que podem ser associadas a técnicas modernas de análise de imagem (LASS & BRINSDEN, 1999; SINGH et al., 2003). Entretanto, ainda existem poucas referências na literatura relacionada à avaliação ultra-sonográfica dos ovários de primatas não-humanos, sobretudo nos neotropicais. Os estudos existentes estão mais relacionados às descrições macro e microscópicas dos ovários (DEMPSEY, 1939; WISLOCKI, 1939; ECKSTEIN, 1958; GURAYA, 1968 HERTIG et al. 1971; HERTIG et

al., 1976; CLAVER et al., 1984; HAYAMA et al., 1997; DOMINGUES et al., 2004). Com base em nossa revisão de literatura, este trabalho foi o primeiro a avaliar o ovário de macacos-da-noite por ultra-som. Sendo assim, os resultados aqui discutidos foram baseados em dados referentes à ultra-sonografia ginecológica na espécie humana e em outras espécies de primatas não-humanos.

O formato elipsóide ou ovalado observado no presente estudo foi semelhante ao descrito em primatas e em outras espécies (ECKSTEIN, 1958; OERKE et al., 1996; SAUERBREI et al., 2000; ALMEIDA et al., 2003). HERTIG et al. (1976), descreveram os ovários de macacos-da-noite como estruturas grandes, considerando-se o tamanho dos animais, de formato ovóide e com dimensões semelhantes às encontradas neste estudo, considerando-se a média e o desvio padrão. A confrontação desses resultados foi importante para validar a técnica de mensuração utilizada, uma vez que não foram encontrados relatos de estudos semelhantes com esta espécie.

Os baixos índices de crescimento folicular observados em P1 podem ser explicados hipoteticamente pelo estresse provocado durante o exame ultra-sonográfico, pois nesse período as fêmeas foram monitoradas diariamente e apresentaram as maiores frequências cardíacas (Fc1, Fc2 e Fc M) em comparação com P2. Isso pode ter interferido diretamente na regulação do eixo hipotálamo - hipófise - ovário, já que alguns autores citaram o estresse como causas de disfunção ovariana em primatas (CHATTERTON, 1990; KAPLAN & MANUCK, 2004; BETHEA et al. 2005). SELYE (1939) propôs que o estresse é acompanhado por um aumento da atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal e por redução das funções reprodutivas. Entretanto, estudos endocrinológicos devem ser realizados objetivando confirmar essa hipótese.

A dificuldade de identificação ultra-sonográfica da ovulação e/ou CL em macacos-da-noite talvez esteja relacionada ao fato do tecido lúteo e o parênquima ovariano possuírem ecogenicidade semelhante. Esses achados podem ser comparados com as descrições de HERTIG et al. (1976), quando relataram que histologicamente os ovários de macacos-da-noite possuíam grande quantidade de tecido intersticial luteinizado na região medular, levando ao estreitamento da camada cortical. Esse tecido não apresentou uma organização celular bem definida, dificultando a identificação macro e microscópica da ovulação e do CL em macacos-da-noite. Outros

autores também descreveram a dificuldade de identificar o CL em primatas neotropicais (DEMPSEY, 1939; WISLOCKI, 1939). A ovulação e o CL inicial não foram facilmente identificados por ultra-som em macacos *rhesus* (MORGAN et al. 1987), embora isso não tenha sido descrito por outros autores (ADAMS et al., 1992; OERKE et al., 1996). Geralmente, os ovários dos primatas do Novo Mundo são proporcionalmente maiores que os do Velho Mundo, isso foi atribuído a grande quantidade de tecido glandular intersticial (KOERING, 1974). Essa extensa massa de tecido luteínico talvez tenha sido a responsável pelos níveis elevados de esteróides mensurados no plasma e na urina de macacos-da-noite (BONNEY et al., 1979, BONNEY & SETCHELL, 1980).

Pesquisas recentes têm demonstrado que, em mulheres, o volume ovariano diminui significativamente à medida que se aproxima da menopausa (PAVLIK et al. 2000; WALLACE & KELSEY, 2004). Dados similares foram observados em *Macaca mulatta* (NICHOLS et al., 2005). Esses achados foram relacionados com a diminuição da atividade hormonal e da população de folículos ovarianos, resultando em irregularidades nas taxas de ovulação. O presente estudo não pôde correlacionar o volume ovariano com esses parâmetros, pois não foram realizadas análises histológicas e/ou endocrinológicas. Entretanto, a assimetria verificada entre os ovários talvez tenha relação com o aumento do tecido glandular intersticial no ovário direito. Durante a avaliação do trato genital de macacos-da-noite HERTIG et al. (1976) também observaram assimetria ovariana quando descreveram dimensões de 1x0,7x0,5cm para o ovário direito e 0,7x0,7x0,5cm para o ovário esquerdo.

O aumento do volume ovariano em P2 sugere que as fêmeas não se encontravam em período de senescência reprodutiva e que a presença do macho talvez tenha estimulado o aumento do volume ovariano. Entretanto essas afirmações são meramente especulativas e devem ser testadas por meio de estudos histológicos ou hormonais associados ao exame ultra-sonográfico. As correlações entre o peso das fêmeas com o volume dos ovários (VOD e VOE) apresentaram significância estatística de baixa intensidade e, portanto devem ser mais bem investigadas, já que em mulheres não se verificou significância na relação o peso/altura com o volume dos ovários (COHEN et al., 1990).

2.5 CONCLUSÕES

A avaliação dos resultados, nas condições em que foi realizado o experimento, permite estabelecer as conclusões a seguir:

1. O condicionamento das fêmeas ao exame de ultra-som ginecológico é facilitado pelo oferecimento de frutas e pelo número de repetições dos exames;
2. O transdutor de banda larga, na frequência de 12 MHz, demonstra ser eficaz na mensuração do útero e dos ovários da espécie *Aotus azarai infulatus*;
3. O volume uterino é diretamente proporcional ao número de partos;
4. Estudos endocrinológicos associados ao método de monitoramento ultrasonográfico em macacos-da-noite devem ser estimulados, visando responder questões, ainda obscuras, relacionadas ao crescimento folicular, ovulação e desenvolvimento do corpo lúteo.

CAPÍTULO 3 – ULTRA-SONOGRAFIA OBSTÉTRICA EM MACACO-DA-NOITE (*Aotus azarai infulatus*) AOTIDAE – “PRIMATES”

RESUMO – Objetivo-se monitorar a gestação de macacos-da-noite por ultra-som, buscando responder questões relacionadas à fisiologia gestacional. Avaliaram-se as frequências cardíacas iniciais, finais e médias (Fc1, Fc2 e Fc M) e o tempo de exame (TE) entre fêmeas não gestantes e gestantes. Os exames obstétricos foram realizados utilizando-se o transdutor linear de 5-12MHz. As frequências cardíacas e o TE das não gestantes foram menores que das gestantes (Fc1 e Fc2, $P < 0,05$; Fc M, $P < 0,01$; TE, $P < 0,01$). Evidenciaram-se sinais ultra-sonográficos precoces e evolutivos da gestação a partir do segundo mês de acasalamento. Os coeficientes de determinação (R^2) foram elevados para todas as variáveis analisadas. A maioria das variáveis apresentaram equações de regressão válidas tanto para o modelo quadrático quanto para o linear, entretanto os valores de R^2 foram superiores para o modelo quadrático, o que justificaria sua utilização.

Palavras chave: *Aotus* sp, primata neotropical, frequência cardíaca, ultra-som, obstetrícia, gestação

SUMMARY – The objective was to monitor the gestation of owl monkeys via ultrasound, searching for answers to questions related to the gestational physiology. Initial, final and average heart rates were evaluated (HR1, HR2 and AHR), and the time spent on the examination procedure (TS) between pregnant and non pregnant female. The obstetric exams were performed using a linear probe of 5-12MHz. The heart rates and the TS of the non pregnant females were lower than the pregnant females (HR1 and HR2, $P < 0.05$; AHR, $P < 0.01$; TS, $P < 0.01$). Early and evolutive pregnancy ultra-sonographic signs were evident since the second month of mating. The determination coefficients (R^2) were elevated for all the variables analyzed. Most variables presented regression equations valid for both the quadratic and linear models. However, the R^2 values were higher for the quadratic model, and this would justify its utilization.

Key words: *Aotus* sp, neotropical primates, heart rate, ultrasound, obstetric, gestation

3.1 INTRODUÇÃO

O estudo das populações de primatas não-humanos tem contribuído para informações sobre doenças infecciosas emergentes (AIDS, ebola, hantavírus e dengue). Como membros de *habitat* biologicamente diversos eles atuam como sentinelas para investigação de patógenos, servindo de modelos para a pesquisa básica sobre a dinâmica de transmissão natural. Os estudos com primatas também podem beneficiar esforços de conservação e preencher lacunas existentes entre estudos de laboratório e as já reconhecidas necessidades de investigações epidemiológicas. Afora sua notória importância biomédica, os primatas não-humanos são seres extremamente relacionados com a biodiversidade, uma vez que contribuem para o ecossistema com a diversidade de seus genes de suas espécies (WOLFE et al., 2000). Nesse contexto, a região Amazônica com aproximadamente sete milhões de quilômetros quadrados representa, ainda, a maior e uma das últimas reservas florestais do planeta capaz de fornecer matéria prima viva para pesquisa científica.

Pouco se conhece sobre a fisiologia reprodutiva dos primatas da Amazônia brasileira. Os estudos básicos ainda são considerados tímidos e amparados em aspectos comportamentais. Dessa forma, faz-se necessário ampliar os conhecimentos sobre a fisiologia reprodutiva, objetivando reverter o quadro de desaparecimento de muitas espécies de primatas.

A ultra-sonografia é um método não invasivo que possibilita o acompanhamento do desenvolvimento e da viabilidade embrionária/fetal em primatas neotropicais, primatas do Velho Mundo e em humanos (KUEDERLING & HEISTERMANN, 1997; TARANTAL, 1990). Entretanto, os macacos-da-noite são susceptíveis ao estresse quanto se deseja realizar um monitoramento por ultra-som. A utilização de drogas anestésicas e o método de captura podem atuar como fatores químicos e ambientais capazes de inviabilizar o monitoramento da gestação nessa espécie (MONTEIRO et al., 2006). Sendo assim, objetivou-se monitorar a gestação de macacos-da-noite por ultra-som, sem o uso de contenção química, buscando responder questões relacionadas à fisiologia gestacional dessa espécie.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Animais

Foram utilizados nove casais previamente estabelecidos, todos pertencentes a colônia de reprodução de macacos-da-noite (*Aotus azarai infulatus*) do Centro Nacional de Primatas (CENP). A avaliação da saúde foi a mesma descrita no item 2.2.1 do capítulo 2, já que foram utilizados os mesmos animais.

As fêmeas foram mantidas isoladas dos machos por quatro meses e examinadas diariamente, durante dois meses seguidos, para a avaliação ginecológica e condicionamento ao exame ultra-sonográfico, conforme descrito no Capítulo 2. Após esse período, os machos foram levados às gaiolas das fêmeas onde permaneceram por sete meses. Durante o primeiro mês de acasalamento não foram realizados exames nas fêmeas. A partir do segundo mês, cada fêmea foi monitorada semanalmente, em três turnos conforme descrito no item 2.2.1 do Capítulo 2. Foram realizados 245 exames de ultra-som sendo, 195 em fêmeas não gestantes e 50 em gestantes.

As condições de cativeiro, os métodos de captura e contenção, a avaliação das freqüências cardíacas (Fc1, Fc2 e Fc M) e do tempo de exame (TE) foram às mesmas descritas no Capítulo 2. A avaliação do útero e dos ovários também seguiu a mesma metodologia estabelecida no item 2.2.5 do capítulo anterior. Entretanto, os ovários das fêmeas gestantes foram avaliados apenas durante as duas primeiras semanas de gestação, objetivando-se diminuir o TE.

3.2.2 Exame de ultra-som obstétrico

Durante os exames, procurou-se evidenciar sinais ultra-sonográficos precoces e evolutivos de gestação (SUSPG e SUSEG). Considerou-se como SUSPG a medida do espessamento endometrial (EE) e o aumento do volume uterino (VU). A avaliação do EE foi realizada pela mensuração do aumento da ecogenicidade, na região do fundo uterino (Figura 1A). Para constatação do aumento do VU comparou-se o valor médio do VU de fêmeas não gestantes e gestantes, levando em consideração os diâmetros crânio caudal (DCC), dorso ventral (DDV) e transversal (DT). O aparecimento do saco gestacional (SG), e os demais parâmetros do crescimento embrionário/fetal foram

considerados como SUSEG. Cada variável foi mensurada semanalmente por um único observador, por seis vezes, empregando para análise a média das mesmas.

A primeira semana de gestação foi definida a partir da visualização dos SUSPG. As demais semanas foram avaliadas até o momento do parto, que foi considerado como a última semana de gestação. O primeiro terço da gestação compreendeu o período entre a primeira e a sexta semana. O segundo terço foi da sétima a 12^o semana e o terceiro terço foi da 13^o até 19^o semana, quando ocorreu o parto.

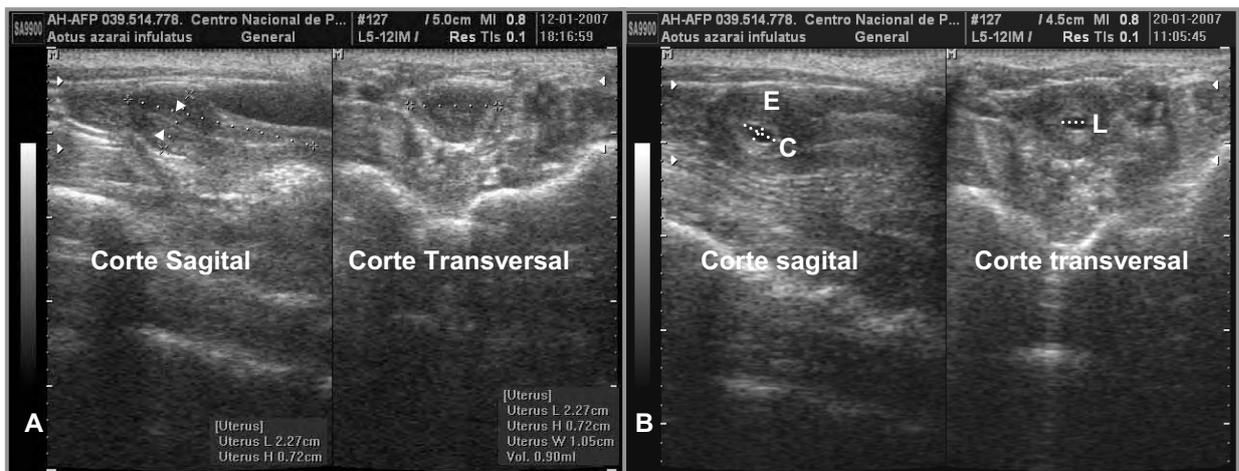


Figura 1: **(A)** Segunda semana de gestação, evidenciando-se o aumento do volume uterino (cursors) e o espessamento endometrial (cabeças das setas), ambos foram considerados SUSPG. **(B)** Implantação fúndica do SG na terceira semana de gestação da mesma fêmea, evidenciando-se os diâmetros internos, comprimento (C), espessura (E) e largura (L) do SG (cursors), obtidos aos cortes sagital e transversal.

O desenvolvimento embrionário foi avaliado por meio do diâmetro médio do saco gestacional (DMSG), calculado pela média aritmética dos diâmetros internos do SG (comprimento, espessura e largura) (Figura 1B) e pela medida do embrião que vai do topo do crânio até a base da cauda (CCC) (Figura 2A). Os principais parâmetros de desenvolvimento fetal avaliados foram:

1. O diâmetro biparietal (DBP) e occípto-frontal (DOF) foram mensurados no plano de exame talâmico, evidenciado pelo aparecimento da cisterna ambiente na parte posterior da cabeça. A medida do DBP foi realizada colocando-se o cursor na superfície externa da tábua craniana proximal até a superfície interna distal. A medida do DOF foi conseguida através da medida da margem externa a outra do crânio fetal, perpendicularmente ao DBP (Figura 2B).

2. O diâmetro e a área da circunferência craniana (CC e ACC) foram avaliados no mesmo plano do DBP e DOF e consistiu no traçado ao redor da parte externa do contorno hiperecogênico na borda do crânio fetal (Figura 2B).

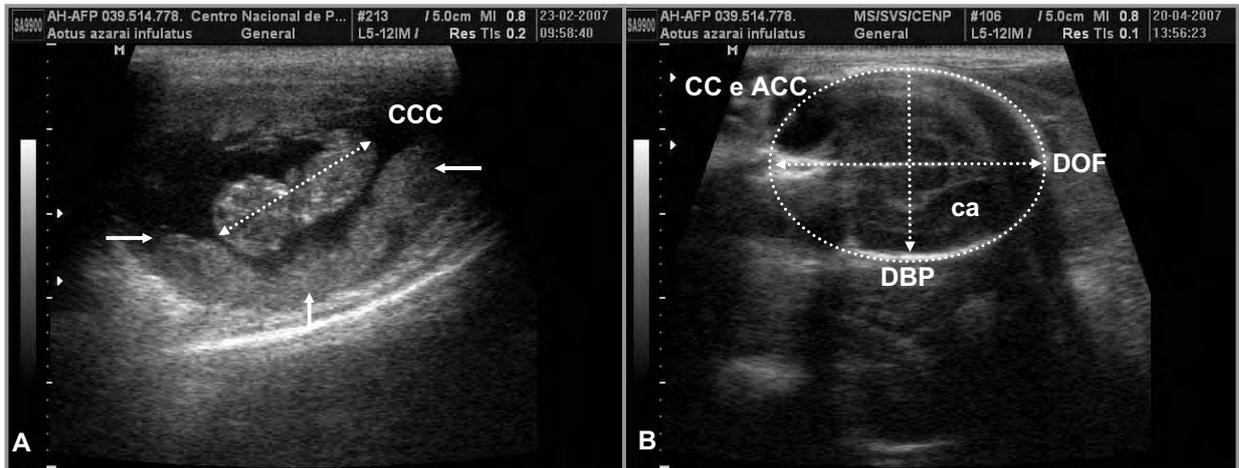


Figura 2: **(A)** Medida do embrião, na oitava semana de gestação, que vai do topo do crânio até a base da cauda (CCC) e a placenta (setas). **(B)** Plano de exame talâmico, 16^o semana de gestação; evidenciando-se a cisterna ambiente (ca) na parte posterior da cabeça. Diâmetro biparietal (DBP) obtido pelo posicionamento do cursor na superfície externa da tábua craniana proximal até a superfície interna distal. Diâmetro occipito-frontal (DOF) obtido pela medida de uma margem externa a outra do crânio fetal, perpendicularmente ao DBP. O diâmetro e a área da circunferência craniana (CC e ACC), obtidos no mesmo plano de exame, consiste no traçado ao redor da parte externa do contorno hiperecogênico na borda do crânio fetal.

3. O diâmetro e a área da circunferência abdominal (CA e ACA) foram mensurados pela colocação dos cursores ao redor da parte externa da borda hiperecogênica do abdômen fetal. Para isso, procedeu-se o corte transversal do abdômen fetal, perpendicular à coluna vertebral, evidenciando-se o estômago e a porção umbilical da veia porta posicionada no fígado. Utilizou-se o modo Doppler colorido para facilitar a identificação da porção umbilical da veia porta (Figura 3A).
4. O comprimento do fêmur (CF) foi medido a partir de suas extremidades proximais e distais, medindo-se apenas a diáfise do fêmur (Figura 3B).

Os critérios utilizados para obtenção das imagens e mensurações dos parâmetros gestacionais foram semelhantes aos descritos na literatura (HERRING et al., 1991, SAUERBREI et al., 2000 e MONTEIRO et al., 2006).

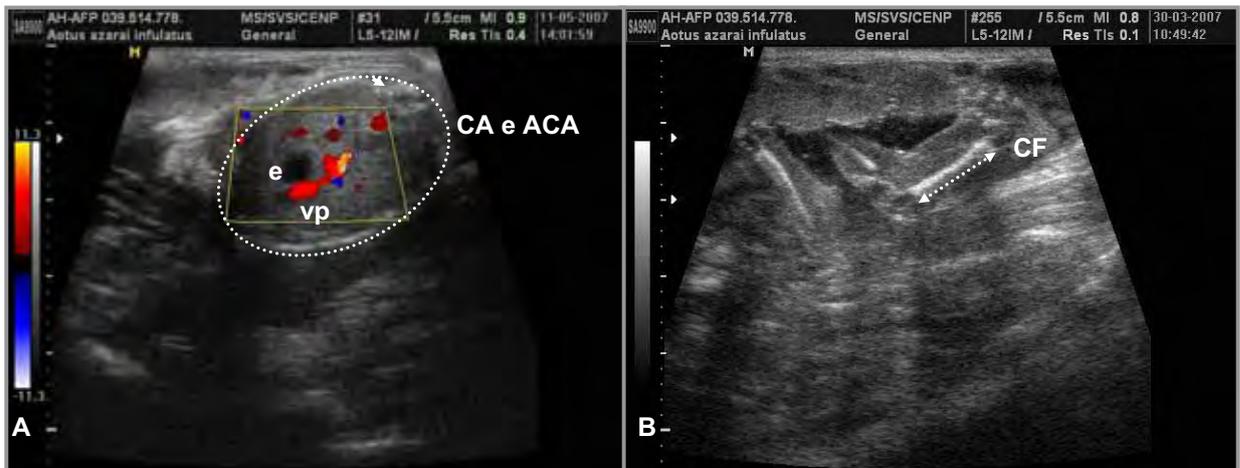


Figura 3: **(A)** Imagem em modo Doppler colorido, durante a 19ª semana de gestação, utilizado para facilitar a identificação da porção umbilical da veia porta (vp), posicionada no fígado; (e) estômago fetal. O diâmetro e a área da circunferência abdominal (CA e ACA) foram mensurados ao corte transversal do abdômen fetal, perpendicular à coluna vertebral (cabeça da seta). **(B)** Comprimento do fêmur (CF), na 13ª semana de gestação, medido a partir das extremidades proximais e distais, medindo-se apenas a diáfise do fêmur.

3.2.3 Análise estatística

Foram realizadas comparações entre fêmeas não gestantes e gestantes com repetições realizadas no tempo (semanais). Aplicou-se o teste “t de Student” para as médias das variáveis Fc1, Fc2, Fc M e TE comparadas por turno e independentemente do turno. As médias dos parâmetros uterinos e ovarianos foram comparados entre as fêmeas. As variáveis uterinas e de crescimento embrionário/fetal (variáveis dependentes) foram correlacionadas à idade gestacional em semanas (variáveis independentes) por meio de curvas de regressão, utilizando-se os modelos quadrático e linear. Os coeficientes de determinação (R^2) foram calculados individualmente para cada modelo de regressão. Foi realizado ainda teste de correlação de Pearson entre o TE e Fc2 e entre as medidas de crescimento embrionário/fetal todos independentemente dos turnos. Os testes de média, correlação e a análise dos coeficientes das equações de regressão foram realizados de acordo com STEEL et al. (1997) com nível de significância de até 5% de probabilidade.

3.3 RESULTADOS

Os resultados do efeito do horário de realização monitoramento ultra-sonográfico por turno (T1, T2 e T3) e independentemente do turno mostraram que as freqüências cardíacas de fêmeas não gestantes foram menores que as das gestantes. Entretanto isso só ficou evidente quando se realizou a análise independentemente do turno (Fc1 e Fc2, $P < 0,05$; Fc M, $P < 0,01$), conforme os dados apresentados na Tabela 1. O tempo de duração do exame (TE) apresentou $P < 0,01$ para todas as análises (Tabela 1). O teste de correlação (r) feito entre o TE e Fc2 mostrou ser negativa, porém sem significância ($r = - 0,01$ e $P > 0,05$).

Tabela 1: Efeito do horário de realização do exame ultra-sonográfico nas freqüências cardíacas e tempo de exame (média \pm desvio padrão) entre fêmeas não-gestantes e gestantes. (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

Variáveis	T1		T2	
	Não gestante	Gestante	Não gestante	Gestante
Fc1 (bpm)	312,00 \pm 43,42	319,88 \pm 34,68 ^{Ns}	316,00 \pm 45,55	325,64 \pm 28,41 ^{Ns}
Fc2 (bpm)	278,22 \pm 51,80	300,32 \pm 31,94 [*]	292,91 \pm 52,97	312,07 \pm 24,63 ^{Ns}
Fc M (bpm)	294,85 \pm 39,68	210,10 \pm 29,59 ^{Ns}	304,46 \pm 42,88	318,86 \pm 20,43 ^{Ns}
TE (min.)	13,93 \pm 3,38	16,28 \pm 3,78 ^{**}	13,66 \pm 3,28	17,29 \pm 8,47 ^{**}

Variáveis	T3		Independentemente do turno	
	Não gestante	Gestante	Não gestante	Gestante
Fc1 (bpm)	316,76 \pm 38,76	345,50 \pm 16,63 [*]	312,89 \pm 43,97	326,76 \pm 31,15 [*]
Fc2 (bpm)	263,35 \pm 54,92	290,40 \pm 41,08 ^{Ns}	281,05 \pm 53,29	301,65 \pm 32,40 [*]
Fc M (bpm)	290,06 \pm 38,60	317,95 \pm 25,17 ^{Ns}	296,82 \pm 41,01	314,20 \pm 26,22 ^{**}
TE (min.)	13,24 \pm 2,77	24,80 \pm 8,73 ^{**}	13,76 \pm 3,31	18,31 \pm 7,21 ^{**}

Fc1, freqüência cardíaca inicial; Fc2 freqüência cardíaca final; Fc M, freqüência cardíaca média; TE, tempo de exame. T1, turno um (8:00 as 11:59); T2, turno dois (12:00 as 16:59); T3, turno três (17:00 as 19:59). Ns, Não significativo; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ pelo teste t. Repetição no tempo (comparando todas as macacas não gestantes com as gestantes).

O transdutor de banda larga (5-12 MHz) mostrou-se adequado à realização do diagnóstico e monitoramento da gestação em macacos-da-noite, pois proporcionou

imagens de boa resolução que foram importantes para conferir precocidade ao diagnóstico e acurácia às mensurações realizadas.

Evitou-se avaliar os ovários após a segunda semana de gestação objetivando diminuir o estresse ocasionado pela contenção física. Observou-se a presença de folículos ocasionais em três animais (33%), entretanto, não foram necessariamente nas mesmas fêmeas que engravidaram. A ovulação e/ou CL não foram visibilizados em nenhuma fêmea, não sendo observado diferença de ecogenicidade no parênquima ovariano. Quanto às mensurações das variáveis ovarianas foi possível observar que o VOE das gestantes foi maior que o das não gestantes ($P < 0,05$). Entretanto, isso não foi constatado na comparação com VOD ($P > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2: Comparação entre as médias das variáveis uterinas e ovarianas de fêmeas não gestantes e gestantes (durante as duas primeiras semanas de gestação). (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

	Variáveis	Não gestante	Gestante
Útero	Diâmetro crânio caudal - DCC (cm)	1,76 ± 0,19	2,80 ± 0,75**
	Diâmetro dorso ventral - DDV (cm)	0,64 ± 0,10	1,14 ± 0,39**
	Diâmetro transversal - DT (cm)	0,85 ± 0,09	1,59 ± 0,75**
	Volume uterino - VU (cm ³)	0,51 ± 0,15	3,65 ± 4,18**
Ovário Direito	Comprimento - COD (cm)	0,99 ± 0,10	0,94 ± 0,11 ^{Ns}
	Espessura - EOD (cm)	0,61 ± 0,08	0,53 ± 0,07**
	Largura - LOD (cm)	0,79 ± 0,10	0,80 ± 0,13 ^{Ns}
	Volume - VOD (cm ³)	0,25 ± 0,06	0,21 ± 0,06 ^{Ns}
Ovário Esquerdo	Comprimento - COE (cm)	0,94 ± 0,10	1,05 ± 0,05**
	Espessura - EOE (cm)	0,60 ± 0,08	0,57 ± 0,04 ^{Ns}
	Largura - LOE (cm)	0,75 ± 0,10	0,91 ± 0,09**
	Volume - VOE (cm ³)	0,23 ± 0,07	0,28 ± 0,04*

Ns, Não significativo; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ pelo teste t.

As gestações foram diagnosticadas a partir do segundo mês de acasalamento. No primeiro terço da gestação foram avaliados os SUSPG (EE e aumento do VU) e SUSEG (DMSG e CCC). O endométrio apresentou espessura de $0,32 \pm 0,04$ cm (média

\pm dp) nas duas primeiras semanas de gestação (Figura 1A). Os resultados apresentados na Tabela 2 indicam que as fêmeas gestantes apresentaram aumento significativo do volume uterino quando comparado às não gestantes durante as duas primeiras semanas de gestação. Esses achados foram importantes para determinar os SUSPG em macacos-da-noite. Entretanto, o diagnóstico conclusivo, nas três gestações avaliadas, só foi possível pela visualização dos SUSEG, que ocorreu a partir da terceira semana com o aparecimento do SG anecóico na região do fundo uterino (Figura 1B). Porém, é importante ressaltar que houve aumento progressivo do volume uterino à medida que os SUGEG iam sendo evidenciados, conforme estabelecido pela análise de regressão uterina (Figura 4D). O eco embrionário só foi visualizado a partir da quarta semana. A mensuração do DMSG e o CCC, durante o primeiro terço, ocorreu a partir da terceira e da quinta semana, respectivamente.

O segundo terço compreendeu o intervalo entre a sétima e a 12^o semana. Durante esse período foi possível mensurar o DMSG (até a oitava semana), o CCC (até a décima semana) e todos os demais parâmetros de crescimento embrionário/fetal. As medidas relacionadas ao DBP, DOF, CC e ACC foram obtidas a partir da oitava semana, a CA e ACA foram mensuradas da nona semana em diante e o CF só foi possível mensurar da décima semana em diante.

Durante o período experimental foram diagnosticadas três gestações positivas (33%), das quais duas foram a termo e uma foi interrompida espontaneamente ao final do segundo e início do terceiro terço (entre a 12^o e 13^o semana). Sendo assim, o terceiro terço da gestação foi representado pelo intervalo de tempo entre a 13^o até a 19^o semana (quando ocorreu o parto), tendo sido avaliadas duas gestações. Esse período caracterizou-se pelo aumento gradativo dos valores dos parâmetros de crescimento fetal até o momento do parto. Os dados apresentados na Tabela 3 são referentes aos SUSEG que foram mensurados semanalmente e organizados nos três terços descritos anteriormente. Esses valores representaram os principais parâmetros de crescimento embrionário/fetal durante a gestação de macacos-da-noite que, segundo este estudo, teve duração de 19 semanas.

Tabela 3: Principais parâmetros de crescimento embrionário/fetal (média \pm desvio padrão) avaliados semanalmente durante o primeiro, o segundo e terceiro terços da gestação de macacos-da-noite (*Aotus azarai infulatus*) (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

Ter. Sem.	Parâmetros de crescimento embrionário/fetal									
	DMSG (cm)	CCC (cm)	DBP (cm)	DOF (cm)	CC (cm)	ACC (cm ²)	CA (cm)	ACA (cm ²)	CF (cm)	
Primeiro (n=3)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	
	3	0,31 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-	-	
	4	0,62 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-	-	
	5	1,03 \pm 0,11	0,48 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-	
	6	1,37 \pm 0,05	0,83 \pm 0,09	-	-	-	-	-	-	
Segundo (n=3)	7	1,93 \pm 0,04	1,40 \pm 0,05	-	-	-	-	-	-	
	8	2,84 \pm 0,21	2,27 \pm 0,11	0,87 \pm 0,04	1,09 \pm 0,03	3,14 \pm 0,08	0,77 \pm 0,04	-	-	
	9	-	3,83 \pm 0,18	1,09 \pm 0,05	1,42 \pm 0,05	4,03 \pm 0,11	1,25 \pm 0,07	2,72 \pm 0,13	0,57 \pm 0,04	-
	10	-	5,05 \pm 0,07	1,30 \pm 0,05	1,67 \pm 0,05	4,76 \pm 0,10	1,78 \pm 0,14	3,79 \pm 0,01	1,15 \pm 0,04	0,55 \pm 0,02
	11	-	-	1,52 \pm 0,05	2,03 \pm 0,16	5,72 \pm 0,33	2,52 \pm 0,26	4,55 \pm 0,17	1,63 \pm 0,11	0,82 \pm 0,01
	12	-	-	1,67 \pm 0,04	2,32 \pm 0,20	6,44 \pm 0,45	3,17 \pm 0,36	5,46 \pm 0,27	2,32 \pm 0,22	1,04 \pm 0,06
Terceiro (n=2)	13	-	-	1,87 \pm 0,05	2,83 \pm 0,03	7,57 \pm 0,12	4,23 \pm 0,20	6,33 \pm 0,07	3,03 \pm 0,04	1,31 \pm 0,04
	14	-	-	1,98 \pm 0,01	2,96 \pm 0,07	7,91 \pm 0,26	4,70 \pm 0,12	7,63 \pm 0,21	4,20 \pm 0,26	1,52 \pm 0,02
	15	-	-	2,07 \pm 0,00	3,24 \pm 0,05	8,63 \pm 0,27	5,35 \pm 0,50	8,44 \pm 0,43	5,32 \pm 0,72	1,68 \pm 0,03
	16	-	-	2,25 \pm 0,01	3,46 \pm 0,09	9,03 \pm 0,47	6,05 \pm 0,47	8,25 \pm 0,07	4,90 \pm 1,85	1,85 \pm 0,03
	17	-	-	2,34 \pm 0,03	3,77 \pm 0,26	9,89 \pm 0,59	7,03 \pm 0,58	8,58 \pm 0,44	5,67 \pm 0,40	1,98 \pm 0,01
	18	-	-	2,45 \pm 0,08	3,98 \pm 0,41	10,70 \pm 0,58	8,09 \pm 0,70	9,00 \pm 1,17	6,16 \pm 1,40	2,15 \pm 0,03
	19	-	-	2,46 \pm 0,00	3,93 \pm 0,00	10,54 \pm 0,00	8,11 \pm 0,00	9,09 \pm 0,00	6,23 \pm 0,00	2,31 \pm 0,00

Ter., terço da gestação; n, número de gestações; Sem., semana de gestação; DMSG, diâmetro médio do saco gestacional; CCC, comprimento crânio-caudal; DBP, diâmetro biparietal; DOF, diâmetro occípito-frontal; CC, circunferência craniana; ACC, área da circunferência craniana; CA, circunferência abdominal; ACA, área da circunferência abdominal; CF, comprimento do fêmur.

As análises de correlação (r) entre as variáveis de crescimento fetal, apresentadas na Tabela 4, indicaram correlações positivas de alta intensidade ($r > 0,90$ e $P < 0,01$) entre a maioria das variáveis analisadas. As correlações entre CA x CF e

ACA x CF apresentaram $r < 0,90$, entretanto o nível de significância, ainda assim, foi considerado alto. Isso sugeriu, com alto grau de probabilidade ($P < 0,01$), que todas as variáveis de crescimento fetal estão correlacionadas entre si, ou seja, à medida que uma aumenta, o mesmo acontece com as demais.

Tabela 4: Coeficientes de correlação (r) entre as variáveis de crescimento fetal DBP x DOF x CC x ACC x CA x ACA x CF de macacos-da-noite (*Aotus azarai infulatus*) (CENP – Ananindeua/PA, 2007).

Variáveis	DBP	DOF	CC	ACC	CA	ACA	CF
DBP	1,00	0,990**	0,992**	0,975**	0,975**	0,966**	0,995**
DOF		1,00	0,998**	0,990**	0,969**	0,968**	0,983**
CC			1,00	0,991**	0,965**	0,963**	0,985**
ACC				1,00	0,948**	0,958**	0,980**
CA					1,00	0,990**	0,664**
ACA						1,00	0,814**
CF							1,00

DBP, diâmetro biparietal; DOF, diâmetro occípto-frontal; CC, circunferência craniana; ACC, área da circunferência craniana; CA, circunferência abdominal; ACA, área da circunferência abdominal; CF, comprimento do fêmur. ** $P < 0,01$

Foram estimadas equações de regressão para as dimensões uterinas (DCC, DDV, DT e VU) (Figura 4), e para os parâmetros de crescimento embrionário/fetal (DMSG, CCC, DBP, DOF, CC, ACC, CA, ACA e CF) (Figuras 5 e 6). Tais equações basearam-se no modelo quadrático ($y = ax^2 + bx + c$) e linear ($y = ax + b$), onde “y” representa as variáveis dependentes (variáveis uterinas ou parâmetros de crescimento embrionário/fetal), “x” representa a variável independente (idade gestacional em semanas). As letras “a”, “b” e “c” representam os coeficientes estimados pelo método dos mínimos quadrados.

As análises das equações de regressão para as dimensões uterinas mostraram coeficientes de determinação (R^2) de moderados a elevados para as variáveis DCC, DDV e DT. Entretanto, o modelo quadrático não foi considerado válido, já que os parâmetros estimados não foram significativos. A análise do volume uterino mostrou

equações de regressão válidas tanto para o modelo quadrático quanto para o linear, entretanto o valor de R^2 foi superior para o modelo quadrático (Figura 4).

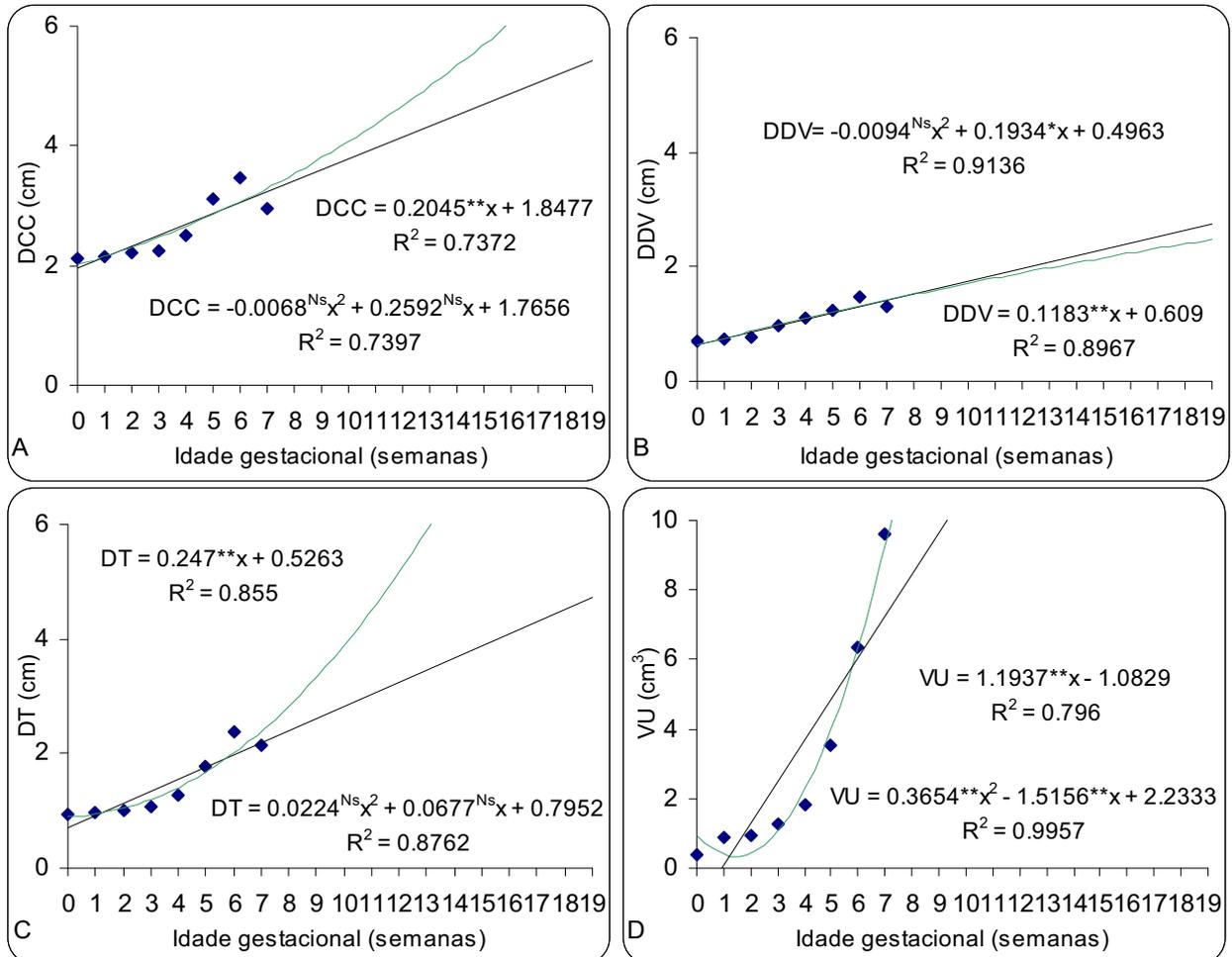


Figura 4: Representação gráfica das equações para as variáveis uterinas. **(A)** diâmetro crânio caudal (DCC). **(B)** diâmetro dorso ventral (DDV). **(C)** diâmetro transversal (DT). O modelo quadrático não foi considerado válido para essas variáveis. **(D)** volume uterino (VU), ambos os modelos foram considerados válidos, com valor de R^2 superior para o modelo quadrático. Ns, não significativo; * significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Foram estabelecidas equações de regressão para cada variável de crescimento embrionário/fetal conforme apresentado nas Figuras 5 e 6. Os coeficientes de determinação (R^2) foram elevados para todas as variáveis analisadas. Entretanto, para a variável ACC o modelo quadrático não foi considerado válido, pois os parâmetros estimados do coeficiente de x^2 não foram significativos (Figura 6B), sendo mais indicado o modelo linear para esse caso. As demais variáveis apresentaram equações de

regressão válidas tanto para o modelo quadrático quanto para o linear, entretanto os valores de R^2 foram superiores para primeiro, o que justificaria sua utilização.

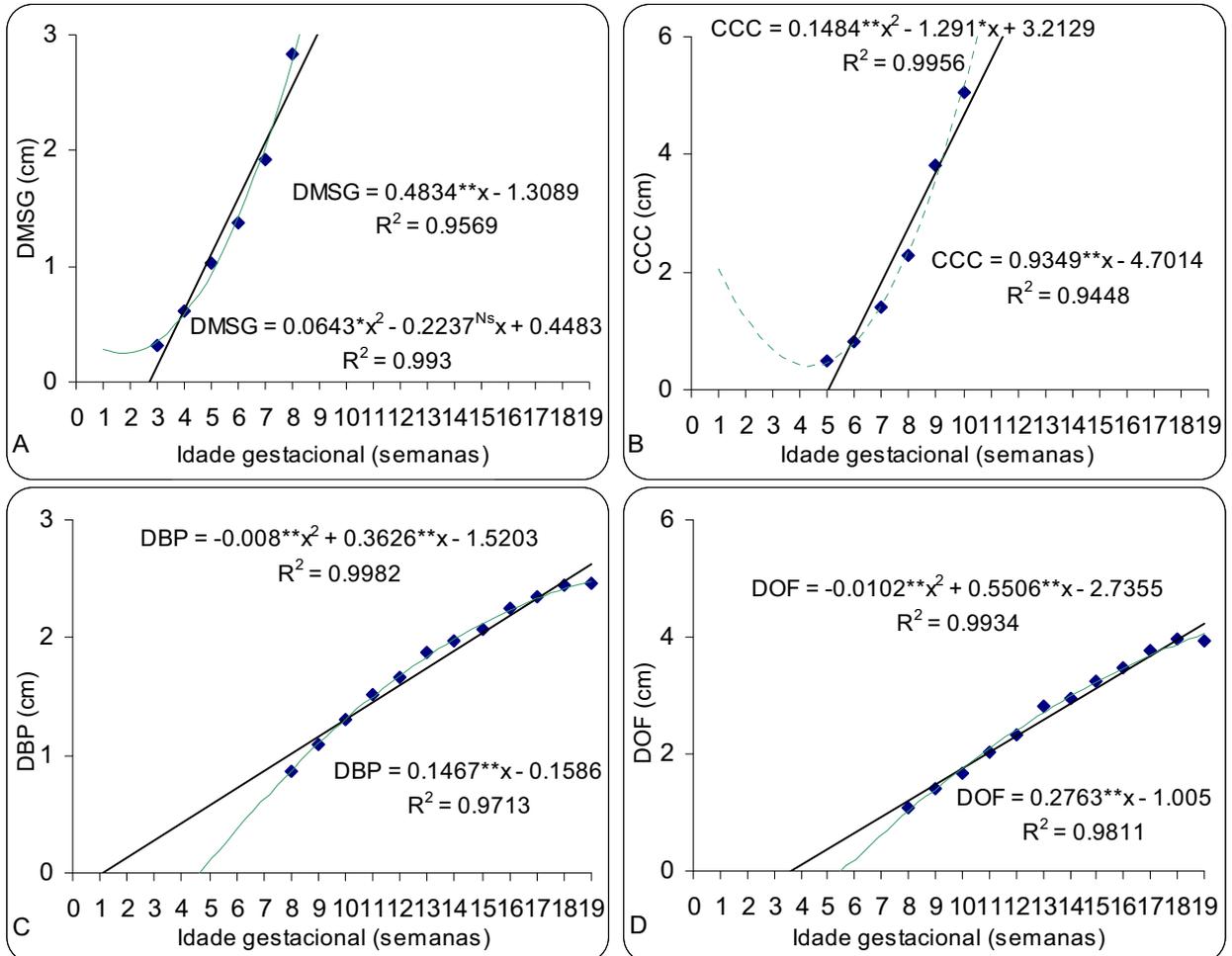


Figura 5: Representação gráfica das equações para as variáveis gestacionais. **(A)** diâmetro médio do saco gestacional (DMSG). **(B)** comprimento crânio caudal (CCC). **(C)** diâmetro Biparietal (DBP). **(D)** Diâmetro occípito-frontal (DOF). Os dois modelos foram válidos, com R^2 superior para o modelo quadrático. Ns, não significativo; * significativo a 5%; ** significativo a 1%.

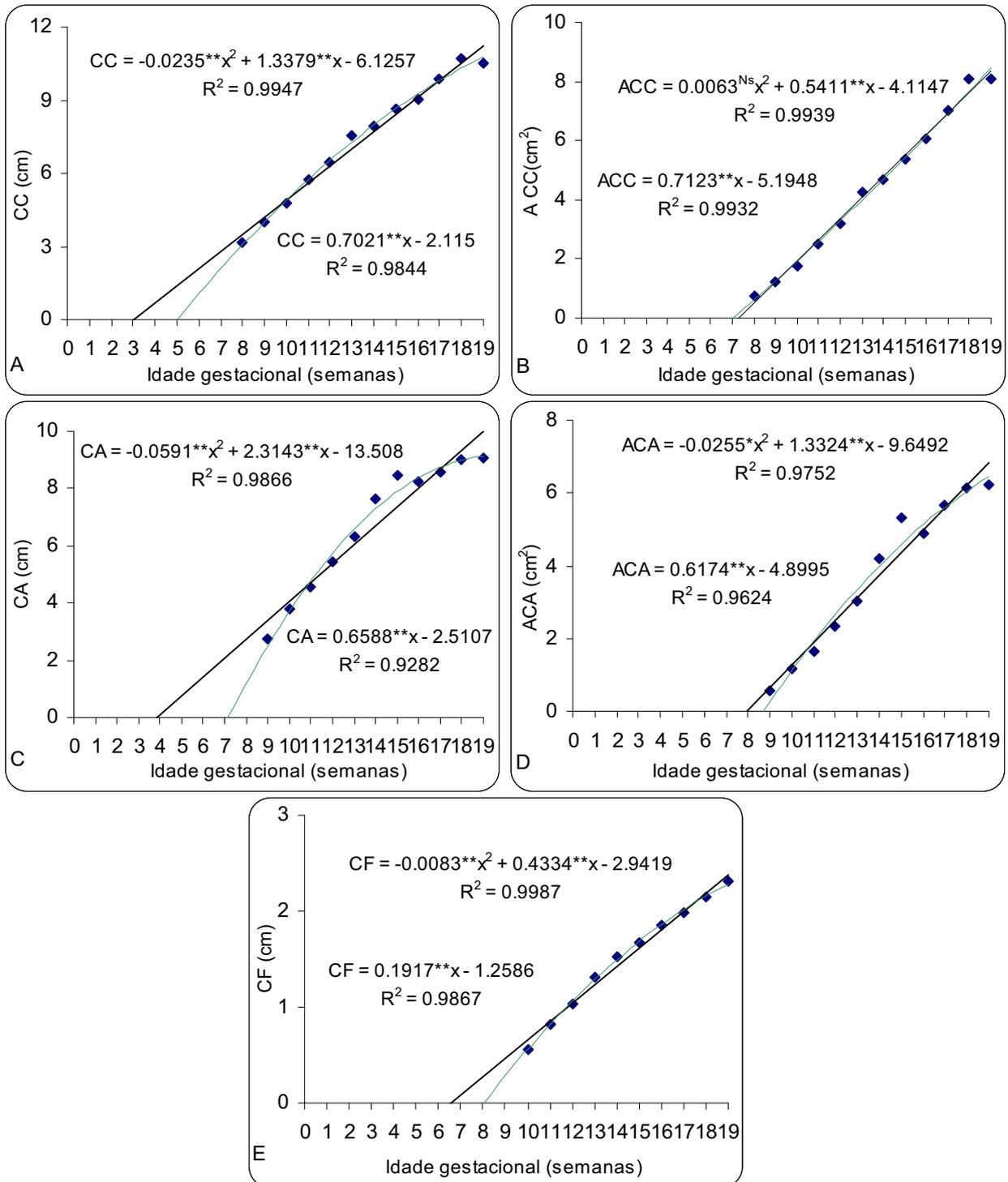


Figura 6: Representação gráfica para as equações das variáveis gestacionais. **(A)** diâmetro da circunferência craniana (CC), Ambos os modelos foram válidos **(B)** área da circunferência craniana (ACC), o modelo quadrático não foi válido. **(C)** diâmetro da circunferência abdominal (CA). **(D)** área da circunferência abdominal (ACA). **(E)** comprimento do fêmur (CF). Ns, não significativo; * significativo a 5%; ** significativo a 1%.

3.4 DISCUSSÃO

A análise dos resultados relacionados às frequências cardíacas entre fêmeas não gestantes e gestantes reforça a hipótese de que o horário de realização do exame (turnos) não influenciou no aumento ou diminuição dessas variáveis, em concordância com os resultados apresentados no Capítulo 2. Entretanto, quando se realizou a análise independentemente do turno observou-se que as fêmeas gestantes apresentaram frequências cardíacas significativamente mais elevadas que as não gestantes. Assim, foi possível inferir que, durante a gestação, as fêmeas são mais susceptíveis ao estresse, mesmo tendo sido previamente condicionadas ao exame por meio do oferecimento das frutas. Esses achados podem ser relacionados aos estudos realizados por BARRON et al. (1986) que sugeriram que as gestações normais alteraram as respostas cardiovasculares pela estimulação nervosa simpática. Alguns autores observaram uma maior atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, em gestantes comparativamente com não gestantes (SUDA, et al., 1989; SCHULTE et al., 1990; MATTHEWS & RODIN, 1992) e maior susceptibilidade ao estresse no início da gestação que nos estágios mais avançados (GLYNN et al., 2001).

Outra hipótese que pode explicar o aumento da frequência cardíaca em fêmeas gestantes é o aumento do fluxo sanguíneo, do metabolismo basal e da respiração materna durante a gestação. Em mulheres, com 27 semanas de gestação, ocorre aumento de 30 a 40% do fluxo sanguíneo e do débito cardíaco; a seguir, por razões inexplicadas, o débito cardíaco cai para valor ligeiramente acima do normal durante as últimas oito semanas de gravidez, apesar do alto fluxo sanguíneo uterino. Devido ao metabolismo basal aumentado na mulher grávida, a quantidade total de oxigênio utilizada pela mãe, logo antes do nascimento, fica cerca de 20% acima do normal. Simultaneamente, o aumento de volume uterino exerce compressão sob o diafragma, gerando aumento da ventilação minuto da mãe (GUYTON & HALL, 2000). Por conseguinte, essas alterações fisiológicas que ocorrem durante a gestação, podem ocasionar aumento compensatório da frequência cardíaca.

A maior duração do TE nas gestantes foi atribuído a elevada quantidade de parâmetros avaliados durante a gestação, tornando o exame mais demorado. O teste de correlação (r) feito entre o TE e as Fc2 de fêmeas gestantes indicaram semelhanças

com os resultados apresentados no Capítulo 2, entretanto sem demonstrar significância para essa correlação.

A avaliação dos ovários não permitiu visibilizar ovulação e/ou CL em nenhuma fêmea, demonstrando coerência com os resultados discutidos no Capítulo 2. Entretanto, foi possível inferir que as ovulações, que resultaram em gestações, tenham ocorrido no ovário esquerdo, pois, segundo HERTIG et al. (1976), histologicamente os ovários de macacos-da-noite possuíam grande quantidade de tecido intersticial luteinizado, o que justificaria o aumento de volume observado. Entretanto essa inferência carece de estudos mais detalhados das relações existentes entre o volume ovariano e a morfometria do CL por ultra-som associado a estudos de histologia e endocrinologia.

O diagnóstico precoce da gestação em primatas não-humanos é importante por razões clínicas e investigativas. Para pesquisadores que utilizam esses animais como modelos em reprodução humana, a capacidade de diagnosticar a gestação 14 dias após a provável concepção, promoveria oportunidades para estudos de fisiologia e patologia (CONRAD et al., 1989). Semelhante aos estudos de MONTEIRO et al. (2006), o espessamento endometrial e o aumento de volume uterino foram considerados SUSPG, mas não foram suficientes para estabelecer um diagnóstico preciso de gestação, pois, em primatas, essas variáveis podem sofrer alterações fisiológicas e patológicas, que afetam a ecogenicidade endometrial e o volume uterino sem que a fêmea esteja necessariamente gestante (CONRAD et al., 1989; HALL & YODER, 1994; SAUERBREI et al., 2000; MAUAD-FILHO et al., 2001; MONTEIRO et al., 2006). Dessa forma, foi necessário a visibilização do SG para confirmação do diagnóstico e estabelecimento dos SUSEG. Entretanto, é importante ressaltar que houve aumento progressivo do volume uterino à medida que os SUGEG iam sendo evidenciados

KUEDERLING & HEISTERMANN (1997), estudaram a gestação de *Saguinus fuscicollis* por ultra-som e constataram que, após a concepção, as superfícies do endométrio se separaram e formaram um lúmen de aspecto hipoecogênico (eco endometrial duplo), que foi detectado entre 16 e 18 dias de gestação ($17,2 \pm 1,0$ dia). Estudos mais recentes com calitriquídeos constataram que o eco endometrial duplo conferiu segurança e precocidade ao diagnóstico de gestação por ultra-som. Isso ocorreu com 15 dias de gestação em *Callithrix jacchus*, 17 dias em *Saguinus fuscicollis*

e *S. oedipus* e com 12 dias em *Callimico goeldii* (OERKE et al., 2002). Confrontando esses dados com os resultados obtidos neste estudo observou-se que o eco endometrial duplo, foi visibilizado e mensurado nas gestações analisadas como sendo o início da formação do SG, que ocorreu a partir da terceira semana de gestação. KUEDERLING & HEISTERMANN (1997) detectaram a presença do SG em *Saguinus fuscicollis* entre a quarta e sexta semana após a concepção ($41,8 \pm 7,1$ dias, intervalo de 32 – 52 dias). CORRADINI et al. (1998) verificaram a mesma estrutura entre a segunda e terceira semana de idade gestacional em macaco prego (15 – 22 dias). O presente estudo observou-se que o SG e o eco embrionário foram detectados a partir da terceira e da quarta semana de gestação, respectivamente. Esses achados foram semelhantes aos descritos por MONTEIRO et al. (2006) que visibilizaram as mesmas estruturas entre 28 e 38 dias após o acasalamento.

Vários autores afirmaram que os primatas não-humanos seguem o plano geral de desenvolvimento embrionário dos mamíferos e muitos eventos do início da gestação são estrutural e cronologicamente similares às gestações humanas (HEUSER & STREETER, 1941; CONRAD et al., 1984; NYLAND et al., 1984; TARANTAL et al., 1986; CONRAD et al., 1989; CORRADINI et al., 1998). No presente estudo, as análises das curvas de regressão e das variáveis do crescimento embrionário/fetal possibilitaram conclusões semelhantes às descritas na literatura para outras espécies.

MONTEIRO et al. (2006) concluíram que não foi possível monitorar a gestação de macacos-da-noite por ultra-som devido aos efeitos deletérios do estresse e da contenção química. Os mesmos autores levantaram a hipótese de que métodos de condicionamento da fêmea poderiam ser a solução para esse problema. Os resultados apresentados neste estudo demonstraram que os métodos de contenção e de condicionamento das fêmeas foram importantes para viabilizar o monitoramento ultrasonográfico da gestação, tornando possível o estudo dos eventos cronológicos do desenvolvimento embrionário/fetal de macacos-da-noite.

3.5 CONCLUSÕES

A avaliação dos resultados, nas condições em que foi realizado o experimento, permite estabelecer as conclusões a seguir:

1. Fatores relacionados ao estresse e/ou associados às alterações fisiológicas que ocorrem durante a gestação, podem contribuir para o aumento da frequência observada em fêmeas gestantes de macacos-da-noite;
2. A utilização do transdutor de banda larga, na frequência de 12MHz, proporciona imagens com boa resolução, contribuindo para a acurácia dos resultados;
3. Sinais ultra-sonográficos evolutivos da gestação podem ser visibilizados a partir da terceira semana de gestação, conferindo precocidade ao diagnóstico de gestação na espécie *Aotus azarai infulatus*;
4. O volume uterino apresenta aumento gradativo à medida que são observados os sinais ultra-sonográficos evolutivos de gestação;
5. Os eventos cronológicos do crescimento embrionário/fetal de macacos-da-noite são semelhantes aos de outras espécies de primatas;

4. REFERÊNCIAS¹

- ABLASHI, D. V.; CHOPRA, H. C.; AMSTRONG, G. R. A cytomegalovirus isolated from an owl monkey. **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 22, p. 190-195, 1972.
- ADAMS, G. P.; DIERSCHKE, D. J.; PIERSON, R. A. Computer analysis of ultrasonographic images of ovarian follicles in rhesus monkeys. **Biology of Reproduction**, v. 46, n. 1, p. 126, 1992.
- ALLMAN, J. M.; KAAS, J. H. A crescent-shaped cortical visual area surrounding the middle temporal area (MT) in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). **Brain Research**, Amsterdam, v. 81, p. 199-213, 1974.
- ALMEIDA, J. M. **Embriologia veterinária comparada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 176 p.
- ALMEIDA, M. M., CARVALHO, M. A. M., CAVALCANTE FILHO, M. F., MIGLINO, M. A., MENEZES, D. J. A. Morfological and morfometric study of the ovary in agoutis (*Dasyprocta aguti*, Linnaeus, 1766). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 55-62, 2003.
- AQUINO, R.; ENCARNACION, F. Owl monkey populations in Latin America: field work and conservation. In: BAER, J. F.; WELLER, R. E.; KAKAOMA, I. **Aotus: the owl monkey**. San Diego: Academic Press, p. 59-95, 1994.
- AUGUSTO, A. Q. Ultra-sonografia em animais selvagens. In: CUBAS, Z. S.; RAMOS, J. C.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Medicina de Animais Selvagens**. Rocca: São Paulo, p.464-474, 2006.
- AUGUSTO, A. Q. Ultrasonography in South America wild animals. In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals**. Iowa: Iowa State University Press, p.464-474, 2001.
- AYRES, J. M.; DEUTSCH, L. A. Os macacos da região amazônica. Geográfica Universal, p. 71-82, 1982.
- BARAHONA, H. H.; MELENDEZ, L. V.; HUNT, R. D.; DANIEL, M. D. The owl monkey (*Aotus trivirgatus*) as an animal model for viral diseases and oncology studies. **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 26, n. 6, p. 1104-1112, 1976.
- BARONE, F. C.; DEEGAN, J. F.; PRICE, W. J.; FOWLER, P. J.; FONDACARO J. D.; ORMSBEE, H. S. Coldrestraint stress increases rat fecal pellet output and colonic transit. **The American Journal of Physiology**, v. 258, p. G329-G337, 1990.

BARRON, W. M.; MUJAI, S. K.; ZINAMAN, M.; BRAVO, E. L.; LINDHEIMER, M. D. Plasma catecholamine responses to physiologic stimuli in normal human pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 154, p. 80-84, 1986.

BENTSON, K. L.; CAPITANIO, J. P.; MENDONZA, S. P. Cortisol responses to immobilization with telazol or Ketamine in baboons (*Papio cynocephaluslanubis*) and rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Journal of Medical Primatology**, v. 32, p. 148-160, 2003.

BETHEA, C. L., PAU, F. K. -Y., SAM FOX, B. S., HESS, D. L., BERGA, S. L., CAMERON, J. L. Sensitivity to stress-induced reproductive dysfunction linked to activity of the serotonin system. **Fertility and Sterility**, v. 83, n.1, p. 148-55, 2005.

BONNEY, R. C.; DIXSON, A. F.; FLEMING, D. Cyclic changes in the circulating and urinary levels of ovarian steroids in adult owl monkey. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 56, p, 271-280, 1979.

BONNEY, R. C.; DIXSON, A. F.; FLEMING, D. Plasma concentrations of oestradiol 17 β , oestrone, progesterone and testosterone during the ovarian cycle of the owl monkey. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 60, p, 101-107, 1980.

BONNEY, R. C.; SETCHELL, K. D. R. The excretion of gonadal steroids during reproductive cycle of the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). **Journal of Steroid Biochemistry**, Oxford, v. 12, p, 417-421, 1980.

BUSH, M. Methods of capture, handling, and anesthesia. In: Kleiman, D. G., Allen, M. E.; Thompsom, K. V. Lumpkin, S. **Wild Mammals in Captivity: principles and techniques**. Chicago: Chicago Press, p. 25-40, 1996.

CAPITANIO, J. P., KEYS, R. C., FAIRBANKS, L. A. Considerations in the selection and conditioning of Old World monkeys for laboratory research: animals from domestic sources. **ILAR Journal**, v. 47, n. 4, p. 294-306, 2006.

CASTRO, P. H. G.; VALLE, R. R.; FERREIRA, H. S.; MONTEIRO, F. O. B, VALLE, C. R.; CARVALHO, R. A. Biometria e colocação de microchips em macacos da noite (*Aotus azarai infulatus*) no Centro Nacional de Primatas. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 7., 2003, São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo: Abravas, 2003. 1 CD-Rom.

CHATTERTON, R. T. The role of stress in female reproduction: animal and human considerations. **International Journal of Fertility**, v. 35, n. 1, p. 8-13, 1990.

CLAVER, J. A., VON LAWZEWITSCH, I, COLILLAS, O. J. Microscopic anatomy of the ovary of *Alouatta caraya*. **Primates**, v. 25, n. 3, p. 362-371, 1984.

COHEN, H. L., TICE, H. M., MANDEL, F. S. Ovarian volumes measured by US: bigger than we think. **Radiology**, v. 177, n. 1, p. 189-192, 1990.

COIMBRA FILHO, A. F. Distribuição geográfica, ecologia, extinção e preservação de Platininos. In: SALDANHA, P. H. **Genética comparada de primatas brasileiros**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, p. 83-103, 1982.

CONRAD, S. H.; SACKETT, G. P.; BURBACHER, T. M. Diagnosis of early pregnancy by ultrasound in *Macaca fascicularis*. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 18, p. 143-154, 1989.

CONRAD, S.; BURBACHER, T.; KULLER, L. Diagnosis of early pregnancy in *M. fascicularis* by ultrasound. **American Journal of Primatology**, New York, v. 6, p. 403-403, 1984.

CORRADINI, P.; RECABARREN, M.; SERÓN-FERRÉ, M.; PARRAGUEZ, V. H. Study of prenatal growth in the capuchin monkey (*Cebus apella*) by ultrasound. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 27, p. 287-292, 1998.

DEMPSEY, E. W. The reproductive cycle of the new world monkeys. **The American Journal of Anatomy**, v. 64, 381-405, 1939.

DEVONALD, K. J.; HAREWOOD, W. J.; ELLWOOD, D. A.; PHIPPARD, A. F. Fetal Ultrasonography: normal biometric ranges in the baboon (*Papio hamadryas*). **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 25, p. 339-345, 1996.

DIXSON, A. F. Reproductive Biology of the owl monkey. In: BAER, J. F.; WELLER, R. E.; KAKAOMA, I. **Aotus: the owl monkey**. San Diego: Academic Press, p. 113-132, 1994.

DIXSON, A. F. The owl monkey (*Aotus trivirgatus*). In: HEARN, J. **Reproduction in New World Primates**. Lancaster: MPT, p. 71-113, 1983.

DOMINGUES, S. F. S.; DINIZ, L. V.; FURTADO, S. H. C.; OHASHI, O. M.; RONDINA, D.; SILVA, L. D. M. Histological study of capuchin monkey (*Cebus apella*) ovarian follicles. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 3, p. 495-501, 2004.

DUKELOW, W. R. Captive breeding and laparoscopy in nonhuman primates. In: MORROW, D. A. **Current Therapy in Theriogenology**. Philadelphia: Saunders, p. 1142-1150, 1980.

ECKSTEIN, P. Reproductive organs. In: Hofer, H., Schultz, A. H., Stark, D. **Primatologia**. New York: S. Karger. v. 3, p. 542-629, 1958.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the neotropics**. Chicago: University of Chicago Press, p. 1-2, 1989.

ELLIOT, M. W.; SEHGAL, P. K.; CHALIFOUX, L. V. Management and breeding of *Aotus trivirgatus*. **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 26, n. 6, p. 1037-1040, 1976.

FARINE, D.; MACCARTER, G. D.; TIMOR-TRITCH, I. E.; YEH, M.; STARK, R. I. Real-time ultrasonic evaluation of the Baboon pregnancy: biometric measurements. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 17, p. 215-221, 1988.

FELT, S.A., WHITE, C.E. Evaluation of a timed and repeated perianal tape test for the detection of pinworms (*Trypanoxyuris microon*) in owl monkeys (*Aotus nancymae*). **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 34, p. 209-14, 2006

FERNANDES-DUQUE, E.; ROTUNDO, M.; RAMIREZ-LLORENS, P. Environmental determinants of birth seasonality in night monkey (*Aotus azarai*) of the argentinean Chaco. **International Journal of Primatology**, New York, v. 23, n. 3, p. 639-656, 2002.

FLYNN R. J. **Parasites of Laboratory Animals**. Ames, IA: Iowa State University Press, 1973.

FORD, S. M. Taxonomy and distribution of the owl monkey. In: BAER, J. F.; WELLER, R. E.; KAKAOMA, I. **Aotus: the owl monkey**. San Diego: Academic Press, p. 1-53, 1994.

FOWLER, M. E. RESTRAINT. In: Fowler, M. E. **Zoo & Wild Animal Medicine**. 2 ed. Philadelphia: Saunders, 1986, p. 37-50.

GE MEDICAL SYSTEMS. Technical publications: manual do usuário do Logiq α 100 MP revisão 2, 2000. Porto, 2000. p. (Catálogo, 2) 14-20.

GLYNN, L. M.; WADHWA P. D.; DUNKEL-SCHETTER, C.; CHICZ-DEMET, A.; SANDMAN, C. A. When stress happens matters: Effects of earthquake timing on stress responsivity in pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 184, n. 4, p. 637-642, 2001.

GOEL, A. K.; AGRAWAL, K. P. A review of pregnancy diagnosis techniques in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 9, p. 255-264, 1992.

GUIMARÃES, M. A. B. V. Order primates (Primates) - Reproduction. In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Iowa: Iowa State University Press, p. 274-278, 2001.

GURAYA, S. S. Histophysiology and histochemistry of the interstitial gland tissue in the ovaries of non-pregnant marmosets. **Acta anatomica**, v. 70, p. 623-640, 1968.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of medical physiology**, 10th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000, 697-708.

HAINES, D. E. **Fundamental neuroscience**. New York: Churchill Livingstone, 1997, 417-430.

HALL, D. A.; YODER, I.C. Avaliação ultra-sonográfica do útero. In: CALLEN, P. C., (Ed). **Ultra-sonografia em obstetrícia e ginecologia**. 3 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, p. 567-594, 1994.

HALL, M.; VASKO, R.; BUYASSE, D.; OMBAO, H.; CHIEN, Q.; CASHMERE, D.; KUPFER, D.; THAYER, J. F. Acute stress affects heart rate variability during sleep. **Psychosomatic Medicine**, v. 66, p. 56-62, 2004.

HALL, R. D.; HODGEN, G.D. Pregnancy diagnosis in owl monkeys (*Aotus trivirgatus*): evaluation of the hemagglutination inhibition test for urinary chorionic gonadotropin. **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 29, n. 3, p. 345-348, 1979.

HAYAMA, S-I.; KAMIYA, S.; NIGI, H. Morphological changes of female reproductive organs of Japanese monkeys with reproductive conditions. **Primates**, v. 38, n.4, p. 359-367, 1997.

HERD, J. A. Cardiovascular response to stress. **Physiological Reviews**, v. 71, p. 305-330, 1991.

HERRING, J. M.; FORTMAN, J.D.; ANDERSON, R. J.; TAYLOR BENNETT, B. Ultrasonic determination of fetal parameters in Baboons (*Papio anubis*). **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 41, p. 602-605, 1991.

HERTIG, A. T.; BARTON, B. R.; MACKEY, J. J. The female genital tract of owl monkey (*Aotus trivirgatus*) with special reference to the ovary. **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 26, n. 6, p. 1041-1067, 1976.

HERTIG, A. T.; KING, N. W.; BARTON, B. R.; JOHNSON, L. D.; MACKEY, J. J.; BATES, C. Observations on the ovary of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) using light and electron microscope. In: Goldsmith, E., Moore-Jankowski, J. (eds). **Medical Primatology**: Basel: Karger. 1971, p. 473-503.

HEUSER, C. H.; STREETER, G. L. Development of the macaque embryo. **Contributions to Embryology**, v. 74, p. 15-54, 1941.

HILDEBRANDT, T. B.; GÖRITZ, F. Use of ultrasonography in zoo animals. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo & Wild Animal Medicine**. 4 ed. Pennsylvania: Saunders, p. 41-54, 1999.

- HODGES, J. K. The ovarian cycle and control of ovulation. **Journal of Zoology**, London, v. 213, p. 383-393, 1987.
- HUNTER, A. J.; MARTIN, R. D.; DIXSON, A. F.; RUNDDEK, B. C. Gestation and interbirth intervals in the owl monkey (*Aotus trivirtus griseimembra*) **Folia Primatology**. v. 31, p. 165-175, 1979.
- HUTCHINS, M.; THOMAS, P.; ASA, C. S. Pregnancy and parturition in captive mammals. In: KLEIMAN, D. G.; ALLEN, M. E.; THOMPSON, K. V. LUMPKIN, S. **Wild mammals in captivity: principles and techniques**. Chicago: Chicago Press, p. 468-496, 1996.
- HUTZ, R. J. Technologic advances in the imaging of ovarian morphology and their roles in ascertaining follicular growth and development in the rhesus monkey. **International Journal of Primatology**, New York, v. 15, n. 4, p.629-637, 1994.
- ISHWAR, A. K. Pregnancy diagnosis in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, v. 17, p. 37-44, 1995.
- JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Pregnancy diagnosis. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in farm animals**. 7. ed. Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 509p.
- JAQUISH, C. E.; TARDIF, S. D.; TOAL, R. L.; CARSON, R. L. Patterns of prenatal survival in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 25, p. 57-63, 1996.
- JONES, A. C.; SIMPSON, J. S. Comparison of behavior between 2 subspecies of owl monkey (*Aotus trivirgatus*) in a laboratory environment. **Laboratory Animal Science**, Copenhagen, v. 16, p. 274-277, 1982.
- KAPLAN, J. R.; MANUCK, S. B. Ovarian dysfunction, stress, and disease: a primate continuum. **ILAR Journal**, v. 45, n. 2, p. 89-115, 2004.
- KOERING, M. J. Comparative morphology of the primate ovary. **Contributions to Primatology**, v. 3, p. 38-81, 1974.
- KREMKAU, F. W. **Diagnóstico por ultra-som: princípios e instrumentos**. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996. 432 p.
- KUEDERLING, I.; HEISTERMANN, M. Ultrasonography and hormonal monitoring of pregnancy in the saddle back tamarin, *Saguinus fuscicollis*. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 26, p. 299-306, 1997.

- LASS, A.; BRINDEN, P. The role of ovarian volume in reproductive medicine. **Human Reproduction Update**, v.5, n. 3, p. 256–266, 1999.
- LEMERY, D. J.; SANTOLAYA-FORGAS, J.; WILSON J. R., L.; BIENIARZ, A.; WARSOFF, S. L. A non-human primate model for in uterus chronic catheterization of the umbilical vein. **Fetal Diagnosis Therapy**, Basel, v. 10, p. 326-332, 1995.
- MÁLAGA, C. A.; WELLER, R. E.; BUSCHBOM, R. L.; BAER, J. F.; KIMSEY, B. B. Reproduction of the owl monkey (*Aotus spp.*) in captivity. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 26, p. 147-152, 1997.
- MALIKI, M. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. **Circulation**. v. 93, p. 1043-65, 1996.
- MANN, W.A.; WELZEL, G.; KINTER, L. B. Determination of resting blood pressure in unrestrained cynomolgus monkeys using implanted telemetric transmitters. **The Toxicologist**, v. 11, p. 335, 1991.
- MATTHEWS, K. A.; RODIN, J. Pregnancy alters blood pressure responses to psychological and physical challenge. **Psychophysiology**. v. 29, p. 232-240, 1992.
- MAUAD-FILHO, F.; BEDUSCHI, A. F.; MESCHINO, R. A. G.; MAUAD, F. M.; CASANOVA, M. S.; FERREIRA, A. C. Avaliação ultra-sonográfica das variações do volume uterino. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p.175-179, 2001.
- MELLEN, J. D.; ELLIS, S. Animal learning and husbandry training. In: Kleiman, D. G., Allen, M. E.; Thompson, K. V. Lumpkin, S. **Wild mammals in captivity: principles and techniques**. Chicago: Chicago Press, 1996, 88-99.
- MICHAUD C.; TANTALEAN, M.; IQUE, C.; MONTOYA, E.; GOZALO, A. A survey for helminth parasites in feral New World non-human primate populations and its comparison with parasitological data from man in the region. **Journal of Medical Primatology**, , Copenhagen, v. 32, n. 6, p. 341-5, 2003.
- MITCHELL, S. J.; JONES, S.M. Diagnosis of pregnancy in marmosets (*Callithrix jacchus*). **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 9, p. 49-56, 1975.
- MITTERMEIER, R. A.; RYLANDS, A. B.; COIMBRA FILHO, A.; FONSECA, G. A. B. **Ecology and behavior of neotropical primates**. Washington: Littera Maciel, v. 2, p. 34-35.1988.
- MONNIKES, H.; RAYBOULD, H. E.; SCHMIDT, B. G.;TACHE, Y. CRH in the paraventricular nucleus of the hypothalamus stimulates colonic motor activity in fasted rats. **Pepitides**, v. 14, p. 743-747, 1993.

MONTEIRO, F. O. B.; KOIVISTO, M. B.; VICENTE, W. R.; AMORIM C. R.; WHITEMAN, C.W.; CASTRO, P. H.; MAIA, C. E. Uterine evaluation and gestation diagnosis in owl monkey (*Aotus azarai infulatus*) using the B mode ultrasound. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 35, n. 3, p. 123-30, 2006.

MORGAN, P. M.; HUTZ, R. J.; KRAUS, E. M.; BAVISTER, B. D.; CORMIE, J. A. Ultrasonography assessment of the endometrium in rhesus monkey during the normal menstrual cycle. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 36, p. 463-469, 1987.

NAGLE, C. A. Breeding and reproduction of the New World Primates. In: WORLD VETERINARY CONGRESS, 24, 1991, Rio de Janeiro. **Proceedings...** Rio de Janeiro, 1991. p. 200.

NAGLE, C. A.; PAUL, N. D.; GIANO, L.; QUIROGA, S.; FARINATI, Z.; LAHOZ, M.; MENDIZABAL A. F. The embryo-fetal development in cebus monkey (*Cebus apella*): ultrasound assessment. **International Journal of Primatology**, New York, v. 8, p. 471, 1987.

NARITA, H.; HAMANO, M.; CHI, F. Pregnancy diagnosis by the ultrasonographical device and observation of fetal growth in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). **Experimental Animals**, To Ryo. v. 37, p. 393-397, 1988.

NICHOLS, S. M.; BAVISTER, B. D.; BRENNER, C. A.; DIDIER, P. J.; HARRISON, R. M.; KUBISCH, H. M. Ovarian senescence in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). **Human Reproduction**. v. 20, n. 1, p. 79-83, 2005.

NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; ENGLAND, G. C. W (Ed.). **Arthur's veterinary reproduction and obstetrics**. 8 ed. London: W. B. Saunders, 2001. 868 p.

NYLAND, T. G.; HILL, D. E.; HENDRICKX, A. G.; FARVER, T. B.; MACGAHAN, J. P.; HENRICKSON, R.; ANDERSON, J.; PHILLIPIS, H. E. Ultrasonic assessment of fetal growth in the nonhuman primate (*Macaca mulatta*). . **Journal of Clinical Ultrasound**, Denver, v. 12, p. 387-395, 1984.

OERKE, A. K.; EINSPANIER, A.; HODGES, J. K. Noninvasive monitoring of follicle development, ovulation, and corpus luteum formation in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) by ultrasonography. **American Journal of Primatology**, New York, v. 39, p. 99-113, 1996.

OERKE, A. K.; HEISTERMANN, M.; KÜDERLING, I.; MARTIN, R. D.; HODGES, J. K. Monitoring reproduction in callitrichidae by means of ultrasonography. **Evolutionary Anthropology**, s. 1, p. 183-185, 2002.

OKANO, S.; NAGAYA, H.; INATOMI, N. Novelty stress increases fecal pellet output in Mongolian Gerbils: effects of several drugs. **Journal de Pharmacologie**, v. 98, p. 411-418, 2005.

PAVLIK, E. J.; DEPRIEST, P. D.; GALLION, H. H.; UELAND, F. R.; REEDY, M. B.; KRYSCIO, R. J.; NAGELL, J. R. Ovarian volume related to age. **Gynecologic Oncology**, v. 77, p. 410-412, 2000.

PHILLIPS, I. R.; GRIST, S. M. The use of transabdominal palpation to determine the course of pregnancy in the marmoset (*Callithrix jacchus*). **Journal Reproduction Fertility**, Cambridge, v. 43, p. 103-108, 1975.

PRESCOTT, M.; BUCHANAN-SMITH, H. M. Training nonhuman primates using positive reinforcement techniques. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 6, n. 3, p. 157-161, 2003.

REINHARDT, V. Working with rather than against macaques during blood collection. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 23, p. 189-197, 2003.

REIS, A. F.; BASTOS, B.G.; MESQUITA, B. T.; ROMEO, F. L. J. M.; NÓBREGA, A. C. L. Disfunção parassimpática, variabilidade da frequência cardíaca e estimulação colinérgica após infarto agudo do miocárdio. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, n. 3, p. 193-199, 1998.

RYLANDS, A. B.; SCHNEIDER, H.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIER, R. A.; GROVES, C.P.; RODRÍGUES-LUNA, E. An assessment of the diversity of the new world primates. **Neotropical Primates**, Belo Horizonte, v. 8, p. 61-93, 2000.

SANTOLAYA-FORGAS, J.; VENGALIL, S.; MEYER, W.; FORTMAN, J. Transvaginal ultrasonography (TVS) evaluation of Baboon gestation from 37-62 days postconception. **American Journal of Primatology**, New York, v. 43, p. 323-328, 1997.

SAUERBREI, E. E.; NGUYEN, K. T.; NOLAN, R. L. **Ultra-sonografia em Ginecologia e Obstetrícia**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 600 p.

SCHAPIRO, S. J.; PERLMAN, J. E.; THIELE, E.; LAMBETH, S. Training nonhuman primates perform behaviors useful in biomedical research. **Laboratory animals**, v. 34, p. 37-42, 2005.

SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M. P.; SAMPAIO, I.; HARADA, M. L.; STANHOPE, M.; CZELUSNIAK, J.; GOODMAN, M. Molecular phylogeny of the New World Monkeys (Platyrrhini, Primates). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v. 2, n. 3, p. 235, 1993.

SCHNELL, C. R.; GERBER, P. Training and remote monitoring of cardiovascular parameters in nonhuman primates. **Primate Report**, v. 49, p. 61-70, 1997.

SCHNELL, C. R.; WOOD, J. M. Measurement of blood pressure and heart rate by telemetry in conscious, unrestrained marmosets. **The American Journal of Physiology**, v. 264, p. H 1509 - H 1516, 1993.

SCHULTE, H. M.; WEISNER, D.; ALLOLIO, B. The corticotropin releasing hormone test in late pregnancy: lack of adrenocorticotropin and cortisol response. **Clinical Endocrinology**, v. 33, p.99-106, 1990.

SEIER, J. V.; HORST, G.; KOCK, M.; CHWALISZ, K. The detection and monitoring of early pregnancy in the vervet monkey (*Cercopithecus aethiops*) with the use of ultrasound and correlation with reproductive steroid hormones. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 29, p. 70-75, 2000.

SELYE H. The effect of adaptation to various damaging agents on the female sex organs in the rat. **Endocrinology** , v. 25, 615-624, 1939.

SINGH, J.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A. Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 371–399, 2003.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H.; DICKEY, D.A. **Principles and procedures of statistics a biometrical approach**. New York, McGraw-Hill, 1997, 666p..

SUDA, T.; IWASHITA, M.; USHIYAMA, T.; TOZAWA, F.; SUMITOMO, T.; NAKAGAMI Y, et al. Response to corticotropin-releasing hormone and its bound and free forms in pregnant and nonpregnant women. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 69, p. 38-42, 1989.

TANTALEÁN, M.; GOZALO, A. Parasites of the Aotus Monkey. In: **Aotus: The Owl Monkey**. Baer, Weller & Kakaoma (eds). San Diego: Academic Press, 1994; 353–374.

TARANTAL, A. F. Interventional ultrasound in pregnant macaques: embryonic/fetal applications. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 19, p. 47-58, 1990.

TARANTAL, A. F.; HENDRICKX, A. G. Characterization of prenatal growth and development in the crab-eating macaque (*Macaca fascicularis*) by ultrasound. **The Anatomical Record**, New York, v. 222, p. 177-184, 1988.

TARANTAL, A. F.; HENDRICKX, A. G. Prenatal growth in the cynomolgus and rhesus macaque (*Macaca fascicularis* and *Macaca mulatta*): A comparison by ultrasonography. **American Journal of Primatology**, v. 15, p. 309-323, 1988.

TARANTAL, A. F.; LAUGHLIN, L. S.; DIETER, J.; TIEU, J.; HENDRICKS, A. G.; OVERSTREET, J. W.; LASLEY, B. L. Pregnancy detection by ultrasound and chorionic gonadotropin during the peri-implantation period in the macaque (*Macaca fascicularis*). **Early Pregnancy: Biology and Medicine**, v. 3, p. 281-290, 1997.

TARANTAL, A. F.; VANDEVOORT, C. A.; OVERSTREET, J. W. Intrauterine insemination with ultrasound guidance in the long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*). **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 19, p. 447-453, 1990.

TARANTAL, A.; HENDRICKX, A. G. Evaluation of embryonic and fetal development in the cynomolgus monkey by ultrasound. **The Anatomical record**, New York, p. 214-132A, 1986.

TARDIF, S. D.; JAQUISH, C. E.; TOAL, R. L.; LAYNE, D.G.; POWER R. A. Estimation of gestational ages in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) from published prenatal growth curves. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 27, p. 28-32, 1998.

TEARE, J. A.; BELL, B.; KUHLMANN, R.; GEANON, G. Ultrasonography measurement of fetal growth in a bonobo (*Pan paniscus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 27, n. 4, p. 477-481, 1996.

THORINGTON, JR., R. W. The systematic of new world monkeys. **PAHO Scientific Publication**, Washington, v. 317, p. 8-88, 1976.

UMAÑA, J. A.; ESPINAL, C. A. T. Reproducción en una colonia de primates del genero *Aotus*. In: CONGRESO NACIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, 13, 1982, Cali, Colombia. **Anais...** Cali: Colombia, 1982. p. 119.

WALLACE, W. H.; KELSEY, T. W. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. **Human reproduction**, v.19, n. 7, p. 1612-1617, 2004.

WISLOCKI, G. B. Observations on twinning in marmosets. **The American Journal of Anatomy**, v. 64, 445-483, 1939.

WOLFE, N. D.; ESCALANTE, A. A.; KARESH, W. B.; KILBOURN A.; SPIELMAN, A.; LAL, A. A. Wild primate populations in emerging infectious disease research: the missing link?. Ahead wildlife project, Atlanta, 11 march 2000. Disponível em: <<http://www.fas.org/ahead/wildlife.html>> Acesso em: 11 mar. 2000.