



---

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

---

**USO DE ÉGUAS RECEPTORAS ACÍCLICAS EM PROGRAMAS DE  
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO:**

**Revisão de literatura**

Daniel Carneiro Lino

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

BRASÍLIA – DF

MAIO/2021



**DANIEL CARNEIRO LINO**

---

**USO DE ÉGUAS RECEPTORAS ACÍCLICAS EM PROGRAMAS DE  
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO:**

**Revisão de literatura**

Trabalho de conclusão de curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

**Orientador:** Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

BRASÍLIA – DF

MAIO/2021

LL758u Lino, Daniel Carneiro  
Uso de éguas receptoras acíclicas em programas de  
transferência de embrião: revisão de literatura. / Daniel  
Carneiro Lino; orientador Rodrigo Arruda de Oliveira. --  
Brasília, 2021.  
51 p.

Monografia (Graduação - Medicina Veterinária) --  
Universidade de Brasília, 2021.

1. reprodução. 2. equinos. 3. protocolos. 4.  
progestágenos. 5. estradiol. I. de Oliveira, Rodrigo  
Arruda, orient. II. Título.

## Cessão de Direitos

Nome do Autor: Daniel Carneiro Lino

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: Uso de éguas receptoras acíclicas em programas de transferência de embrião: revisão de literatura.

Ano: 2021

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

(assinatura)



Daniel Carneiro Lino

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: LINO, Daniel Carneiro

Título: Uso de éguas receptoras acíclicas em programas de transferência de embrião: Revisão de literatura.

Trabalho de conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 10/05/2021

Banca Examinadora

Prof. Dr. Rodrigo Amuda de Oliveira

Instituição: FAV/UnB

Julgamento: Aprovado

Assinatura: 

Prof. Dr. Ivo Pivato

Instituição: FAV/UnB

Julgamento: Aprovado

Assinatura: 

Prof. Dra. Rita de Cássia Campebell

Instituição: FAV/UnB

Julgamento: Aprovado

Assinatura: 

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus, por permitir que meus planos fossem os Seus planos, e que o meu sonho, meu grande sonho, se tornasse realidade.

Agradeço a minha família, eles são apoio, inspiração, fortaleza, amor e força. Minha mãe Káthia, por todo o suporte, auxílio e preocupação, por me fornecer tudo o que me foi necessário. Sem ela este dia não existiria, então mãe, esse diploma é nosso!

Gostaria de separar um espaço para também agradecer a Jéssyca, minha amada, que foi minha grande companhia. Obrigado por estar sempre presente nos momentos mais difíceis da caminhada, quando na verdade você também passava pelas mesmas situações.

Meus amigos que fiz nesse lugar, colegas de graduação, e agora, colegas de profissão. Por bons momentos, por suavizar e compartilhar os dias mais difíceis, por comemorar os melhores momentos. Essa conquista é melhor quando se tem amigos para compartilhar!

Agradeço aos meus professores, foi um grande privilégio poder aprender com grandes mestres, mentes experientes e cativantes, que nos motivam e inspiram a ser o melhor da nossa profissão. Um agradecimento em especial ao meu orientador professor, Rodrigo Arruda, que muito me ensinou, que muito me ensina, à professora Rita Campebell, por ser a minha grande inspiração na profissão e ao professor Ivo Pivato pela calma e sabedoria nos conselhos. Vocês foram para mim verdadeiros guias, conselheiros, amigos.

À Universidade de Brasília que agora posso chamar de “casa”. Desde o início, quando ainda era um sonho, sempre foi minha única opção, no qual agora tenho o orgulho de ser “ex-aluno”. Agradeço muito por ter tido essa oportunidade tão sonhada por muitos, e que valeu muito a pena.

Aos médicos veterinários que abriram as portas para me receber, me ensinar, aconselhar. A profissão precisa cada vez mais isso, união, valorização pela classe, compaixão. Juntos somos mais!

Por último, e ainda de imensa importância, meu agradecimento aos animais. Sejam os animais de aulas práticas, vivos ou mortos, de experimentos, de atendimento nos hospitais. Sem eles, esta graduação não teria sentido. Verdadeiros “professores”, peça fundamental de todos os médicos veterinários. E em meu caso, em especial os cavalos, animais extraordinários, que são a minha paixão, e o motivo da minha escolha pela profissão, obrigado por serem uma inspiração para mim, apenas por serem.

A todos vocês, meu profundo agradecimento, sem cada um de vós eu não estaria aqui.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
2.1 Ciclo estral.....	2
2.2 Sazonalidade.....	2
2.3 Receptoras.....	3
2.3.1 Características uterinas.....	4
2.3.2 Sincronia entre doadora e receptora.....	6
2.4 Protocolos em receptoras acíclicas.....	7
2.4.1 Protocolos com utilização de progestágenos ou progesterona.	7
2.4.2 Protocolos que preconizavam uma dose de estradiol seguida do uso de progestágenos e/ou progesterona.....	11
2.4.3 Estudo que correlaciona o tempo de estro e de edema com a probabilidade de gravidez em éguas receptoras.....	19
2.4.4 Protocolos que preconizavam diferentes doses de estradiol seguida do uso de progestágenos e/ou progesterona.....	20
2.4.5 Estudo da formação de corpos lúteos acessórios em éguas receptoras não acíclicas e sua capacidade de manutenção da gestação....	30
<b>3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>33</b>
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>
<b>5. RELATÓRIO DE ESTÁGIO.....</b>	<b>39</b>

**LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1 - Esquema representativo do protocolo utilizado por CARNEVALE et al (2000).....	8
FIGURA 2 - Esquema representativo do protocolo utilizado por HINRICHS et al. (1986).....	10
FIGURA 3 - Esquema representativo do protocolo utilizado por HINRICHS & KENNEY (1987).....	11
FIGURA 4 - Esquema representativo do protocolo utilizado por DA SILVA et al. (2014).....	13
FIGURA 5 - Esquema representativo do protocolo utilizado por JÚNIOR et al. (2021).....	18
FIGURA 6 - Esquema representativo do protocolo utilizado por GRECO et al. (2012).....	21
FIGURA 7 - Esquema representativo do protocolo utilizado por BOTELHO et al. (2015).....	23
FIGURA 8 - Esquema representativo do protocolo utilizado por KAERCHER et al. (2012).....	24
FIGURA 9 - Esquema representativo do protocolo utilizado por ROCHA FILHO et al. (2004).....	27
FIGURA 10 - Esquema representativo do tratamento hormonal utilizado por OLIVEIRA NETO et al., 2018.....	30

**LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1– Atividades desenvolvidas no estágio supervisionado na Estábulo no período entre 01/02/2021 e 31/04/202021.....	39
QUADRO 2– Atividades desenvolvidas no estágio supervisionado na FAL-UnB no período entre 01/04/2021 e 14/05/202021.....	41



## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações

BE - Benzoato de estradiol;

CE- Cipionato de estradiol;

D – Dia;

FSH - Hormônio folículo estimulante;

G – Grupo;

GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofina;

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

IM - Intra muscular;

LA - Longa ação;

LH - Hormônio luteinizante;

mg – Miligramas;

mL- Mililitros;

mm – Milímetros;

ng/mL - Nanogramas por mililitro;

P4 – Progesterona;

PIB - Produto Interno Bruto;

TE - Transferência de embrião;

PGF<sub>2</sub> $\alpha$  – Prostaglandina efe dois alfa;

VO – Via oral;

## RESUMO

Com o advento da técnica de transferência de embriões (TE), observou-se alguns entraves para o sucesso do procedimento. O maior gargalo para o êxito de um programa de TE está relacionado as receptoras, tanto a qualidade de características reprodutivas, quanto a sincronização entre doadoras e receptoras. Um dos fatores pelo qual isso acontece, é em decorrência do fotoperíodo da espécie equina, que está relacionado aos períodos de maior intensidade luminosa, e conseqüentemente, a fatores nutricionais. Éguas doadoras, geralmente, apresentam melhor escore corporal e disponibilidade de alimento nos períodos de seca, fazendo com que iniciem o seu ciclo estral precocemente, enquanto éguas receptoras se encontram ainda em anestro ou período transicional, o que dificulta a transferência do embrião. Sendo assim, várias pesquisas são conduzidas com o objetivo de utilizar estas éguas, ainda acíclicas como receptoras de embrião. Estas mostram que éguas receptoras acíclicas, seja no período de anestro ou transição, podem ser utilizadas nos programas de transferência de embrião quando submetidas a protocolos hormonais que mimetizem o ciclo estral natural. Uma grande diversidade de protocolos é encontrada na literatura, abordando diferentes doses, posologias e intervalos dos fármacos. Dentre as principais diferenças está a utilização de progestágenos, que podem ser utilizados isolados ou em combinação com estradiol. Objetivou-se analisar resultados de estudos de protocolos hormonais que poderiam ajudar a solucionar a falta de receptoras, potencializar o uso do plantel brasileiro, e impulsionar os resultados da técnica de TE.

**Palavras-chave:** reprodução, equinos, protocolos, progestágenos, estradiol.

## ABSTRACT

There are some obstacles to the success of the embryo transfer procedure, as observed with increasing the technique. One of the most issues to overcome is related to the recipient mares, the donor-recipient synchrony. One of the reasons for this happens is due to the equine photoperiod, which is related to brighter periods and nutritional factors. Generally, donor mares have a better body condition score and feeding availability in drought periods, therefore start cycling early than recipient mares, which makes embryo transfer more challenging. Several studies have been carried on aiming on how to use noncycling recipient mares. These mares, either in anoestrus or transitional period, could be used in embryo transfer programs when subjected to hormonal protocols that mimic the natural oestrous cycle. A range of protocols is found in the literature, different doses, dosages, and intervals. Among the main differences is the use of progestogens, which can be used alone or in combination with oestradiol. The aim of this review was to analyse results that could help to solve the lack of recipient mares, enhance the use of the Brazilian herd, and boost the results of the technique.

**Keywords:** reproduction, equine, protocols, progestogens, estradiol.

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo LIMA (2016) e IBGE (2019), no Brasil existem aproximadamente 6 milhões de equinos, o que gera mais de 3 milhões de empregos de forma direta e indireta, rendendo para o produto interno bruto (PIB) brasileiro cerca de R\$ 16,5 bilhões de reais. Para atender a esse mercado, diversas biotécnicas da reprodução são utilizadas, entre elas a transferência de embrião (TE).

Dentre as vantagens da TE podemos citar a produção de mais de um potro, por ano, de éguas de alto potencial genético e valor zootécnico; produção de potros de éguas que não são capazes de levar uma gestação a termo, seja por uma afecção ou idade e possibilitar a gestação de potras (ALONSO et al., 2008; DE LAVOR et al., 2014).

O Brasil é o maior produtor de embriões no mundo, porém a técnica ainda apresenta entraves no seu desenvolvimento, como a dificuldade de sincronia doadora/receptora no dia da ovulação, além da qualidade reprodutiva das receptoras (DE LAVOR et al., 2014; ALVARENGA, 2017).

Uma maneira de contornar o problema de sincronia entre doadora e receptora é a utilização de receptoras acíclicas. Entretanto, estes protocolos são onerosos devido à hormonioterapia e demandam muito manejo, com múltiplas aplicações medicamentosas, o que pode gerar estresse para os animais.

Portanto, objetivou-se apresentar uma revisão dos diferentes protocolos disponíveis para a utilização de éguas receptoras acíclicas, evidenciando as vantagens e desvantagens do seu uso.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Ciclo Estral

O ciclo estral em éguas tem duração média de 21 dias, podendo variar entre 19 a 25 dias, sendo dividido em 2 fases: fase de domínio do estrógeno ou fase folicular (proestro e estro) e fase de domínio da progesterona ou fase lútea (metaestro e diestro). A fase folicular é marcada pelo estro, com duração de 5 a 7 dias, e a fase progesteronica é chamada de diestro com duração de 14 a 15 dias (GINTHER et al., 2004; AURICH, 2011).

A fisiologia envolvida no processo reprodutivo de éguas é comandada pelo eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, que resulta em alterações fisiológicas, físicas e comportamentais (AURICH, 2011; WILLIAMS et al., 2012).

O hipotálamo através da secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) sintetizado por células neuronais, sinaliza na adeno-hipófise a liberação de gonadotrofinas sendo estes o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH). Estes por sua vez modulam o funcionamento das gônadas que são responsáveis pela produção de hormônios esteroides (estrógeno e progesterona), e a liberação de GnRH, pois ao atingirem o hipotálamo bloqueiam a sua liberação (feedback negativo). Os hormônios gonadais determinam as características da fase do ciclo estral em que se encontra a égua (GINTHER et al., 2005; CROWELL-DAVIS, 2007; AURICH, 2011).

Na fase do estro, as células da granulosa presentes nos folículos sofrem influência do FSH, liberado pela adeno-hipófise, produzindo e liberando estrógeno. Este hormônio é responsável pelas características do cio como abertura de cérvix, flacidez de útero, presença de edema endometrial, além do comportamento característico e receptividade ao macho (CROWELL-DAVIS, 2007; AURICH, 2011).

Na ovulação, o folículo dominante sob ação de LH se rompe liberando o ovócito na fossa ovulatória. As células da granulosa, remanescentes nestes folículos, sofrem o processo de luteinização, que pela ação do LH, passam a secretar progesterona e não mais o estrógeno (AURICH, 2011).

## 2.2 Sazonalidade

A espécie equina é considerada como poliéstrica estacional, ou sazonal, o que significa que o seu ciclo reprodutivo é afetado pelas estações climáticas. Nos períodos de primavera e verão as éguas apresentam múltiplos ciclos estrais e poucos ciclos ou nenhum nos períodos de outono e inverno (GINTHER et al., 2004; AURICH, 2011; SCHUTZER, 2014), fato este que é determinado pela maior incidência de horas luz/dia, maiores temperaturas, e conseqüentemente, a maior disponibilidade de alimento e condições de ambiente favoráveis ao desenvolvimento de sua prole, encontrados nas estações de primavera e verão (NAGY et al., 2000; GINTHER et al., 2004; AURICH, 2011; WILLIAMS et al., 2012).

Um dos mecanismos envolvidos no controle do ciclo sazonal das éguas é a melatonina, hormônio produzido pela glândula pineal que tem a sua produção controlada por estímulos nervosos oriundos do nervo óptico. A melatonina atua inibindo a produção de GnRH no hipotálamo, e o estímulo para a sua produção acontece na fase escura do dia (MALPAUX et al., 1999; NAGY et al., 2000; GINTHER et al., 2004; WILLIAMS et al., 2012).

Sendo assim, na transição do verão para o outono, a incidência de luz diária vai diminuindo gradativamente, o que leva ao aumento da produção de melatonina, e por conseqüência, a diminuição da produção das gonadotrofinas. O resultado disso é o declínio da atividade folicular, e a ausência da ovulação, período este denominado de anestro estacional. Em contrapartida, na transição do inverno para a primavera, os eventos se invertem, pois com o aumento do período luminoso do dia a produção de melatonina decresce, elevando os níveis de GnRH, FSH, LH e atividade folicular (FITZGERALD & MCMANUS, 2000; NAGY et al., 2000; GINTHER et al., 2004; AURICH, 2011).

Outros fatores também estão correlacionados com o mecanismo da estacionalidade reprodutiva da espécie equina. Dentre eles podemos citar fatores extrínsecos que são nutricionais, condição corporal e temperatura, e fatores intrínsecos como hormonais e neuroendócrinos (NAGY et al., 2000; GINTHER et al., 2004; AURICH, 2011; SCHUTZER, 2014; DE ARAÚJO & DE OLIVEIRA, 2018).

## **2.3 Receptoras**

A seleção de éguas receptoras é baseada em vários parâmetros, dentre eles: idade, condição corporal, comportamento, conformação de períneo e de vulva, histórico reprodutivo, qualidade de glândula mamária e avaliação reprodutiva (DE LAVOR et al., 2014).

As afecções uterinas e ovarianas podem ser identificadas por meio de exames ultrassonográficos, palpação retal, cultura, citologia e biópsia. Ao realizar os exames nas éguas, sinais como a presença de fluidos, cistos, ar e debris no lúmen uterino, ou também tumores e outras alterações nos ovários, além de evidências de endometrite crônica ou aguda devem servir de alerta para o descarte, ou não seleção da receptora para o plantel (SQUIRES & SEIDEL, 1995; CARNEVALE et al., 2000; DE LAVOR et al., 2014).

A receptora ideal deve, portanto, estar sincronizada com a doadora, ser de tamanho semelhante, jovem, de bom escore corporal, vacinada, livre de agentes infecciosos que podem comprometer a gestação e ter o comportamento dócil (DE LAVOR et al., 2014).

### **2.3.1 Características Uterinas**

Para serem consideradas aptas a receber o embrião, algumas características uterinas são avaliadas nas éguas receptoras (SQUIRES & SEIDEL, 1995; ALONSO et al., 2008). No exame de palpação retal a cérvix deve se apresentar firme, o útero arredondado com formato tubular, além de presença de tônus. No exame ultrassonográfico, não deve haver evidências de dobras endometriais ou presença de fluidos no lúmen do útero, o formato tubular deve ser observado, com ecogenicidade, homogeneidade, apresentando diferença mínima entre miométrio e endométrio. O lúmen uterino é identificado como uma linha hiperecótica formada por reflexões especulares sobre as superfícies endometriais intimamente sobrepostas (linha de colapamento). Por fim, o corpo lúteo deve ser

identificado, apresentando bom tamanho e organização (HAYS & GINTHER, 1986; SQUIRES & SEIDEL, 1995; ALONSO et al., 2008).

As características morfológicas ideais do útero para que as éguas sejam consideradas aptas para a transferência do embrião, se devem à fase de diestro. Nesta fase, a concentração de progesterona está elevada, e seu efeito no útero é responsável pelo tônus uterino e de rigidez de cérvix, que conferem condições para manter uma gestação segura de contaminações ascendentes, além de influenciar as secreções histotróficas uterinas, que contribuem com a sobrevivência do embrião (JONES et al., 1991; EIGENHEER-MOREIRA et al., 2007).

Os efeitos da progesterona no útero são predominantes aos efeitos do estrógeno (ALONSO et al., 2008). Deste modo, características de flacidez e abertura de cérvix são indícios no exame ginecológico de que a égua está sob ação estrogênica, e por isso não há produção adequada de progesterona. Quando estas características são encontradas não é indicada a transferência do embrião, pois o ambiente uterino não está condizente com a manutenção da gestação (CARNEVALE et al., 2000).

Apesar disso, a ação do estrógeno no ciclo estral também é determinante na ação da progesterona no diestro, pois sabe-se que além de ter a função de estimular a expressão de seus próprios receptores, também estimula a manifestação dos receptores de progesterona no endométrio. Sendo assim, o uso do estrógeno em protocolos hormonais é necessário, tendo em vista que a progesterona, que é o hormônio da gestação, tem seus receptores estimulados pelo estradiol (ROCHA FILHO et al., 2004; HARTT et al., 2005; ALONSO et al., 2008; KAERCHER et al., 2012). A duração da exposição do útero ao estrógeno também se mostrou relevante na possibilidade de prenhez, sendo então essencial para induzir a receptividade do útero (CUERVO-ARANGO et al., 2017).

Desta maneira, visando à manutenção da gestação, protocolos que suplementam estrógeno e progesterona são utilizados em programas de TE em equinos (MCKINNON et al., 1988; ROCHA FILHO et al., 2004; GRECO et al., 2012).

Nas éguas acíclicas, a terapia hormonal, tem por objetivo mimetizar as mesmas mudanças uterinas que acontecem em animais que ciclam de forma natural, possibilitando que estas possam desenvolver uma gestação, mesmo que o ciclo não tenha ocorrido de fato. O estradiol utilizado leva a formação do edema



endometrial e diferenciação celular do endométrio e miométrio, além de estar relacionado com a expressão de receptores de progesterona no útero. Já a progesterona é responsável pelo aumento do tônus uterino, pelo estímulo à secreção histotrófica e pela interação conceito-maternal (HINRICHS & KENNEY, 1987; SPENCER & BAZER, 1995; McDOWELL et al., 1999; HARTT et al., 2005; SILVA et al., 2016, 2017; MACIEL, 2018).

### **2.3.2 Sincronia entre doadora e receptora**

A sincronia entre doadoras e receptoras é um desafio enfrentado em programas de TE. Mesmo que se utilize hormonioterapia, com o objetivo de sincronizar as ovulações, nem sempre isso é possível devido à variabilidade de duração do estro e da resposta individual aos hormônios, que existe na espécie equina. Além disso, éguas doadoras e receptoras não possuem o mesmo manejo, sendo comumente encontradas éguas doadoras com atividade folicular, enquanto as receptoras ainda passam pelo anestro estacional, devido a influência nutricional no ciclo reprodutivo, o que dificulta a sincronia (ROCHA FILHO et al., 2004; ALONSO et al., 2008; SILVA et al., 2017).

As taxas de prenhez podem ser afetadas negativamente pela falta de sincronia entre doadora e receptora, pois o momento em que se encontra o ambiente uterino também deve estar em sincronia com o embrião. O embrião exposto a um útero assincrônico encontra níveis hormonais e fatores de desenvolvimento não correspondentes com a sua idade, ocasionando baixas taxas de desenvolvimento ou morte embrionária (BARNES, 2000; GINTHER et al., 2004; ALONSO et al., 2008).

Para cada doadora, preconiza-se sincronizar três receptoras em programas de TE, mas isso demanda uma grande disponibilidade de animais. Dessa forma, nem sempre é possível alcançar a sincronia ideal entre as éguas (HINRICHS et al., 1985). Assim sendo, protocolos são utilizados, com a intenção de acelerar os processos e se conseguir, mesmo que artificialmente, a sincronização.

Em éguas cíclicas, um dos protocolos mais utilizados é a aplicação de PGF2 $\alpha$  por via intramuscular na égua doadora, e um ou dois dias depois nas éguas

receptoras. Para isso é necessário que as éguas estejam entre o D6 e D14 de diestro e que no exame ultrassonográfico os ovários não apresentem um folículo pré-ovulatório (ALLEN, 2001). Ademais, monitora-se o crescimento folicular das éguas através da ultrassonografia, e então induz a égua receptora cerca de 48 horas após a indução da doadora, aumentando a chance de sincronia entre as duas (DUCHAMP et al., 1987).

## **2.4 Protocolos em receptoras acíclicas**

No período transicional, normalmente as doadoras apresentam ciclos estrais precoces quando comparado a éguas receptoras, principalmente pela diferença no manejo e na disponibilidade de alimento (SILVA et al., 2016). Desse modo, faz-se necessário o uso de éguas acíclicas, e até mesmo éguas ovariectomizadas, através de ciclos artificiais, pois há poucos animais disponíveis. O uso de hormônios como estrógeno e progesterona, vão induzir estes ciclos e mimetizar um ciclo natural (HINRICHS & KENNEY, 1987). Para isso, diferentes tratamentos hormonais foram descritos com o objetivo de aumentar a oferta de receptoras nos programas de TE, promovendo a gestação em receptoras acíclicas.

### **2.4.1 Protocolos com utilização de progestágenos ou progesterona (P4):**

*2.4.1.1 Protocolo com uso de altrenogest em éguas receptoras em transição de primavera:*

CARNEVALE et al. (2000) utilizaram nas receptoras em transição, o protocolo de administração diária de 0,044 mg/kg de altrenogest, que é um progestágeno sintético, por via oral (VO). O tratamento iniciava de 5 a 7 dias antes da transferência do embrião, e se estendia até 120 dias em éguas que confirmassem gestação. Não houve diferença entre o grupo de éguas cíclicas e em período transicional tratadas com relação a taxa de prenhez aos 12 e 50 dias. O resultado foi encontrado apesar do protocolo não usar estrógenos na preparação

das éguas receptoras, pois este está ligado à organização uterina para o estabelecimento e manutenção da prenhez, através dos receptores de P4, estimulados pela sua presença no endométrio (Figura 1).

Pela grande diferença existente entre o grupo amostral de éguas transicionais (18 éguas) em detrimento de éguas ciclantes (590 éguas), é difícil determinar se a diferença nas taxas de prenhez foi ou não significativa.

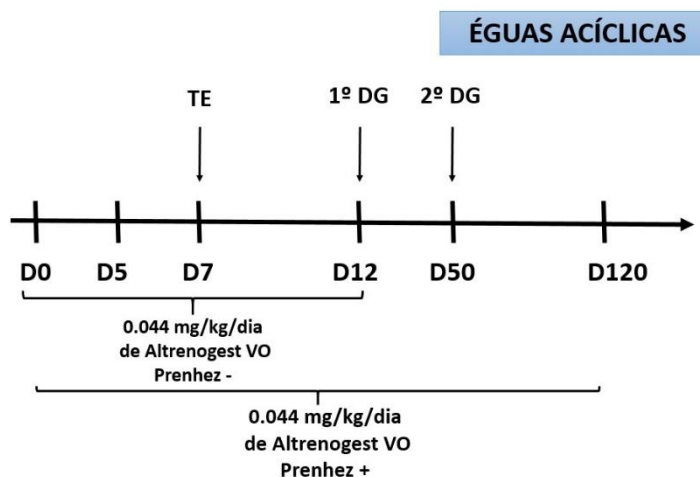


FIGURA 1 - Esquema representativo do protocolo utilizado por CARNEVALE et al. (2000), com 5 a 7 dias de suplementação de 0,044 mg de altrenogest, VO a cada 24 horas antes da TE. Fonte: CARNEVALE et al. (2000).

O altrenogest oral não está disponível comercialmente no Brasil, sendo assim, este protocolo não poderia ser executado no país.

#### 2.4.1.2 Protocolo com uso de altrenogest em éguas receptoras ovariectomizadas:

HINRICHS et al. (1986) também utilizaram protocolos hormonais que se baseavam apenas na utilização de progestágenos. Neste estudo, 3 grupos distintos foram comparados, diferindo na dose utilizada e o intervalo entre a ovulação da doadora e o início do tratamento na receptora, além de conter um grupo com éguas receptoras cíclicas como controle. As éguas acíclicas foram ovariectomizadas até pelo menos 3 semanas antes de iniciar o estudo.

No grupo A, o tratamento consistia em fornecer 22 mg de altrenogest, VO, diariamente começando 2 dias após a ovulação da doadora. Já no grupo B, as éguas recebiam 66 mg de altrenogest, VO, diariamente começando um dia após a ovulação da doadora. E por fim, nas receptoras do grupo C foi administrado 300 mg de progesterona em meio oleoso, IM, diariamente, começando 2 dias após a ovulação da égua doadora, como apresentado na Figura 2.

Como resultados foram observados: 16,6%, no grupo A; 33,3%, no grupo B; 40%, no grupo C e 68% no grupo controle. A taxa de prenhez do grupo A foi inferior que a do grupo controle ( $p < 0.05$ ), enquanto que as taxas encontradas nos grupos B e C não apresentam diferença do grupo controle. Esta diferença foi atribuída às piores características de tônus de útero e de cérvix encontradas nas éguas no grupo A, quando comparadas às encontradas nos outros grupos. Desta forma, o trabalho conclui que a dose de 22 mg de altrenogest parece não ser suficiente para boas taxas de prenhez em éguas ovariectomizadas. Porém os autores afirmam ser possível o estabelecimento e manutenção da gestação utilizando os mesmos protocolos do grupo B e C.

Dentre as vantagens descritas no trabalho, podem ser citadas a facilidade do uso do altrenogest por VO, desde que tomado os devidos cuidados no momento da administração, pois é altamente absorvido através da pele. Em adição a isso, fazer a ovariectomia das éguas receptoras, diminui a necessidade de constantes exames de palpação e ultrassonografia com a finalidade de sincronização com a doadora, além de diminuir o número de receptoras por doadora necessárias no plantel.

A maior desvantagem no protocolo é a não utilização do estradiol, que como dito neste trabalho, tem função primordial nas boas características uterinas, que são fundamentais no estabelecimento de uma prenhez. A ovariectomia nas éguas é um processo irreversível, e que pode levar a complicações no pós-cirúrgico como o tétano, hemorragia, peritonite, deiscência da sutura, aderências e apresentar riscos cirúrgicos como a perfuração de vísceras. O procedimento gera custos adicionais de cerca de R\$1.200,00 a R\$1.500 no protocolo e além disso, as éguas receptoras acíclicas e cíclicas eventualmente desenvolvem um corpo lúteo acessório, que também irá produzir progesterona e reduzir a necessidade da

continuidade do tratamento. Na égua ovarioectomizada não seria possível à interrupção do tratamento, o que prolonga e encarece o protocolo.

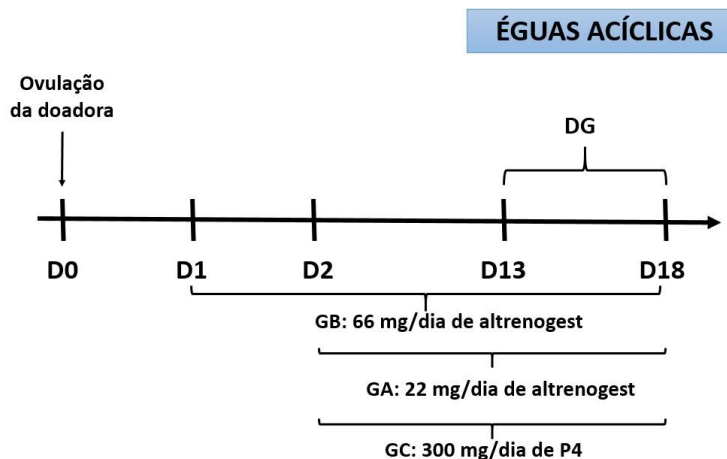


FIGURA 2 - Esquema representativo do protocolo utilizado por HINRICHS et al. (1986). Grupo A (GA): 22 mg de altrenogest VO, diariamente a partir do 2.<sup>o</sup> dia pós ovulação da doadora. Grupo B (GB) 66 mg de altrenogest VO, diariamente a partir do 1.<sup>o</sup> dia pós ovulação da doadora. Grupo C (GC): 300 mg de P4 injetável, diariamente a partir do 2.<sup>o</sup> dia pós ovulação da doadora. Fonte: HINRICHS et al. (1986).

No ano subsequente, os autores HINRICHS & KENNEY (1987) realizaram outro estudo, com o objetivo de testar e analisar o momento certo da aplicação de progesterona, e assim determinar se há uma necessidade de sincronizar o protocolo utilizado em éguas ovarioectomizadas com a ovulação da égua doadora, administrando 300 mg de progesterona oleosa, por via IM. Para comparar os resultados, as éguas foram divididas em dois grupos: grupo A recebia a dose de progesterona diariamente, começando cinco dias antes da transferência do embrião, que era colhido com sete dias de formação. Já as éguas receptoras do grupo B também recebiam a dose da progesterona diariamente, porém tinha o início das aplicações quatro dias antes da transferência do embrião (Figura 3).

Os resultados encontrados nas taxas de prenhez foram: grupo A: 6/8 (75%) e grupo B: 1/12 (8,3%), que corroboram com a suspeita de que há a necessidade de sincronia entre a ovulação da doadora com o início do protocolo nas receptoras.

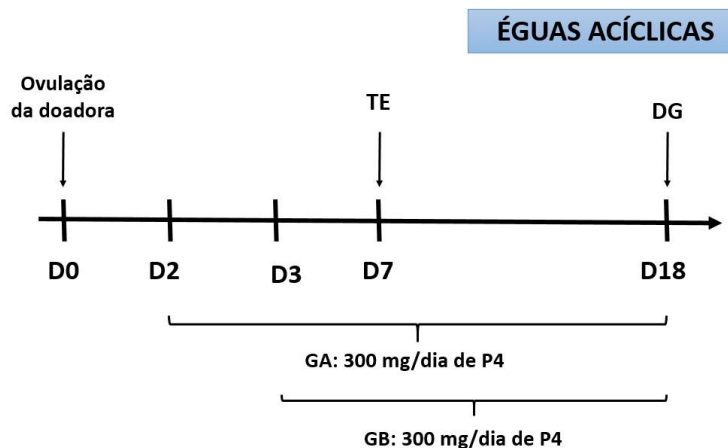


FIGURA 3 - Esquema representativo do protocolo utilizado por HINRICHS & KENNEY (1987). Doses diárias de 300 mg de P4, IM, começando 5 dias antes da TE nas éguas do grupo A (GA) e 4 dias antes nas éguas do grupo B (GB). Fonte: HINRICHS & KENNEY (1987).

O custo estimado para execução deste protocolo, no Brasil, é de cerca de R\$ 350,00 (por um período de 100 dias de gestação).

#### 2.4.2 Protocolos que preconizam uma dose de estradiol (E2) seguida do uso de progestágenos e/ou progesterona (P4).

##### 2.4.2.1 Protocolo com associação de benzoato de estradiol e progesterona de longa ação:

SILVA et al. (2014) realizaram um estudo com o objetivo de comparar taxas de prenhez de éguas receptoras em anestro ou na fase de transição, submetidas à hormonioterapia, com éguas receptoras cíclicas. As éguas foram divididas em dois grupos, sendo: grupo 1 formado por receptoras cíclicas, e o grupo 2 receptoras acíclicas.

As éguas receptoras cíclicas (grupo 1), foram inovuladas entre os dias quatro e oito pós-ovulação. Já no grupo 2, o protocolo consistia na administração de 10 mg de benzoato de estradiol (BE) e 48 horas após, as éguas eram examinadas por ultrassonografia transretal com o objetivo de verificar se havia edema uterino, o que

indicaria que a égua respondeu ao estrógeno exógeno. Nas receptoras que apresentavam adequado edema foi aplicado 10 mL de progesterona (P4) oleosa de longa ação, na concentração de 200 mg/mL, por via intramuscular, com repetição semanal até 120 dias de gestação. Estas éguas eram inovuladas entre quatro e oito dias da primeira aplicação de P4, ilustrado na Figura 4.

Para confirmação da gestação eram realizados exames ultrassonográficos por via transretal 7 dias após a inovulação do embrião. Não houve diferença ( $p>0,05$ ) na comparação entre a taxa de prenhez das éguas acíclicas (76,43%), com éguas cíclicas (63,63%).

Neste protocolo uma única dose de 10 mg de BE foi utilizada, e diferente dos outros protocolos, não foram administrados de forma seriada. Esta variação abrupta na concentração do estrógeno, não é o observado no ciclo natural das éguas e, por isso, apenas algumas receptoras corresponderam ao tratamento com presença de edema. Somente estas foram utilizadas no experimento. Desta forma, o protocolo acaba por limitar a possibilidade de animais aptos a receberem um embrião, que se traduz numa desvantagem nas propriedades que tem um menor número de animais e buscam os protocolos como alternativa. Por outro lado, a única dose administrada diminui o manejo de aplicação de injeções nas éguas, o que pode ser vantajoso em éguas que apresentam resistência à aplicação medicamentosa.

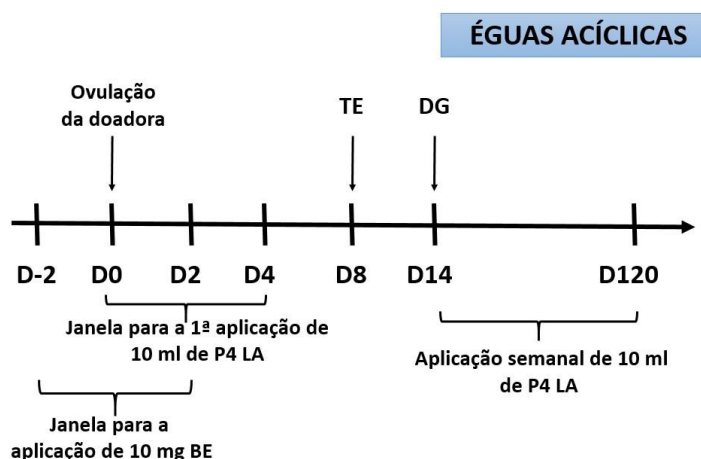


FIGURA 4 - Esquema representativo do protocolo utilizado por SILVA et al. (2014). Após 48 horas da injeção de 10 mg de BE, quando confirmada a presença de edema uterino por ultrassom, as éguas recebiam a primeira dose de 10 ml de P4 LA, IM. A TE deveria acontecer entre 4 a 8 dias após a primeira aplicação da P4 LA. Fonte: SILVA et al. (2014).

O custo estimado para execução deste protocolo, no Brasil, é de cerca de R\$ 440,00.

#### *2.4.2.2 Protocolo que compara diferentes regimes de tratamento com benzoato de estradiol seguidos por progesterona de ação prolongada:*

SILVA et al. (2016) compararam diferentes protocolos com benzoato de estradiol seguidos por progesterona de longa ação em éguas receptoras acíclicas. Para isso, 21 éguas foram utilizadas, sendo divididas igualmente (7 por grupo).

Os grupos se diferiram de acordo com as doses de benzoato de estradiol recebidas. O primeiro grupo recebeu 2,5 mg de BE por via intramuscular e 48 horas após foi administrada dose única de 1500 mg de P4 LA, IM. Enquanto isso, o segundo grupo recebeu 5 mg de BE em doses decrescentes (3 e 2 mg em dias consecutivos), e 24 horas após a última administração de BE, 1.500 mg de P4 LA, por via IM. E o terceiro grupo recebeu 10 mg de BE em doses decrescentes (5, 3 e 2 mg em dias consecutivos), e 24 horas após a última administração de BE, 1.500 mg de LA P4, por via IM. Após o tratamento, as mesmas éguas foram monitoradas até que fossem identificadas ondas de crescimento folicular, e sete delas foram escolhidas aleatoriamente para fazerem parte do grupo controle de éguas ciclantes.

Edema uterino alto foi alcançado 24 horas após a administração de BE em todos os grupos tratados, permanecendo alto até a injeção de P4 LA, no qual foi possível observar redução nos escores de edema. Porém no grupo de maior dose de BE (10 mg) o edema não diminuiu para níveis mínimos após a administração de P4, conforme observado no grupo controle após a ovulação.

As três diferentes doses usadas em cada grupo induziram picos de estrógeno semelhantes após a administração, porém, a observação de picos de estrógeno conjugado 24 horas após os picos de estrógeno nos grupos de 5 e 10 mg, sugerem que foi administrado um excesso da forma ativa estrógeno, que foi convertida em estrógeno conjugado para ser inativada. Além disso, no grupo em que foi utilizado a dose de 10 mg de estradiol, as concentrações de progesterona, 24 horas após a administração de P4 LA reduziram significativamente.



Logo, os autores concluem que o uso de 2,5 mg de BE seguido por 1.500 mg de P4 LA parece ser um regime mais apropriado, dentre os que foram testados, para preparar éguas não cíclicas. Este protocolo produz edema uterino e níveis de estrogênio semelhantes aos observados em éguas cíclicas, além de ser um procedimento mais simples, com menor número de administrações hormonais e que não interfere nos níveis de progesterona após a administração de P4 LA, o que é vantajoso.

Apesar dos resultados encontrados pelos autores, não foram transferidos embriões a estas receptoras, para que se pudessem comparar taxas de prenhez entre os grupos, e os devidos impactos das diferentes doses de estrógenos utilizados nas éguas receptoras.

#### *2.4.2.3 Estudo dos efeitos de morfologia uterina, concentrações hormonais e dinâmica molecular com a administração de 2,5 mg de estradiol seguido de 1.500 mg de progesterona em éguas anovulatórias:*

Corroborando com os resultados anteriores, SILVA et al. (2017) também desenvolveram um estudo que avaliou as alterações de receptores de estrogênio e progesterona em éguas em anestro, transição e cíclicas. Para isso, foram utilizadas as técnicas de RT-qPCR, imunohistoquímica e determinação das concentrações plasmáticas destes hormônios, além de características como tônus e edema uterino.

Para este experimento foram utilizadas 12 éguas, avaliadas durante o período de anestro, posteriormente quando em transição e por fim quando estavam cíclicas. No momento em que as éguas se encontravam em anestro, ou em transição elas foram submetidas ao tratamento hormonal. A hormonioterapia consistia na administração de uma dose única de 2,5 mg de BE, via IM, e após 48 horas, 1.500 mg de P4 LA oleosa, via IM. No momento em que se encontravam cíclicas, as éguas não receberam este tratamento.

Amostras sanguíneas foram coletadas a partir de três dias antes da ovulação e indo até cinco dias pós ovulação em éguas cíclicas. Já em éguas tratadas imediatamente antes da primeira aplicação do BE até cinco dias após a aplicação

da P4 LA. Este procedimento teve por objetivo definir as concentrações plasmáticas de estrógeno e progesterona nos animais.

Foram realizadas coletas de tecido endometrial imediatamente antes da primeira aplicação do BE, 48 horas após a sua aplicação e 5 dias após a aplicação da P4 LA em éguas tratadas. Já em éguas cíclicas foram coletadas amostras a partir da identificação do folículo de 35 mm e edema uterino, até cinco dias de pós ovulada. Este material foi coletado para realização das técnicas de RT-qPCR e imunohistoquímica com o objetivo de identificar a presença dos receptores uterinos.

Dentre os resultados obtidos pelos autores podemos citar que picos semelhantes das concentrações plasmáticas do estrógeno foram alcançados após a dose única de estradiol no grupo tratado e no final do estro e início do diestro em éguas cíclicas. Ademais, foi observado também edema endometrial 24 horas após a injeção do benzoato de estradiol.

Após a administração de P4, as apresentações de edema uterino e concentrações de estrogênio de ambos os grupos tratados diminuíram para baixos níveis, de forma semelhante ao encontrado em éguas cíclicas após a ovulação. A administração de 1.500 mg de P4 LA em éguas tratadas aumentou o tônus uterino para o nível intermediário característico que é observado no diestro de éguas cíclicas. Além disso, a dose administrada foi suficiente para atingir as concentrações mínimas de progesterona necessárias para o estabelecimento e manutenção da prenhez (> 2,5 ng/mL).

Ainda, as quantidades de receptores tanto de estrógeno quanto de progesterona encontrados foram semelhantes entre éguas cíclicas e não cíclicas tratadas quando o endométrio estimulado por P4 foi comparado ao endométrio estimulado por estrogênio. Contudo, nas éguas cíclicas, cinco dias após a ovulação os receptores de progesterona no epitélio glandular do endométrio diminuíram na avaliação, e ele não foi observado nas éguas receptoras em anestro após cinco dias que receberam a dose de P4.

Este estudo mostra que há correlação nas características uterinas, concentração plasmática de progesterona, e de receptores uterinos entre éguas não cíclicas tratadas e éguas cíclicas.

#### *2.4.2.4 Protocolo utilizando dispositivo intravaginal liberador de progesterona bovina em éguas receptoras acíclicas:*

A administração de P4 LA limita o uso das receptoras acíclicas, pois a metabolização desta é lenta, aumentando os níveis em média de 10 a 12 dias após a sua aplicação. Dado este fato, a reutilização das éguas é retardada nos casos das receptoras que não receberam embrião ou que a concepção embrionária não foi bem-sucedida. Os níveis elevados de progesterona impedem que o útero responda a aplicação do estradiol com o edema uterino e, portanto, a subsequente probabilidade de prenhez das éguas receptoras. Ademais, as aplicações de P4 LA exigem certo conhecimento técnico, pois injeções mal feitas podem ocasionar abscessos subcutâneos, além da aplicação ser dolorosa, pois é veiculada em meio oleoso.

À vista disso, JÚNIOR et al. (2021) compararam resultados de taxa de prenhez em éguas receptoras acíclicas submetidas aos protocolos de progesterona de longa ação, com o uso de implante intravaginal liberador de progesterona bovina, apresentando como uma alternativa mais econômica e de maior facilidade de administração, sem que haja a necessidade de tratamento diário e/ou injeções no início do tratamento.

As éguas em anestro selecionadas foram divididas em dois grupos. O grupo com dispositivo intravaginal de liberação de progesterona, G-IVP4 com 24 éguas, e o grupo G-iP4, com o tratamento de P4 LA com 49 éguas. O tratamento iniciava com as éguas de ambos os grupos recebendo uma injeção de 20 mg de 17  $\beta$  estradiol, por via IM.

As éguas do G-IVP4 que apresentavam edema endometrial 48 horas após a aplicação de estradiol recebiam o implante de liberação contínua de progesterona, que era preparado previamente com antissepsia e impregnado com antibiótico e antiinflamatório spray, para prevenir vaginites. Por outro lado, as éguas do G-iP4 recebiam 1.500 mg de P4 LA, por via IM.

A transferência do embrião foi realizada 5 dias após o início do tratamento de suplementação de progestágenos, seja o implante vaginal (G-IVP4) ou injeção de P4 LA (G-iP4). No G-IVP4 o implante foi retirado, e após a inovulação do embrião o implante era substituído por um novo. Em contrapartida, no G-iP4, 5 dias após a

primeira injeção de P4 LA realizava-se a TE e em sequência as éguas do grupo recebiam uma nova aplicação intramuscular de 1.500 mg de P4 LA.

Ao ser identificada como prenhe, as receptoras em anestro de ambos os grupos receberam 1.500 mg de P4 LA, por via IM. O segundo dispositivo intravaginal de liberação de progesterona das éguas G-IVP4 foi removido três dias após o diagnóstico de gestação, como mostra a Figura 5. Ademais, as éguas prenhas recebiam semanalmente a mesma dose de P4 LA até completarem 120 dias de gestação.

Os níveis séricos de progesterona analisados nas coletas sanguíneas do grupo G-IVP4 no dia da TE e no dia do diagnóstico de prenhez aumentaram quando comparadas com dia inicial do tratamento, e não diferiam entre si, além de alcançarem níveis superiores ao considerado mínimo para manutenção da gestação (2,5 ng/mL). As taxas de concepção encontradas foram 83,3% (20/24) e 73,5% (36/49) para os grupos G-IVP4 e GIP4 respectivamente, não havendo diferença significativa ( $P > 0,05$ ).

O ponto negativo encontrado pelo protocolo é a ocorrência de vaginite, frequentemente encontrada na utilização de implantes intravaginais. Isso porque há uma resposta inflamatória à presença de um corpo estranho, resposta esta que é fisiológica, mas que quando leve não causa prejuízos a fertilidade. Para evitar uma grave inflamação, ou uma contaminação é necessário associar oxitetraciclina com hidrocortisona aplicados no implante (POLASEK, 2017).

Deste modo, os autores concluíram que a absorção vaginal de progesterona através do implante intravaginal bovino é suficiente para preparar o útero de éguas receptoras acíclicas para TE, pois obtiveram taxas de prenhez semelhantes às éguas submetidas ao protocolo padrão usando P4 LA injetável.

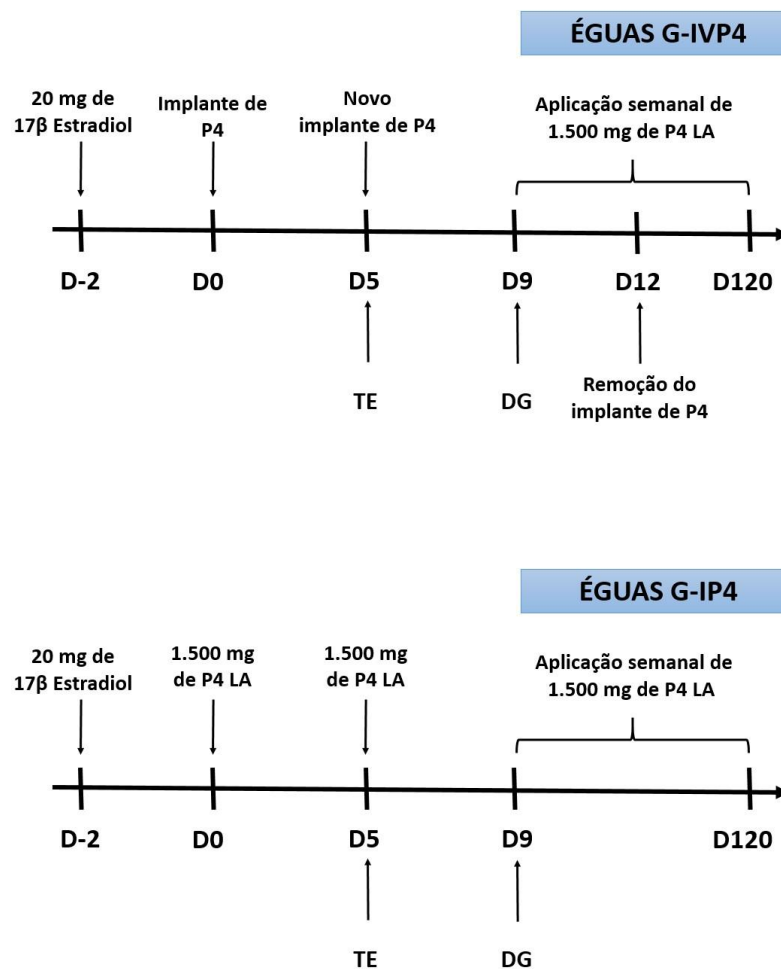


FIGURA 5 - Esquema representativo do protocolo utilizado por JÚNIOR et al. (2021). G-IVP4: implante de 1g de progesterona bovino; G-IP4: injeção IM de progesterona de longa ação. No dia da TE o implante deve ser trocado por um novo e retirado após 4 dias, do dia do DG. Nas éguas prenhes de ambos os grupos 1.500 mg de P4 LA. Fonte: Imagem adaptada de JÚNIOR et al. (2021).

O custo estimado para execução do protocolo, no Brasil, em uma égua de 400 kg é de cerca de: G-IVP4 - R\$ 318,00; G-IP4 – R\$ 320,00.

### 2.4.3 Correlação entre o tempo de estro e de edema, com a probabilidade de gestação em éguas receptoras.

CUERVO-ARANGO et al. (2017), concluíram em seu estudo que a maior duração do período em que a receptora apresenta o estro, acompanhado de edema

uterino, influencia positivamente na possibilidade de estabelecer prenhez em éguas receptoras, seja após uma luteólise espontânea ou induzida.

No estudo retrospectivo foram analisadas as éguas que se encontravam em diestro e tratadas com prostaglandina, sendo avaliadas por ultrassom até que fosse garantido a luteólise. Uma vez em estro, as éguas foram examinadas a cada 24 horas até que ocorresse a ovulação. A duração em dias da ocorrência do edema endometrial era registrada desde o primeiro dia em que foi observado edema de grau 2 ou 3 até o dia da ovulação. Éguas em anestro eram examinadas uma vez por semana até que entrassem em transição, no qual passaram a ser examinadas de duas a três vezes por semana, até que apresentassem a primeira ovulação.

As análises constatam que a probabilidade da égua receptora consolidar a gestação aumentou significativamente com o aumento da duração do estro. Somado a isto, a probabilidade de gestação nas receptoras que apresentaram três ou mais dias de edema no estro foi, também, significativamente superior a receptoras com menos de três dias ou nenhum dia de edema, apresentando as seguintes taxas de prenhez: 83,1% (157/189), 63,6% (77/121) e 50% (11/22) respectivamente.

Outro fator que teve correlação significativa com a duração do edema endometrial foi o intervalo entre a aplicação da prostaglandina (PGF) e a ovulação, pois para que haja edema é necessário que a concentração de progesterona permaneça a nível basal, enquanto o estrógeno circulante esteja em altas concentrações. As receptoras que apresentaram seis dias ou menos de intervalo tiveram 65,4% (53/81) de probabilidade em engravidar que foi menor do que as que apresentaram o intervalo com mais de seis dias, com 83,9% (108/129).

O trabalho ainda reforça a necessidade da presença do estrógeno anterior a exposição da progesterona, para estabelecer uma melhor recepção uterina do embrião, como é relatado na literatura. Observou-se também que a duração do tempo de exposição ao estrógeno está associada a melhores resultados no estabelecimento da prenhez.

Os autores confirmaram a associação positiva entre a duração do estro com a presença de edema, seguida de maior probabilidade de gestação em uma receptora nos programas de TE. Essa informação pode contribuir não só como um

critério para selecionar receptoras cíclicas, como na decisão de um melhor protocolo hormonal utilizado nas receptoras em anestro.

#### **2.4.4 Protocolos que preconizavam diferentes doses de estradiol (E2) em dias consecutivos, seguida do uso de progestágenos e/ou progesterona (P4).**

##### *2.4.4.1 Protocolo com uso de cipionato de estradiol e de progesterona de longa ação para receptoras de embriões acíclicas:*

Em um estudo realizado por GRECO et al. (2012) éguas foram tratadas com aplicações intramusculares de cipionato de estradiol utilizando doses decrescentes de 10 mg, 6 mg e 4 mg em dias consecutivos, respectivamente. As éguas com edema forte, e dobras endometriais bem definidas em todo o útero foram consideradas adequadas, e no quarto dia de tratamento receberam uma dose de 1.500 mg de progesterona de longa ação com injeção intramuscular.

As éguas receptoras cíclicas do grupo controle recebiam o embrião ente os dias três e nove pós-ovulação, enquanto receptoras acíclicas recebiam o embrião entre três a seis dias pós aplicação da progesterona de longa ação. Ao transferir o embrião, as receptoras recebiam novamente uma dose de 1.500 mg de P4 LA. As éguas que confirmaram prenhez recebiam uma dose reforço de 1.500 mg de P4 LA, a cada sete dias até completarem 100 dias de gestação, como apresentado na Figura 6.

Neste estudo, os autores encontraram taxas de prenhez mais altas para éguas acíclicas submetidas ao tratamento hormonal, no qual 139 éguas de 241 emprenharam (57,68%), em detrimento a éguas cíclicas não tratadas em que 319 éguas de 723 emprenharam (44,12%).

A conclusão do trabalho foi que receptoras acíclicas submetidas ao tratamento hormonal podem ser utilizadas em programas de transferência de embrião. Taxas de prenhez superiores podem ser obtidas quanto utilizado protocolos hormonais, devido a um número maior de receptoras adequadas para receber o embrião no momento da transferência, o que melhora a seleção das éguas e aumenta as taxas de sucesso.

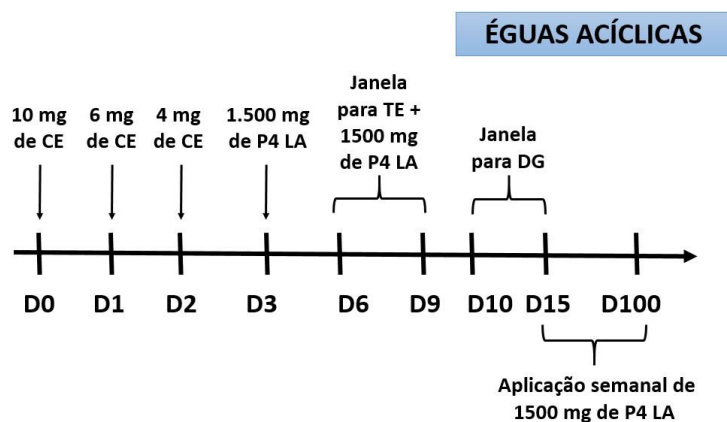


FIGURA 6 - Esquema representativo do protocolo utilizado por GRECO et al (2012). Doses decrescentes de Cipionato de Estradiol (CE), IM. No 4.º dia 1.500 mg de P4 LA, IM. Inovulação do embrião de 3 a 6 dias após a aplicação de P4 LA (D3-D9) e neste momento recebiam novamente a aplicação de 1500 mg de P4 LA. O DG acontecia quando o embrião completava 12 dias de vida (D10-D15). Fonte: GRECO et al. (2012).

O custo estimado para execução do protocolo, no Brasil, é de cerca de R\$ 335,00.

#### 2.4.4.2 Protocolo com uso de benzoato de estradiol e progesterona de longa ação em éguas receptoras anovulatórias durante a fase de transição de outono:

Com o objetivo de avaliar a resposta do tratamento hormonal em éguas anovulatórias no final da estação de monta, na transição de outono, BOTELHO et al. (2015) montaram um estudo com 76 éguas divididas em dois grupos. Um grupo controle com 36 éguas que apresentavam ciclos estrais típicos, e um grupo tratado que consistia em 40 éguas que apresentavam ciclo estral com crescimento folicular, mas não apresentaram ovulação. As receptoras anovulatórias tinham folículos menores que 20 mm e ausência de corpo lúteo no dia da transferência de embrião.

No grupo controle, a TE acontecia cinco dias após a ovulação das receptoras, e no grupo tratado, iniciava-se o protocolo oito dias antes da TE. Este consistia em doses decrescentes de benzoato de estradiol de 5 mg, 3 mg e 2 mg em dias consecutivos, respectivamente, por via IM. Após 24 horas da última



administração de BE, utilizava-se 1.500 mg de P4 LA também por via IM, e no dia da transferência do embrião foi feita uma nova aplicação. Com o objetivo de manutenção da gestação a mesma dose de 1.500 mg de P4 LA era repetida a cada sete dias, até 120 dias de gestação. O protocolo está ilustrado na Figura 7.

Os resultados encontrados pelos autores foram de taxas de prenhez maior em éguas tratadas, quando comparadas a éguas do grupo controle, em todos os diagnósticos (D13, D30 e D60). As taxas de prenhez foram: D13 – grupo controle: 16/30 (53,3%), tratadas 35/46 (76,1%); D30: - grupo controle: 12/30 (40%), tratadas: 34/46 (74,0%); D60 – grupo controle: 11/30 (36,6%) e tratadas: 32/46 (69,6%).

Este protocolo se mostra, portanto, suficiente para estabelecer e manter a gestação em éguas receptoras anovulatórias que estão entrando em fase de transição. Mais uma vez, em outro estudo foram observadas taxas de prenhez superiores em éguas receptoras submetidas a hormonioterapia às receptoras no ciclo estral.

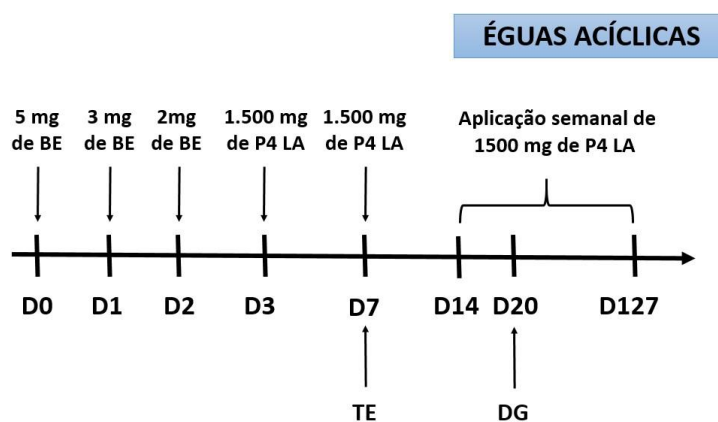


FIGURA 7 - Esquema representativo do protocolo utilizado por BOTELHO et al. (2015). Doses decrescentes de BE, IM, seguidas da administração IM de 1.500 mg de P4 LA. Reforço da dose de P4 LA no momento da TE. Após 7 dias (D14) foi realizada uma nova aplicação de P4 LA. Fonte: Imagem adaptada de BOTELHO et al. (2015).

O custo estimado para execução do protocolo, no Brasil, é de cerca de R\$ 315,00.

#### 2.4.4.3 Protocolo em éguas receptoras anovulatórias tratadas com benzoato de estradiol e progesterona de longa ação:

No estudo de KAERCHER et al. (2012) os animais foram divididos em dois grupos, no qual o G1 possuía 45 éguas acíclicas (éguas em anestro ou transição), e G2 composto por 45 éguas cíclicas (grupo controle). No G1, as éguas foram tratadas por três dias consecutivos com doses decrescentes de 5,3 e 2 mg de BE, por via IM, começando a partir do dia da ovulação da doadora. Em sequência, no quarto dia pós-ovulação da doadora, aplicava-se 400 mg de P4 LA (IM), repetido semanalmente até que a gestação completasse 120 dias. O intervalo entre a primeira aplicação de P4 LA e a TE foi de 5 dias, como na Figura 8.

Esse protocolo resultou em uma taxa de prenhez de 60% (27/45) e 71% (32/45) para G1 e G2 respectivamente. De tal maneira, na comparação entre os grupos tratado e controle, não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ), mostrando que este protocolo também foi eficiente no preparo de éguas para receberem o embrião, e compatível com a manutenção da prenhez, mesmo fornecendo doses mais baixas que as utilizadas pelos outros autores (1.500mg).

A aplicação da progesterona em uma dose mais baixa (400 mg P4 LA) se mostra vantajosa, pois isso diminui o custo do tratamento. No entanto, estas éguas apresentaram concentrações mais baixas de progesterona do que as éguas cíclicas. A menor dose pode apresentar maior risco tendo em vista a individualidade do organismo dos animais, apesar de no estudo apresentarem bons resultados na manutenção da gestação.

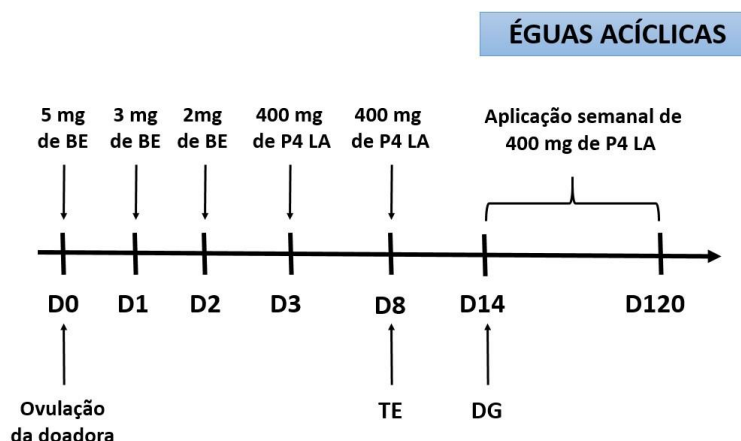


FIGURA 8 - Esquema representativo do protocolo utilizado por KAERCHER et al. (2012). Doses decrescentes de BE, IM, seguidas da administração IM de 400 mg de P4 LA. TE após 5 dias da primeira aplicação de P4 LA, com reforço da dose de P4 LA. Após 6 dias (D14) nova aplicação de P4 LA. Suplementação de P4 LA semanalmente até 120 dias de gestação. Fonte: Imagem adaptada de KAERCHER et al. (2012).

O custo estimado para execução deste protocolo, no Brasil, é de cerca de R\$ 85,00.

#### *2.4.4.4 Estudo da diferença de suplementação de progesterona de ação curta ou longa em receptoras anovulatórias:*

A grande vantagem encontrada no uso de progesterona de longa ação nos diferentes protocolos é o intervalo entre uma administração e a subsequente. Sendo assim, a égua receberá menores quantidades de injeções, e isso diminui o estresse do animal. Para o tratador, exige menor manejo do animal no período de tratamento, diminuindo a necessidade de mão de obra.

Já a progesterona de curta ação precisa ser aplicada diariamente, ou em dias alternados. No entanto, o uso da progesterona de curta ação, permite que éguas receptoras que não confirmem gestação, estejam disponíveis para um novo protocolo mais rapidamente. Isso porque os níveis da progesterona estarão próximos do basal em um menor número de dias, o que leva o útero a estar, novamente, responsivo ao estrógeno (VANDERWALL et al., 2007; OLIVEIRA NETO et al., 2018; JÚNIOR et al., 2021).

ROCHA FILHO et al. (2004) utilizaram diferentes protocolos em seu estudo, diferindo a dose e o intervalo de aplicação da progesterona exógena seja de curta ou de longa ação. Para isso, foram utilizadas 112 receptoras acíclicas e 152 éguas cíclicas que serviram como controle.

As éguas receptoras acíclicas foram divididas em quatro grupos diferentes, e estes se diferiam quanto a progesterona (curta ou longa ação), a dose e o intervalo. O protocolo consistia na administração IM de 10 mg de cipionato de estradiol em dois dias consecutivos. Então, as éguas do primeiro grupo recebiam 200 mg/dia de P4 de curta ação por via intramuscular, podendo ser de cinco a oito dias antes da transferência do embrião. O segundo grupo recebia 400 mg de P4 de

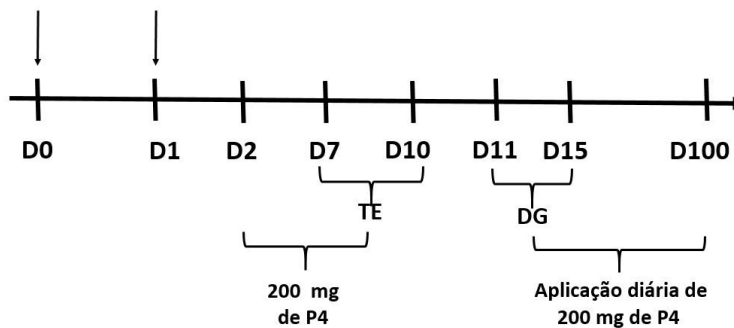
curta ação, por via IM, em dias alternados. Já o terceiro e o quarto grupo recebiam 1.500mg de P4 LA, por via IM a cada sete ou seis dias, a depender se fosse do grupo três ou quatro, respectivamente. Nas éguas em que se confirmou prenhez, foram mantidas as aplicações de progesterona até o centésimo dia de gestação. A ilustração do Protocolo é apresentada na Figura 9.

O diagnóstico de gestação foi realizado nos dias 12 e 50, sendo dia 0 o dia da ovulação da égua doadora. Segundo os dados levantados pelos autores nestes dias do experimento, embriões transferidos em receptoras acíclicas entre cinco a oito dias após o início da suplementação de P4, independentemente do tratamento recebido, apresentaram taxas de prenhez e morte embrionária semelhantes às encontradas em éguas receptoras cíclicas. As taxas de prenhez verificadas nos grupos foram: G1: 75,9% (41/54), G2: 76,9% (10/13), G3: 76,6% (23/30), G4: 73,3% (11/15) e no grupo controle: 75% (114/152) no D12. Já no D50 os números encontrados foram: G1: 61,1% (33/54), G2: 61,5% (8/13), G3: 53,3% (16/30), G4: 60% (9/15) e grupo controle 61,8% (94/152). A taxa de perda embrionária foi G1: 19,5% (8/41), G2: 20% (2/10), G3: 30,4% (7/23), G4: 18,2% (2/11) e no Grupo controle: 17,5% (20/114).

Dessa forma, todos os tratamentos utilizados pelos autores para a realização deste estudo mostraram ser eficientes para o preparo de éguas receptoras acíclicas em programas de transferência de embrião. Sendo assim, conclui-se que éguas em anestro ou em transição podem ser utilizadas com sucesso como receptora, desde que estabelecido um protocolo de suplementação hormonal, e com aplicação de progesterona, de curta ou de longa ação por cinco a oito dias antes da transferência do embrião, o que é uma boa alternativa em períodos que não há grande disponibilidade de receptoras cíclicas.

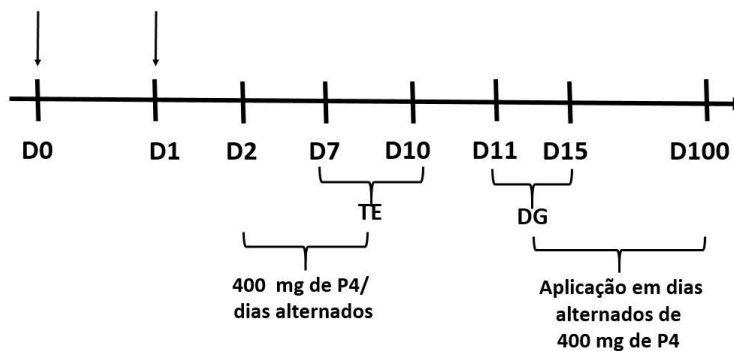
### ÉGUAS G1

10 mg de CE 10 mg de CE



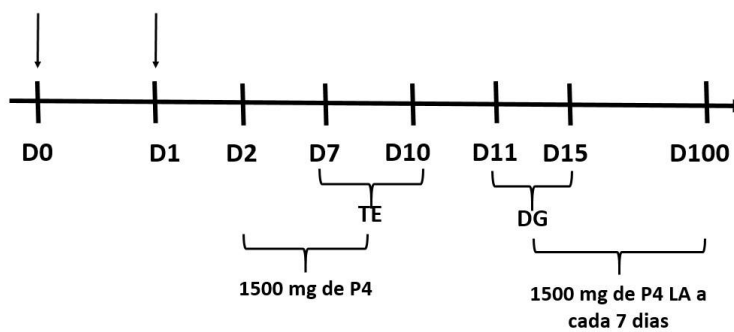
### ÉGUAS G2

10 mg de CE 10 mg de CE



### ÉGUAS G3

10 mg de CE 10 mg de CE



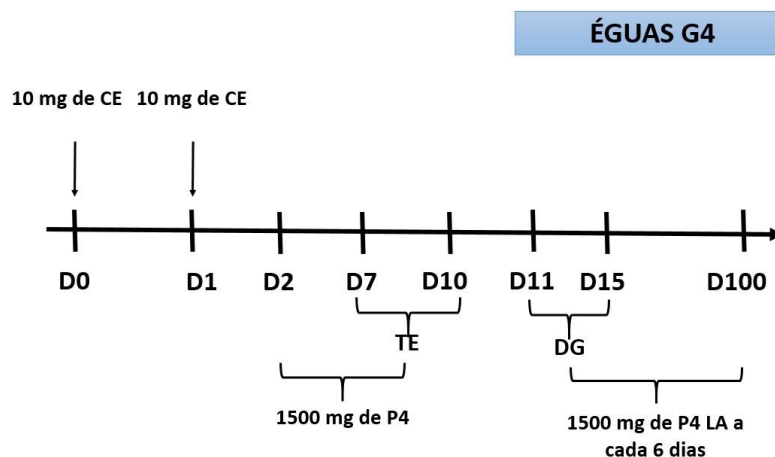


FIGURA 9 - Esquema representativo do protocolo utilizado por ROCHA FILHO et al. (2004). Em dias consecutivos 10 mg de cipionato de estradiol (CE), IM, em todos os grupos. Após um dia: G1 – 200 mg de P4 de curta ação, IM; G2 – 400 mg de P4 de curta ação em dias intervalados, IM; G3 e G4 1500 mg de P4 LA, IM variando em 7 dias (G3) e 6 dias (G4) o intervalo da reaplicação em éguas prenhez. TE de 5 a 8 dias após a primeira aplicação (D7-D10) e o DG aos 12 dias de vida do embrião (D11-D15). Fonte: ROCHA FILHO et al. (2004).

O custo estimado para execução deste protocolo, no Brasil, é de cerca de: G1- R\$ 250; G2 – R\$ 440,00; G3 – R\$ 263,00 e G4 - 318,00.

#### 2.4.4.5 Protocolo para sincronização de éguas receptoras de embriões cíclicas e acíclicas:

Éguas receptoras de embrião (n = 160) foram divididas igualmente em oito grupos, que estavam em diferentes momentos do ciclo estral no estudo de OLIVEIRA NETO et al. (2018). Seguindo a ordem G1: éguas do grupo controle, que ovulavam espontaneamente; G2: anestro; G3: transição de primavera; G4: início de estro (folículos <35mm); G5: estro (folículos ≥ 35mm); G6: diestro (ovulação com mais de cinco dias); G7: diestro precoce (ovulação com menos de cinco dias) que recebiam uma única dose de prostaglandina; e por fim, G8: diestro precoce (ovulação com menos de cinco dias) que recebiam duas doses de prostaglandina em dias consecutivos.

A hormonioterapia iniciava com a aplicação de 10 mg de prostaglandina por via IM, e 17 β estradiol também na dose de 10 mg, IM. Em sequência as éguas

recebiam novas injeções de 17  $\beta$  estradiol nos próximos três dias consecutivos sendo 10 mg, 20 mg e 10 mg cada dose respectivamente. Após 24 horas da última aplicação de 17  $\beta$  estradiol, as receptoras recebiam uma única dose de altrenogest de longa duração injetável, 300 mg IM, e de três a oito dias depois recebiam os embriões. No dia que houvesse a TE, as éguas recebiam um reforço de 300 mg de altrenogest de longa ação (IM). Nas éguas do G8, além de receberem o mesmo tratamento, receberam 10 mg de prostaglandina não só no primeiro, mas também no segundo dia do tratamento. De cinco a sete dias após a TE, o diagnóstico de gestação foi realizado, e em éguas gestantes foi utilizado 1.500 mg de P4 LA, via IM, semanalmente até que 120 dias de gestação fosse alcançado, assim como apresentado na Figura 10.

As taxas de prenhez encontradas foram: G1: 75% (15/20); G2: 90% (18/20); G3: 90% (18/20); G4: 75% (15/20); G5: 70% (15/20); G6: 65% (13/20); G7: 40% (8/20); e G8: 75% (15/20). Este resultado mostra que mesmo estando em momentos diferentes do ciclo estral, as receptoras podem ser sincronizadas com suas doadoras com sucesso. Porém, o grupo 7 demonstrou significativa diferença nas taxas de prenhez, isso é atribuído ao fato de que éguas recém ovuladas, ainda não respondem a uma única dose de prostaglandina. As éguas deste grupo ainda tiveram escores de edema uterino mais baixos durante o tratamento com estrogênio, e conseqüentemente, taxas de prenhez mais baixas.

Quando as éguas não apresentam edema, mesmo com a injeção do estradiol, indica que a luteólise não foi completa, e por isso ainda apresenta altas concentrações de progesterona sérica. Os resultados encontrados entre G7 e G8 reforçam esta ideia, ao passo que repetir a administração de prostaglandina garantiu luteólise e apresentou melhor taxa de prenhez.

Além das outras vantagens já comentadas sobre o protocolo, este trabalho mostra que as receptoras em qualquer fase do ciclo estral poderiam ser sincronizadas com as éguas doadoras. Com isso, diminui a necessidade de mais receptoras nos programas, e conseqüentemente o seu custo. No entanto, este protocolo exige muito manejo e muitas aplicações de hormônios, o que dificulta a sua execução, tendo em vista que alguns animais não respondem bem as injeções, sendo submetidas a um grande estresse.

Logo, com os resultados do estudo, os autores concluíram que o tratamento hormonal usando uma combinação de prostaglandina, estrogênio e progestágenos pode ser útil no uso de éguas tanto em anestro ou em transição, como em qualquer período do ciclo estral.

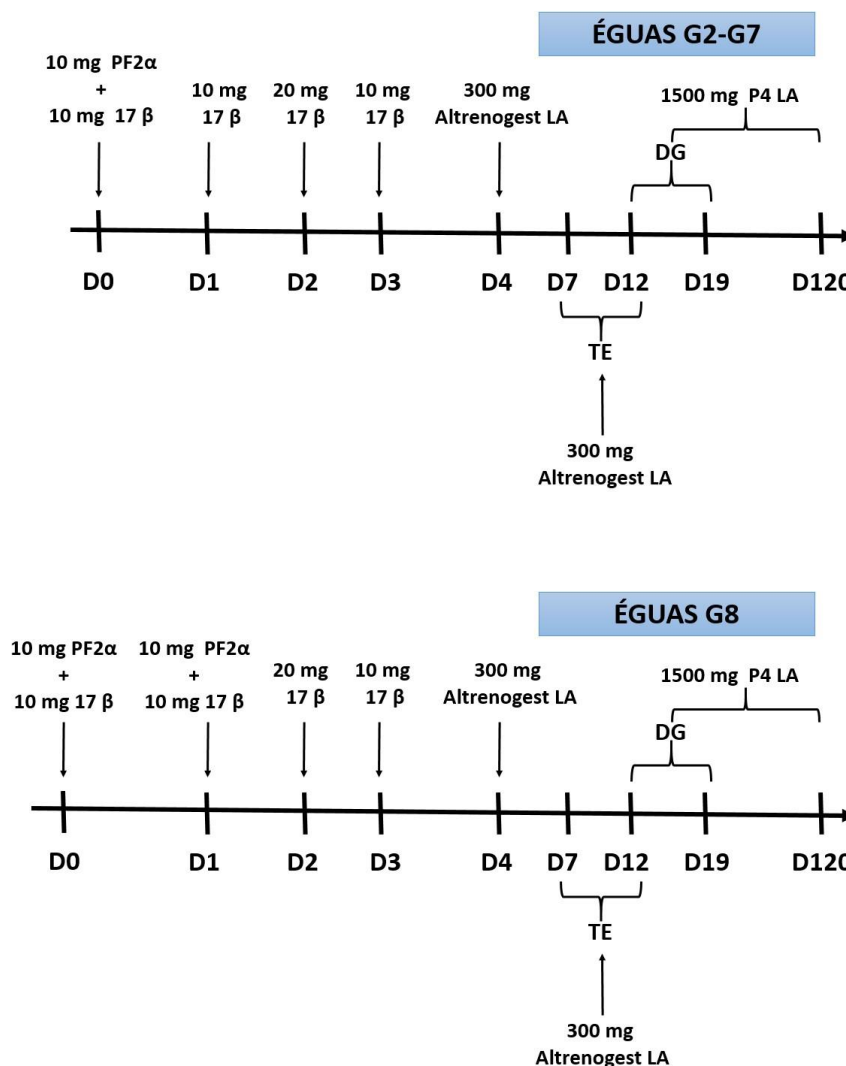


FIGURA 10 - Esquema representativo do tratamento hormonal utilizado por OLIVEIRA NETO et al., 2018. Os grupos - G2: Em anestro; G3: Em transição de primavera; G4: Início de estro (folículos <35mm); G5: Estro (folículos  $\geq$  35mm); G6: Diestro (ovulação com mais de 5 dias); G7: Diestro precoce (ovulação com menos de 5 dias) que recebiam uma única dose de prostaglandina + 17  $\beta$  estradiol, e mais 3 doses consecutivas de 17  $\beta$  estradiol, IM. No 4.º dia uma aplicação de altrenogest LA, e de 3 a 8 dias após a TE (D7-D12). G8: Diestro precoce (ovulação com menos de 5 dias) duas doses de prostaglandina em dias consecutivos. Fonte: Imagem adaptada de OLIVEIRA NETO et al. (2018).



O custo estimado para execução deste protocolo, no Brasil, é de cerca de: G2 a G7- R\$ 395,00; G8 – R\$400,00.

#### **2.4.5 Estudo da formação de corpos lúteos acessórios em éguas receptoras acíclicas e sua capacidade de manutenção da gestação.**

Como observado nesta revisão, os trabalhos adotam a suplementação de progesterinas de 100 até 120 dias de gestação. Os corpos lúteos acessórios são desenvolvidos aproximadamente entre 40 e 45 dias em éguas cíclicas gestantes, e estes são capazes de assumir a produção de progesterona, até que essa função seja feita integralmente pela placenta.

Sendo assim SILVA et al. (2014), estudaram se receptoras acíclicas também formavam corpos lúteos acessórios, e ainda, se o interrompimento da administração de progesterona a partir do seu surgimento, não prejudicaria na manutenção da gestação. Caso fosse comprovado tal fato, os protocolos poderiam ter menor duração, barateando o seu custo, e diminuindo a necessidade de manejar a éguas induzindo-as ao estresse.

Para testar tal hipótese, as éguas foram monitoradas e divididas em três grupos, o grupo controle composto por éguas ciclantes gestantes e as éguas em anestro ou transição foram divididas em dois grupos que receberam progesterona exógena (33 mg de altrenogest, via oral, diariamente) até 70 dias de gestação e outro igualmente, porém até 120 dias de gestação.

O estudo mostra que éguas em anestro levam cerca de 71 dias para a formação do primeiro corpo lúteo acessório, enquanto éguas em transição 54 dias e cíclicas 40 dias. Todas as éguas ciclantes apresentaram pelo menos um corpo lúteo com 70 dias de gestação, em contrapartida 15% das éguas no período de transição e 60% em anestro não apresentaram nenhum corpo lúteo acessório.

Nas éguas que tiveram o tratamento interrompido aos 70 dias, foram relatados dois abortos (28,6%) aos 75 dias de gestação. Uma destas receptoras não apresentou nenhum corpo lúteo, enquanto que a outra apresentou apenas um corpo lúteo acessório e ambas com concentrações de progesterona  $\leq 2$  ng/mL até o momento da interrupção do altrenogest. Todas as éguas que tiveram o tratamento

encerrado quando alcançado 120 dias, mantiveram a gestação a termo, não sendo observado nenhum aborto.

Outro resultado importante do estudo foi com relação a quantidade de corpos lúteos acessórios encontrados nas éguas, quando comparado ao período estral em que se encontravam as receptoras. Éguas em anestro apresentaram um número significativamente menor que as éguas em transição ou ciclantes em ambos os períodos analisados, de 70 e 120 dias de gestação, além de ter o início da síntese de progesterona de forma mais tardia e em menores concentrações. Portanto, encerrar o protocolo hormonal de éguas em anestro aos 70 dias é de maior risco, e deve ser feito de maneira cautelosa.

Em conclusão, os autores apresentaram a possibilidade de interromper o tratamento hormonal com progesterona aos 70 dias de gestação em éguas acíclicas, desde que haja a presença de corpos lúteos acessórios por mais de 5 dias, mantendo a gestação com sucesso. O trabalho também confirmou o que é observado nos trabalhos relatados, que a retirada da suplementação de progesterona aos 120 dias de gestação garante manutenção de gestação em todas as éguas receptoras, ainda que não apresentem corpo lúteo acessório em seus ovários.

As éguas receptoras em anestro apresentaram o surgimento de corpos lúteos acessórios e aumento nas concentrações de progesterona mais tardiamente na gestação, quando comparadas às em transição, fator este que deve ser levado em consideração na tomada de decisão do encerramento do protocolo hormonal em éguas receptoras acíclicas, que porventura pode ser realizado mais cedo em éguas em transição.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A hormonioterapia é uma solução para a assincronia entre as éguas, otimizando o uso das receptoras. No entanto, o seu uso acarreta no aumento dos custos nos programas de transferência de embrião, além de necessitar de comprometimento extremo dos funcionários com as aplicações hormonais, para que se alcancem os resultados desejados.

O protocolo mais adequado é aquele que é executável, no qual há a disponibilidade de fornecimento e armazenamento dos hormônios de forma correta, além de um funcionário, ou médico veterinário responsável pela aplicação rigorosa dos hormônios. Este deve mimetizar o ciclo estral natural, sendo necessário o uso de ambos os hormônios gonadais (estrógeno e progesterona), bem como o adequado intervalo de exposição destes ao ambiente uterino, para obter melhores taxas de gestação na aplicação da técnica.

#### 4. REFERÊNCIAS

ALLEN, W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. **Reproduction**, v.121, p.513-527, 2001.

ALONSO, M. A.; FLEURY, P.; ALVARENGA, M.A. Use of day 3 postovulation embryo transfer recipient mares. **Reproduction in domestic animals**, 2008. p. 98-98.

ALVARENGA, M.A; TONGU, ERIKY, AKIO OLIVEIRA. Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferência de embrião de equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, p.19-24, 2017.

AURICH, C. Reproductive cycles of horses. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.220- 228, 2011.

BARNES, F. L. The effects of the early uterine environment on the subsequent development of embryo and fetus. **Theriogenology**, v.53, p.649-658, 2000.

BOTELHO, J. H. V.; PESSOA, G. O.; ROCHA, L. G. P.; YESTE. M. Hormone supplementation protocol using estradiol benzoate and long-acting progesterone is efficient in maintaining pregnancy of anovulatory mares during autumn transitional phase. **Animal Reproduction**, v.153, p.39-43, 2015.

BRINGEL, B. A.; JACOB, J. C. F.; ZIMMERMAN, M. Biorelease progesterone LA 150 and its application to overcome effects of premature luteolysis on progesterone levels in mares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, p.498-500, 2003.

CAIADO, J.R.; FONSECA, F.A.; SILVA, J.F.S.; FONTES, R.S. Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.360-368, 2007.

CARNEVALE, E.M.; RAMIREZ, R.J.; SQUIRES, E.L.; ALVARENGA, M.A.; VANDERWALL, D.K.; McCUE P.M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p.965-979, 2000.

CROWELL-DAVIS, S.L. Comportamento sexual de éguas. **Hormônios e comportamento**, v.52, p.12-17, 2007.

CUERVO-ARANGO, J.; CLAES, A.N.; RUIJTER-VILLANI, M.; STOUT, T.A. Likelihood of pregnancy after embryo transfer is reduced in recipient mares with a short preceding oestrus. **Equine Veterinary Journal**, v.50, p.386-390, 2017.

DE ARAÚJO, J.M; DE OLIVEIRA, R.A. A influência da nutrição e a atuação da leptina e kisspeptina no ciclo reprodutivo da égua. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.42, p.9-14, 2018.

DE LAVOR, J.; ALONSO, M.A.; PIVATO, I.; OLIVEIRA, R. A. Avaliação de receptoras para transferência de embrião em equinos. **Brazilian Journal of Equine Medicine**, v.54, p.18-26, 2014.

DUCHAMP, G.; BOUR, B.; COMBARNOUS, Y.; PALMER, E. Alternative solutions to hCG induction of the ovulation in the mare. **Jornal of Reproduction and Fertility**. v.35(suppl.), p.221-228, 1987.

EIGENHEER-MOREIRA, J. F.; FERNANDES, F. T.; QUEROZ, F. J. R; PINHO, T. G.; FERREIRA, A. M. R. Estudo comparativo de éguas repetidoras ou não de cio através da avaliação plasmática de progesterone. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, p.506-512, 2007.

FITZGERALD, B.P.; MCMANUS, C.J. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. **Biology of reproduction**, v.63, p335-340, 2000.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction**, v.1, p.31-44, 2004.

GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; BEG, M. A. Regulation of circulating gonadotropins by the negative effects of ovarian hormones in mares. **Biology of reproduction**, v.73, n.2, p.315-323, 2005.

GRECO, G. M.; BURLAMAQUI, F. L. G.; PINNA, A. E.; QUEIROZ, F. J. R. CUNHA, M. P. S.; BRANDÃO, F. Z. Use of long-acting progesterone to acyclic embryo recipient mares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.607-611, 2012.

HARTT, L.S.; CARLING, S.J.; JOHNSON, G.A.; VANDERWALL, D.K.; OTT, T.L. Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. **Reproduction**, v.130, p.241-250, 2005.

HAYES, K.E.N.; GINTHER, O.J. Role of progesterone and estrogen in development of uterine tone in mares. **Theriogenology**, v.25, p.581- 590, 1986.

HINRICHS, K.; SERTICH, P. L.; CUMMINGS, M. R.; KENNEY, R. M. Pregnancy in ovariectomized mares achieved by embryo transfer: a preliminary study. **Equine Veterinary Journal**, v.17, suppl.3, p.74-75, 1985.

HINRICHS, K.; SERTICH, P. L.; KENNEY, R. M. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.26, p. 455-460, 1986.

HINRICHS, K.; KEENEY, R. Effect of timing of progesterone administration on pregnancy rate and embryo transfer in ovariectomized mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.35(suppl.), p.439-443, 1987.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em abril 2021.

JONES, D. M.; FIELDEN, E. D.; CARR, D. H. Some physiological and pharmacological factors affecting uterine motility as measured by electromyography in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44(suppl.), p.357-368, 1991.

JÚNIOR, W. L. R.; DE CAMARGO NETO, W. D.; DE PAULA NOGUEIRA, G.; FERRARI, T. A.; MEMBRIVE, C. M. B.; GIOMETTI, I. C.; & CASTILHO, C. Serum Progesterone and Conception Rates in Acyclic Embryo Recipient Mares Using a Bovine Progesterone-Releasing Intravaginal Device. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.97, p.103325, 2021.

KAERCHER, F.; KOZICKI, L. E.; CARMAGO, C. E.; WEISS, R. R.; SANTOS, I. W.; MURADAS, P. R. Embryo transfer in anovulatory recipient mares treated with estradiol benzoate and long-acting progesterone. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.33, n.3, p.205-209, 2012.

LIMA, RA DE S.; CINTRA, A. G. Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. **Ministério da Agricultura, Brasília, DF**, 2016.

MACIEL, L.F.S.; SILVA, E.S.M., OLIVEIRA-FILHO, J.P., FRITSCH, S.C., ROSSI, R.S., LOURENÇÃO, J.A.C.; MEIRA, C. Endometrial expression of estrogen and progesterone receptors in non-cyclic mares treated only with long-acting progesterone. **Theriogenology**, v.108, p.185-191, 2018.

MALPAUX, B.; THIÉRY, J.C.; CHEMINEAU, P. Melatonin and the seasonal control of reproduction. **Reproduction Nutrition Development**. v.39, p.355–366, 1999.

McDOWELL, K.J; ADAMS, M.H.; ADAM, C.Y.; SIMPSON, K.S. Changes in equine endometrial oestrogen receptor  $\alpha$  and progesterone receptor mRNAs during the oestrous cycle, early pregnancy and after treatment with exogenous steroids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.117, p.135-142, 1999.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; CARNEVALE, E.M.; HERMENET, M.J. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, v.29, p.1055-1063, 1988.

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

OLIVEIRA NETO, I.V.; CANISSO, I. F.; SEGABINAZZI, L. G.; DELL'AQUA, C. P.; ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O.; & DELL'AQUA JR, J.A. Synchronization of cyclic and acyclic embryo recipient mares with donor mares. **Animal reproduction science**, v.190, p.1-9, 2018.

POLASEK, T.C.M.; KOZICKI, L. E.Ç PEDROSA, V. B.; WEISS, R. R.; BERTOL, M. A. F.; CAMARGO, C. E.; & TALINI, R. Impact of a progesterone-releasing intravaginal device and inflammatory reaction on ovarian activity in embryo-recipient anestrus mares. **Theriogenology**, v 90, p.175-184, 2017.

ROCHA FILHO, A. N.; PESSÔA, M.A.; GIOSO, M.M.; ALVARENGA; M.A. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Animal Reproduction**, v.1, p.91-95, 2004.

SCHUTZER, C.G.C.; DE RESENDE, H.L.; PANTOJA, J.C.F.; ALVARENGA, M.A. UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PERÍODOS DE FOTOESTIMULAÇÃO EM ÉGUAS ACÍCLICAS PARA O CONTROLE DA SAZONALIDADE REPRODUTIVA. **Veterinária e Zootecnia**, p.148-153, 2014.

SHARP, D.C. The early fetal life of the equine conceptus. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.679-689, 2000.

SILVA, E.S.M.; IGNÁCIO, F.S.; FRITSCH, S.C.; ZANONI, D.S.; PANTOJA, J.C.F.; OLIVEIRA-FILHO, J.P.; MEIRA, C. Administration of 2.5 mg of estradiol followed by 1,500 mg of progesterone to anovulatory mares promote similar uterine morphology, hormone concentrations and molecular dynamics to those observed in cyclic mares. **Theriogenology**, v.97, p.159-169, 2017.

SILVA, E. S. M; ROSER, J. F.; GOMES, A. R. C.; FRITSCH, S. C.; PANTOJA, J. C. F.; OLIVEIRA-FILHO, J. P.; MEIRA, C. Comparison of different regimens of estradiol benzoate treatments followed by long-acting progesterone to prepare noncycling mares as embryo recipients. **Theriogenology**, v.86, p.1749-1756, 2016.

SILVA, E.S.M.; FRADE, S.C.F.; IGNÁCIO, F.S.; PANTOJA, J.C.F.; PUOLI-FILHO, J.N.P.; MEIRA, C. Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of pregnancy in non-cyclic recipient mares. **Animal Reproduction Science**, v.144, p.122-128, 2014.

SILVA, E.J.; PAULA JUNIOR, A.R.P; SILVA, A.C.P; KUNG, E.S; FILHO, C.M.; BARTOLOMEU, C.C. Associação de benzoato de estradiol e progesterona na preparação de éguas acíclicas como receptoras. **Ciência Veterinária nos Trópicos.**, p.21-21, 2014.

SPENCER, T.E.; BAZER, F.W. Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe. **Biology of Reproduction**, v.53, p.1527-1543, 1995.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; BAZER, F. W. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. **Biology of Reproduction**, v.71, p.2-10, 2004.

SQUIRES, E.L. & SEIDEL, G.E. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction and biotechnology laboratory**, Colorado State University, Bulletin n.8, 1995.

VANDERWALL, D.K.; MARQUARDT, J.L. ; WOODS, G.L. Use of a compounded long-acting progesterone formulation for equine pregnancy maintenance. **Journal of Equine Veterinary Science** , v. 27, n. 2, p. 62-66, 2007.

WILLIAMS, G.L., THORSON, J.F.; PREZOTTO, L.D.; VELEZ, I.C.; CARDOSO, R.C.; AMSTALDEN, M. Reproductive seasonality in the mare: neuroendocrine basis and pharmacologic control. **Domestic animal endocrinology**, v.43, p.103-115, 2012.



## 5. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

O estágio supervisionado foi realizado em duas partes, ambos na área de reprodução animal. A primeira parte o estágio foi realizado acompanhando atendimentos à campo realizado por médicos veterinários da empresa Gonçalves de Oliveira Serviços Veterinários LTDA, no período de 01/02/2021 à 31/03/2021. A segunda parte o estágio foi realizado no Laboratório de Reprodução Animal FAV/FAL da Universidade de Brasília de 01/04/2021 à 14/05/2021.

O estágio teve início com o acompanhamento da rotina do médico veterinário Francisco José Gonçalves Oliveira. Os atendimentos aconteciam em propriedades, haras e hípcas localizadas em Brasília/DF e entorno. Atualmente os veterinários da empresa oferecem serviços especializados em reprodução de equinos e cães. Dentre os serviços prestados pela empresa estão: envio e recebimento de sêmen, inseminação artificial, congelamento de sêmen, transferência de embriões, atendimento ginecológico, manejo profilático como a realização de exames, vacinação e vermifugação, diagnóstico de gestação e acompanhamento gestacional.

A função desenvolvida no estágio tinha por objetivo auxiliar o médico veterinário nos seus atendimentos. Sendo assim, organizar os materiais que seriam utilizados a depender do serviço que seria prestado, montagem de equipamentos como US, realizar medicações, coleta de sangue, limpeza das éguas para os procedimentos de transferência de embrião ou inseminação artificial, anotação do exame ginecológico, limpeza e esterilização dos materiais utilizados. Os serviços prestados acompanhados estão listados no quadro 1.

QUADRO 1 – Atividades desenvolvidas no estágio supervisionado na Gonçalves de Oliveira Serviços Veterinários LTDA., no período entre 01/02/2021 e 31/04/2021.

<b>ATIVIDADES DESENVOLVIDAS</b>	
<b>ATIVIDADE</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Cesariana	1
Parto distócico	1
Atendimento ginecológico	2

Congelamento de sêmen	2
Requisição de Hemograma	2
Protocolo em éguas acíclicas	3
Colheita de sêmen	4
Vacinação	13
Inovulação de embrião	20
Colheita de embrião	30
Inseminação artificial	30
Lavagem uterina	35
Medicação	50
Diagnóstico de gestação	60
Requisição de AIE e Mormo	198
Controle folicular	200
<b>TOTAL</b>	<b>651</b>

O segundo momento do estágio foi realizado na Fazenda Água Limpa (FAL) que pertence a Universidade de Brasília, localizada à 28 Km da sede do Campus Universitário da Asa Norte e possui uma área de 4.500 hectares.

O estágio desenvolvido tinha por objetivo auxiliar o professor Rodrigo Arruda no manejo dos animais e condução da estação de monta 2020/2021 na fazenda. A tropa da FAL é composta por oito éguas que são doadoras de embrião e um garanhão, realizando-se manejo dos animais e estrutura onde se encontram. Assim, atividades relacionadas com a manutenção e manejo dos animais como: limpeza da cocheira e bebedouro do garanhão, retirada de forrageiras indesejadas do piquete dos animais, recolhimento das éguas nos piquetes e captura destas para a realização dos exames ginecológicos estão entre as atividades do estágio. Além disso, atuações relacionadas com a rotina em reprodução como: limpeza do reto e palpação retal, anotações nas fichas ginecológicas, colheita de sêmen, inseminação artificial, auxílio na colheita do embrião e no exame andrológico, administrações medicamentosas e organização do material a depender da atividade a ser executada também foram realizadas, como listado no Quadro 2.

QUADRO 2– Atividades desenvolvidas no estágio supervisionado na FAL-UnB no período entre 01/04/2021 e 14/05/2021.

---

**ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**

---

<b>ATIVIDADE</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Atendimento clínico	1
Lavagem uterina	1
Radiografia	1
Vermifugação	9
Classificação do embrião	12
Colheita de embrião	17
Medicação	17
Colheita de sêmen	18
Exame andrológico	18
Inseminação artificial	39
Controle folicular	50
<b>TOTAL</b>	<b>183</b>

---

O estágio supervisionado é de grande importância, pois através das atividades desenvolvidas é possível colocar em prática o conhecimento teórico adquirido durante a graduação. Além disso, a realização do estágio permite que o aluno se depare com algumas das dificuldades enfrentadas pelos médicos veterinários que atendem à campo, e quais são as alternativas que estes utilizam como forma de solucioná-las.