

MANUELA PEREIRA DA MATTA

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE GESTAÇÃO DE  
ÉGUAS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA

MINAS GERAIS – BRASIL

2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

M435a  
2013

Matta, Manuela Pereira da, 1984-  
Avaliação dos parâmetros de gestação de éguas da raça  
Mangalarga Machador / Manuela Pereira da Matta. – Viçosa,  
MG, 2013.  
xix, 94f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Giovanni Ribeiro de Carvalho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.74-86.

1. Égua - Reprodução. 2. Égua - Gestação. 3. Manga-larga  
(Cavalo). I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

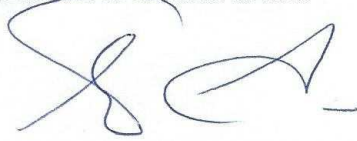
CDD 22. ed. 636.1082

MANUELA PEREIRA DA MATTA

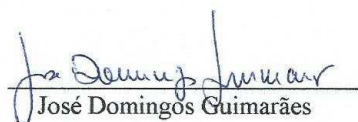
**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE GESTAÇÃO DE  
ÉGUAS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para  
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de Junho de 2013



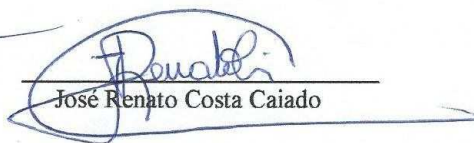
Eduardo Paulino da Costa



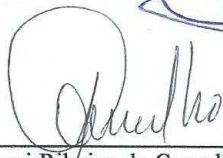
José Domingos Guimarães



Ciro Alexandre Alves Torres  
(co-orientador)



José Renato Costa Caiado



Giovanni Ribeiro de Carvalho  
(orientador)

*“Crê em ti mesmo, age e verá os resultados.  
Quando te esforças, a vida também se  
esforça para te ajudar.”*  
(Chico Xavier)

*Dedico esta obra a Deus e a toda minha família, em  
especial ao meu pai **José Helvécio** e aos meus  
irmãos **Fernando e Luiz**, a minha avó, tios, tias,  
primos e primas.*

*Ao meu namorado **Cristiano** e a todos os meus  
amigos.*

*Aos **equinos...** criaturas únicas e  
encantadoras!*

**MUITO OBRIGADA!**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, o Criador maior, que me deu a vida, uma família maravilhosa e a força necessária para enfrentar os desafios que surgiram no meu caminho.

Ao meu Pai, José Helvécio, o maior exemplo de amor e carinho que uma filha pode ter. Obrigada por me ensinar o verdadeiro sentido da vida e pelo apoio incondicional que sempre me deu e continua dando. Sem você esse trabalho jamais teria se concluído, afinal você é o grande responsável por me “contaminar” com os cavalos... rs. Só posso dizer que EU TE AMO!!!

À minha mãezinha Elizete, que mesmo não estando mais aqui, tenho certeza que nunca me desamparou, seu carinho e seu amor sempre estiveram comigo nos momentos mais difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela oportunidade de desenvolver um trabalho como este, que contribuiu muito para aprimorar meus conhecimentos na área de reprodução animal.

Ao Departamento de Zootecnia (DZO) pelo apoio dado e aos docentes do programa de pós-graduação pelos conhecimentos transmitidos no decorrer das disciplinas cursadas.

Ao CNPQ pela concessão de uma bolsa de mestrado em período integral, condição indispensável para a realização dessa pós-graduação.

Ao Dr. José Ferraz de Oliveira Neto, o grande incentivador e facilitador deste trabalho! Muito obrigada Amigo!

À Associação Brasileira dos criadores do Cavalo Mangalarga Marchador (ABCCMM), em especial ao Presidente Magdi Shaat, pelo apoio técnico, social e financeiro para a realização desse trabalho.

Ao empresário e criador Lael Vieira Varella Filho, por abrir as portas do Haras Laglória e de ceder os animais para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Dr. Gilberto Guimarães Lourenço, pela ajuda imensurável e principalmente pela paciência durante todo o experimento. Só tenho a agradecer por toda a colaboração técnica e prática que deu na realização desse trabalho! Muito obrigada!

Aos meus irmãos, Fernando e Luiz, agradeço pelo carinho e apoio, mesmo que muitas das vezes à distância. Às minhas cunhadas, Alissandra e Sara, obrigada pela força e pela companhia sempre agradável.

À minha segunda mãezinha, Tia Maria Rita, pela minha criação, pelo amor e pelo carinho a mim direcionado. Obrigada pelas deliciosas “comidinhas e quitutes”, além dos inúmeros “cafézinhos” durante os momentos de estudos!

Aos demais familiares, também tenho muito a agradecer, pois vocês sempre me deram forças para realizar meus sonhos e me apoiaram nas minhas decisões!

Ao meu namorado Cristiano, meu agradecimento especial por acreditar em mim, e principalmente pela paciência quando o “estresse” era meu companheiro... hehe. Obrigada pela compreensão nos momentos em que precisei estar ausente e pelo apoio que me deu e continua dando! Você é muito especial pra mim!!! Amo você!

Ao Professor Giovanni Ribeiro de Carvalho, obrigada pela orientação e pelos ensinamentos passados através de sua experiência profissional. Agradeço ainda pelas críticas e sugestões que só contribuíram para a melhoria deste trabalho.

A toda a equipe do Haras Laglória, em especial ao Carlinhos e ao Negão, pelo companheirismo e pela ajuda durante todos os meses em que estive lá.

Aos funcionários da Fazenda Salgado, Artur e Erly, pela recepção acolhedora durante o experimento. Sou grata a vocês!

Aos estagiários, Vinícius, Maria Isabel, João Paulo, Lorena, Carlos e Maria Eduarda, obrigada pela participação nas dosagens hormonais ou nas coletas de dados a campo. Vocês foram essenciais!

Aos professores Eduardo Paulino, José Domingos (JD) e Ciro Torres, pelos ensinamentos e pela oportunidade de adquirir experiência prática na área de reprodução animal, sejam no laboratório ou no campo.

À Maria Gazzinelli, pessoa mais que especial e que foi fundamental na execução desse trabalho. Seja nas atividades pertinentes ou no convênio com a ABCCMM, sua presença foi marcante! Obrigada ainda por todo o carinho, mas principalmente pela amizade!!!

Às secretárias, Celeste e Fernanda, do Programa da pós-graduação da Zootecnia, por sempre me ajudar nos problemas e pendências que surgiram.

A todos os funcionários da ABCCMM que deram a sua contribuição, em especial ao Tiago Resende e ao Elder Grossi.

Ao Departamento de Veterinária (DVT) e a todos os funcionários que colaboraram na minha caminhada até aqui, em especial ao José de Oliveira e a Rose.

Ao Carlos (SCANLAB) pela ajuda nas análises hormonais, pela manutenção do aparelho e pelo tempo dedicado ao meu trabalho!

Ao Setor de Equideocultura da UFV, pela experiência vivida e principalmente pela amizade cultivada. Fernando Freitas, Sebastião (Maninho) e José Paulo, vocês estarão sempre guardados na memória! Obrigada equídeo!

Aos amigos Marafeiros, Pedro Gama Ker, Guilherme Pugliesi, Renan Reis de Oliveira e Daniel Macedo Rates, que tanto me ajudaram e me “pentelharam” nesses anos, os meus sinceros agradecimentos!!! Aprendi muito com vocês!

Aos amigos Ludmila Fernandes, Ana Estela Pessin, Caren Paludo, Daniel Abreu, Lina Carazo, Madriano Christilis, que muito me ajudaram a trilhar esse caminho.

Aos amigos da área de reprodução animal do DVT: Flávio Lopes, Giancarlo Magalhães, Rogério Pinho, Gustavo Macedo, Erick Castilho, Leonardo Franco, Bruna Waddington, Lincoln Amorim e a todos os outros que contribuíram para minha formação profissional.

À minha querida amiga Marli Cupertino, vaquinha do meu coração, que é quase uma irmã, pelo grande apoio nos momentos mais difíceis, pelas conversas e risadas ao longo desses anos, pela confiança em mim depositada, pelo imenso carinho e pela hospedagem sempre acolhedora. Agradeço a Deus pela nossa amizade!!!

À amiga Camila Silveira, a querida florzinha, pela amizade constante, pelo carinho e pela hospedagem no CAMILA PALACE HOTEL... rs. Obrigada por todo o companheirismo e socorro (hehe) durante todo o Mestrado, mas principalmente nesta fase final. Você foi essencial na minha vida menina!

Ao Jurandy Penitente, pelo grande apoio nas análises estatísticas. Obrigada pela paciência e pela valiosa ajuda!

Ao Rafael Goretti, por ter emprestado a ocular para mensuração dos embriões.

À Reni Valente, por todo o carinho e apoio que tem dado a mim e a minha família:  
OBRIGADA!

A toda a família do meu namorado: Clóvis, Marisa, Eugênio, Maria Fernanda e Marina, que me acolheram com todo carinho durante os dias em que estive escrevendo essa dissertação.

A todos os estágios que realizei e que foram fundamentais para minha formação, em especial: Equideocultura (UFV), Haras Laglória, Centro Avançado de Reprodução Equina (Vassouras/RJ), Sociedade Hípica Brasileira (RJ) e UNESP (Botucatu/SP).

A todos os integrantes da Banca avaliadora, obrigada por terem aceitado meu convite para participar desse momento!

Aos EQUINOS, de todas as raças e tamanhos, pois sem eles não haveria despertado em mim a paixão pela veterinária e pela imensa contribuição que vocês deram a esse trabalho!

A todos que de alguma forma contribuíram, mesmo que indiretamente, para o fim dessa jornada, meus sinceros agradecimentos!!!

## **BIOGRAFIA**

Manuela Pereira da Matta, filha de José Helvécio Andrade da Matta e Elizete Maria Pereira da Matta, nasceu em Muriaé – MG, em 04 de Julho de 1984, onde residiu até seus 19 anos.

Em 2004, ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ, onde permaneceu até o ano de 2006. Em 2007, se transferiu para o mesmo curso da Universidade Federal de Viçosa - MG, graduando-se em janeiro de 2010.

Em dezembro de 2010, ingressou no programa de pós-graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, na área de Reprodução Animal, tendo apresentado sua dissertação de Mestrado em Junho de 2013.

# ÍNDICE

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xiii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	xv
<b>RESUMO</b> .....	xvi
<b>ABSTRACT</b> .....	xviii
<b>1 - INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 - REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
<b>2.1 - Transferências de embriões em equinos</b> .....	2
2.1.1 - Geral.....	2
2.1.2 - Seleção e manejo das doadoras e receptoras.....	2
2.1.3 - Sincronização do estro e indução da ovulação.....	3
2.1.4 - Coleta e transferência de embriões.....	4
<b>2.2 - Recuperações embrionárias</b> .....	6
<b>2.3 - Taxas de prenhez</b> .....	7
2.3.1 - Idade do embrião.....	7
2.3.2 - Sítio de deposição do embrião.....	8
2.3.3 - Método de transferência de embrião.....	8
2.3.4 - Égua receptora.....	9
2.3.5 - Qualidade do embrião.....	9
2.3.6 - Refrigeração e transporte de embriões equinos.....	10
2.3.7 - Intervalo do parto ao primeiro cio, intervalo de partos e utilização do cio do potro.....	10
<b>2.4 - Gestação</b> .....	11
2.4.1 - Reconhecimento materno da gestação.....	11
2.4.2 - Diagnóstico de gestação.....	14
2.4.3 - Endocrinologia da gestação .....	18

2.4.3.1 - Progesterona e derivados.....	18
2.4.3.2 - Estradiol.....	20
2.4.3.3 - Relaxina.....	22
2.4.3.4 - Prostaglandinas.....	22
2.4.3.5 - Glicocorticóides .....	23
2.4.3.6 - Hormônios envolvidos na lactação e desenvolvimento fetal.....	23
2.4.3.7 - Gonadotrofina Coriônica equina (eCG).....	23
2.4.4 - Duração da gestação .....	24
2.4.5 - Perdas gestacionais.....	24
2.4.5.1 - Mortalidade embrionária precoce .....	25
2.4.5.1.1 - Fatores intrínsecos.....	25
2.4.5.1.2 - Fatores extrínsecos.....	27
2.4.5.1.3 - Fatores embrionários.....	28
2.4.5.1.4 - Diagnóstico e acompanhamento ultrassonográfico da MEP.....	28
2.4.5.2 - Abortos e natimortos.....	29
2.4.6 - Placenta.....	31
2.4.6.1 - Placentação.....	31
2.4.6.2 - Junção útero-placentária (JUP).....	32
2.4.7 - Avaliação embrionária e fetal.....	33
2.4.7.1 - Vesícula embrionária .....	33
2.4.7.2 - Embrião .....	34
2.4.7.3 - Feto.....	34
2.4.7.3.1 - Comprimento crânio-caudal e diâmetro torácico.....	34
2.4.7.3.2 - Órbita ocular.....	35
<b>2.5 - Técnicas de dosagens hormonais.....</b>	<b>36</b>
<b>3 - MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
<b>3.1 - Seleção dos animais e local do experimento .....</b>	<b>36</b>
<b>3.2 - Critérios para utilização das receptoras.....</b>	<b>37</b>

<b>3.3- Uso de receptoras com progesterona (P4) exógena.....</b>	<b>38</b>
<b>3.4 - Coletas de dados.....</b>	<b>39</b>
<b>3.5 - Avaliações embrionárias e fetais.....</b>	<b>39</b>
3.5.1 - Classificação dos embriões.....	39
3.5.2 - Mensuração da vesícula embrionária.....	40
3.5.3 - Comprimento crânio-caudal e diâmetro torácico dos conceptos.....	40
3.5.4 - Diâmetro da órbita ocular fetal.....	42
<b>3.6 - Avaliações da égua gestante.....</b>	<b>42</b>
3.6.1 - Alterações ovarianas.....	42
3.6.2 - Alterações uterinas.....	43
3.6.3 - Alterações placentárias.....	43
3.6.3.1 - Junção útero-placentária.....	43
<b>3.7 - Dosagens hormonais.....</b>	<b>44</b>
3.7.1 - Progesterona.....	44
3.7.2 - Estradiol.....	44
<b>3.8- Suplementações de progesterona em receptoras acíclicas.....</b>	<b>44</b>
<b>3.9 - Outras avaliações .....</b>	<b>45</b>
3.9.1 - Duração da gestação.....	45
3.9.2 - Cornos gestantes.....	45
<b>3.10 - Análises estatísticas.....</b>	<b>45</b>
<b>4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 - Embriões.....</b>	<b>46</b>
4.1.1 - Classificação e mensuração dos embriões após a coleta.....	46
4.1.2 - Desenvolvimento da vesícula embrionária .....	46
4.1.3 - Comprimento crânio-caudal e diâmetro torácico dos fetos.....	49
4.1.4 - Diâmetro da órbita ocular fetal.....	53
<b>4.2 – Avaliações ovarianas.....</b>	<b>55</b>
4.2.1 - Número de folículos e corpos lúteos.....	55
4.2.2 - Número e área de corpos lúteos durante a gestação.....	57
4.2.3 - Área de corpo lúteo (ACL) do dia da inovulação ao D30.....	58

<b>4.3 - Progesterona (P4)</b> .....	59
4.3.1 - Progesterona em relação ao dia da ovulação.....	59
4.3.2 - Progesterona em relação ao longo da gestação.....	61
4.3.3 - Progesterona e área de corpo lúteo (ACL).....	63
4.3.4 – Éguas cíclicas e suplementadas com progesterona (P4) exógena.....	64
<b>4.4 - Estradiol (E2)</b> .....	65
<b>4.5 - Junção útero-placentária</b> .....	67
<b>4.6 - Perdas gestacionais</b> .....	68
<b>4.7 - Outras avaliações</b> .....	70
4.7.1 - Duração da gestação.....	70
4.7.2 - Cornos uterinos gestantes.....	71
<b>4.8 - Considerações finais</b> .....	73
<b>4.9 - Referências Bibliográficas</b> .....	74
<b>4.10 - Anexos</b> .....	87

## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Fig. 1 - Blastocisto equino recuperado do útero 7 dias após a ovulação.....	4
Fig. 2 - Migração do embrião equino pelo útero.....	12
Fig. 3 - Imagem vesícula embrionária no ultrassom.....	16
Fig. 4 - Embrião com 10 dias.....	17
Fig. 5- Embrião com 14 dias.....	17
Fig. 6 - Embrião com 21 dias.....	17
Fig. 7 - Embrião com 30 dias.....	17
Fig. 8 - Feto entre 41 e 60 dias.....	18
Fig.9 - Eventos endócrinos na égua gestante.....	19
Fig. 10 - Mortalidade embrionária aos 58 dias de gestação.....	29
Fig. 11 - Embrião na região ventral da vesícula com 21 dias.....	34
Fig. 12 - Local da mensuração crânio-caudal dos conceptos.....	41
Fig. 13 - Local da mensuração do diâmetro torácico no feto.....	41
Fig. 14 - Região de mensuração da órbita ocular fetal.....	42
Fig. 15 - Local de mensuração da junção útero-placentária.....	43
Fig. 16 - Diâmetro da vesícula embrionária em função da idade.....	48
Fig.17 Comprimento crânio-caudal em função da idade.....	51
Fig.18 Diâmetro torácico fetal em função da idade.....	53

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tab. 1 - Critério de classificação do grau de qualidade de embriões equinos.....	5
Tab. 2 - Limites superiores normais para a espessura da junção útero-placentária (JUP) durante o final de gestação.....	33
Tab. 3 - Diâmetro da órbita ocular fetal durante toda a gestação .....	35
Tab. 4 - Desenvolvimento embrionário em função da idade.....	46
Tab. 5 - Mensuração da vesícula embrionária em função da idade e a idade estimada do embrião.....	47
Tab. 6 - Diâmetro médio da vesícula embrionária em função do sexo.....	48
Tab. 7 - Comprimento crânio-caudal em função da idade fetal e a idade estimada.....	50
Tab. 8 - Média dos diâmetros torácicos em função da idade.....	52
Tab. 9 - Média dos diâmetros das órbitas fetais em função da idade e a idade estimada.....	54
Tab. 10 - Estruturas ovarianas em éguas cíclicas.....	55
Tab. 11 - Estruturas ovarinas em éguas suplementadas com P4.....	56
Tab. 12 - Número e área de corpos lúteos (CLs) durante a gestação.....	57
Tab. 13 - Área de corpo lúteo em função do dia da inovulação da receptora.....	59
Tab. 14 - Média e desvio padrão da progesterona de acordo com o dia da inovulação e suplementação com P4 exógena.....	60
Tab. 15 - Variação de progesterona ao longo da gestação.....	62
Tab. 16 - Correlação entre a área de corpo lúteo e a produção de progesterona até os 180 dias de gestação.....	63
Tab. 17 - Variação de progesterona entre éguas cíclicas e acíclicas suplementadas com P4.....	65
Tab. 18 - Níveis de estradiol (E2) em função da idade gestacional.....	66

Tab. 19 - Espessura da junção útero placentária (JUP) em éguas Mangalarga Marchador de acordo com o período gestacional.....	67
Tab. 20 - Junções útero-placentárias das gestações normais e das que sofreram alterações..	68
Tab. 21 - Informações relacionadas às perdas gestacionais.....	69
Tab. 22 - Duração da gestação em éguas Mangalarga Marchador.....	70
Tab. 23 - Alternância de cornos uterinos gestantes em gestações sucessivas.....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- TE – Transferência de embrião
- MM – Mangalarga Marchador
- hCG – Gonadotrofina coriônica humana
- RMG – Reconhecimento materno da gestação
- PGF-2 $\alpha$  – Prostaglandina F2-alfa
- PGE – Prostaglandina E2
- P4 – Progesterona
- FSH – Hormônio folículo-estimulante
- LH – Hormônio luteinizante
- MEP – Mortalidade embrionária precoce
- JUP- Junção útero-placentária
- CR-CD – Crânio-caudal
- D0 – Dia da ovulação
- D2 – Dois dias após a ovulação
- CL – Corpo lúteo
- ANOVA- Análise de variância
- ACL – Área de corpo lúteo

## RESUMO

MATTA, Manuela Pereira da, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Junho de 2013.  
**Avaliação dos parâmetros de gestação de éguas da raça Mangalarga Marchador**  
Orientador: Giovanni Ribeiro de Carvalho. Co-orientador: Ciro Alexandre Alves Torres

O objetivo do presente estudo foi avaliar os parâmetros de gestação em éguas receptoras da raça Mangalarga Marchador (MM). Foram utilizadas 62 éguas receptoras, com idades entre 04 e 15 anos, mantidas em regime extensivo, sendo que 5 éguas acíclicas receberam progesterona exógena. Essas éguas acíclicas foram tratadas com 10 ml de Medroxiprogesterona (150 mg) semanalmente, até completarem 100 dias de gestação. Foram avaliados os aspectos reprodutivos, desde a seleção da receptora até o parto, por exames ultrassonográficos, palpação dos órgãos genitais e dos hormônios, progesterona e estradiol. Amostras sanguíneas foram coletadas nos dias DI=Dia da inovulação, D13, D21, D30, D37, D45, D60, D75, D90, D120, D150, D180, D210, D240, D270, D300 e D330, pós-ovulação. O estradiol foi mensurado entre os dias D60 e D180. As avaliações ultrassonográficas foram realizadas simultaneamente às coletas sanguíneas, com intuito de verificar características uterinas, ovarianas, embrionárias e placentárias. Os embriões foram avaliados e classificados quanto ao grau e estágio de desenvolvimento, antes de serem transferidos para a receptora. Quanto às avaliações ultrassonográficas, foram observadas alterações uterinas como presença de líquidos e cistos endometriais, número e tamanho de corpos lúteos, folículos ovulatórios ou anovulatórios, formação de corpos lúteos acessórios e espessura da junção útero-placentária (JUP). Em relação ao conceito, foi mensurada a vesícula embrionária, o comprimento crânio-caudal (CR-CD), o diâmetro torácico (DT) e o diâmetro da órbita ocular fetal (OC). Ainda foi observada a duração da gestação, a fixação das vesículas embrionárias ao corno uterino e a ocorrência de perdas gestacionais (mortalidades embrionárias precoces ou abortamentos). Todos os embriões foram coletados entre os dias 7 e 10, pós-ovulação. Dos embriões avaliados no dia da coleta, 80,5; 16,67 e 2,83% foram classificados quanto à qualidade, em grau I, II e III, respectivamente. Quanto ao estágio de desenvolvimento embrionário, foram verificados blastocistos em eclosão (2,77%), blastocistos expandidos (68,0%), blastocistos iniciais (20,80%) e mórulas compactas (8,4%). A vesícula embrionária apresentou crescimento linear ( $P < 0,0001$ ) e não foi observada diferença em relação ao sexo do embrião ( $P > 0,05$ ). O comprimento crânio-caudal, o diâmetro torácico e o diâmetro da órbita ocular dos fetos tiveram crescimento linear ( $P < 0,0001$ ). O número e a área de corpo lúteo (ACL) foram diferentes entre os períodos estudados ( $P < 0,05$ ). Houve diferença da

ACL entre os dias 13 a 30 após a ovulação, em relação ao dia da inovulação do embrião ( $P < 0,05$ ). A progesterona (P4) não apresentou diferenças em relação ao dia da inovulação ( $P > 0,05$ ), entre éguas cíclicas e acíclicas, em que foi utilizada a suplementação de P4 exógena. Ao longo da gestação, observou-se diferenças nas concentrações de P4 ( $P < 0,05$ ). Houve correlação positiva entre a área de CL e a produção de P4 nos dias D13, D60, D75 e D90 ( $P < 0,05$ ). A área de CL apresentou correlação positiva ( $r = 0,32$ ) com a produção de P4, com as concentrações apresentando comportamento quadrático ( $p < 0,001$ ). Comparando-se éguas cíclicas com acíclicas, suplementadas com P4, só se observou diferença de progesterona no dia D30 ( $P < 0,05$ ). As concentrações de estradiol foram crescentes, entre os dias D60 a D180, dando diferença para os períodos de coletas ( $P < 0,05$ ). Perdas gestacionais ocorreram numa taxa de 12,9 %, sendo que 6,45% foi mortalidade embrionária precoce e 6,45% abortamentos. Todas as perdas ocorreram em éguas cíclicas. A duração média da gestação na raça foi de 334 dias. Das éguas avaliadas, 61% alternaram o corno uterino em gestações sucessivas independente da localização do corpo lúteo e 62,75% fixaram o embrião no corno uterino direito.

## ABSTRACT

MATTA, Manuela Pereira da, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, June of 2013.  
**Evaluation of pregnancy characteristics of Mangalarga Marchador mares** Adviser:  
Giovanni Ribeiro de Carvalho. Co-adviser: Ciro Alexandre Alves Torres

The present study aimed to evaluate the pregnancy characteristics in recipient mares of Mangalarga Marchador breed (MM). Sixty-two recipient mares aging 4 to 15 years were used. The animals were kept in an extensive pasture regimen, and five non-cyclic mares were treated with exogenous progesterone (P4) to receive embryos. The non-cyclic mares were treated with 10 ml of Medroxyprogesterone (150 mg) weekly until 100 days of pregnancy. Reproductive aspects were evaluated from the day of recipient mare selection to parturition through transrectal ultrasonography and palpation of reproductive system and by P4 and estradiol concentrations. Blood samples were collected on the following days: day of embryo transfer (DI) and on Days 13, 21, 30, 37, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300 and 330 after ovulation. Estradiol concentration was assayed only from Day 60 to Day 180. Transrectal ultrasonography was performed concomitant with the blood sampling to evaluate the characteristics of uterus, ovary, conceptus and placenta during pregnancy. The recipient mares were selected based on the uterine tonus, cervical tonus, uterine echography, uterine edema, corpus luteum diameter, and dominant follicle diameter. Each recipient received a score in accordance with the reported characteristics. Embryos were evaluated and classified according to the stage and quality of development before their transfer. In addition, during the ultrasonography evaluation uterine and ovary changes were detected and recorded. The characteristics evaluated were: presence of fluid and endometrial; number and size of corpora lutea; occurrence of ovulatory and anovulatory follicles; formation of accessory corpora lutea; and thickness of uterus-placenta junction (JUP). In regard to the conceptus, the size of embryonic vesicle, the crown-rump length (CR-CD); thoracic diameter (DT) and diameter of fetal eye socket (OC). The pregnancy length, day of embryo vesicle attachment in the uterus and occurrence of pregnancy loss (early or late conceptus death) were also evaluated. Embryos were collected between days 7 and 10 post-ovulation. Embryos were classified as grade I (80.5%), II (16.7%) and III (2.83%). For the development stage, embryos were classified as expanded blastocysts (68.0%), early blastocysts (20.80%) and compact morulas (8.43%). The growth of embryonic vesicle had a linear effect ( $P < 0.0001$ ), and was not affected by the embryo gender ( $P > 0.05$ ). The CR-CD, DT, and OC also had linear growth during pregnancy ( $P < 0.0001$ ). The number and area of corpora lutea (ACL) differed among the pregnancy periods evaluated ( $P < 0.05$ ). The ACL

differed between days 13-30 postovulation and the day of embryo transfer ( $P < 0.05$ ). Concentration of P4 did not differ at the day of embryo transfer ( $P > 0.05$ ) in cyclic and non-cyclic mares, but differed during pregnancy among sampled days ( $P < 0.05$ ). A positive correlation was detected between ACL and P4 concentrations on Days 13, 60, 75 and 90 ( $P < 0.05$ ). The ACL also had a positive correlation ( $r = 0.32$ ) with P4 concentration during pregnancy and a quadratic regression model was developed owing to predict the P4 level by ACL. For the comparison between cyclic and non-cyclic mares, P4 only differed between these two groups on Day 30 ( $P < 0.05$ ). Estradiol concentrations increased between Days 60 and 180 ( $P < 0.05$ ). All the pregnancy losses occurred in cyclic mares. The mean of pregnancy length was 334 days. In 61% of the mares, the pregnancy fixed in opposite uterine horn of the previous pregnancy regardless the corpus luteum side and 62.8 % of embryos fixed in the right uterine horn.

## 1. INTRODUÇÃO

A reprodução na espécie equina tem se desenvolvido consideravelmente, a partir de biotécnicas como a inseminação artificial e a transferência de embriões (TE). O avanço expressivo da TE nas últimas décadas, se deu pela ativa e contínua busca por aperfeiçoamento da técnica, por meio de inúmeras pesquisas com éguas de diversas raças, como por exemplo, a Mangalarga Marchador, que é uma das raças que mais utiliza TE no mundo. Essas inovações na área de reprodução permitiram um maior ganho genético, pois possibilitaram obter um maior número de produtos, por ano, de uma mesma matriz. Segundo dados do relatório de 2012 da IETS (Sociedade Internacional de Transferência de Embriões) o Brasil ocupa o primeiro lugar no cenário mundial em transferência de embriões, realizando 16.800 lavados e 13.600 transferências de embriões, o que corresponde a 47,49% da produção mundial. Logo em seguida, aparece a Argentina com 26,19% e os Estados Unidos com 21,30%.

No entanto, muitas vezes esse processo reprodutivo não chega ao término, em consequência de perdas embrionárias precoces ou abortos de etiologia desconhecida. Em éguas, a taxa de mortalidade embrionária precoce é de 9% para fêmeas jovens e, para éguas mais velhas, pode chegar de 62 a 73%. Já a ocorrência de abortamento é cerca de 19%, sendo que 9,3% ocorrem após os 60 dias de gestação (Mc KINNON, 1993; WANDERWALL, 2008).

Em relação às raças em que se emprega a técnica, a Mangalarga Marchador é uma das mais atuantes no país e a que mais investe em avanços relacionados com a melhoria do aspecto reprodutivo dos animais. Segundo a ABCCMM (2012), a raça registrou, no ano de 2012, um total de 32.350 cobrições por monta natural (MN) e 9.735 cobrições para transferências de embriões (TE), resultando no nascimento de 19.498 e 5.703 potros, respectivamente. Considerando-se que uma boa parte dos potros nascidos não são comunicados à ABCCMM, mesmo assim considera-se alto o índice de perdas gestacionais.

No intuito de reduzir esses problemas reprodutivos, torna-se necessário conhecer algumas de suas possíveis causas e dessa forma, buscar alternativas para eliminá-los ou pelo menos diminuir a sua ocorrência. Além disso, é de fundamental importância conhecer o desenvolvimento embrionário e as transformações pelo qual passa o sistema reprodutor da égua durante a gestação. O presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil hormonal, o desenvolvimento embrionário e fetal, alterações ovarianas, uterinas e placentárias de éguas receptoras gestantes. Além de conhecer parâmetros de gestação na raça Mangalarga Marchador, que possam detectar a presença de uma gestação anormal.

## **2 - REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 - Transferência de embriões em equinos**

#### **2.1.1 - Geral**

A transferência de embriões (TE) é uma técnica de reprodução assistida, que tem crescido nos últimos anos na indústria do cavalo. No Brasil, a TE comercial em equinos se iniciou em 1987 por FLEURY et al., adaptando a metodologia relatada por DOUGLAS (1979) às condições brasileiras. Nas últimas décadas, houve um grande avanço desta biotécnica, aplicada à referida espécie, melhorando consideravelmente as taxas de prenhez de 12,50% a 74,55% (VOGELSANG et al., 1979; OGURI & TSUTSUMI 1980; FLEURY & ALVARENGA, 1999; PERES et al., 2002; ROCHA, et al., 2004).

O uso desta biotecnologia possibilita o maior desenvolvimento do setor equestre, por meio do ganho na eficiência reprodutiva e no incremento do melhoramento genético, favorecendo o aprimoramento das raças e seus cruzamentos (LIRA et al, 2009).

Outra vantagem da TE é a possibilidade de gerar potros de éguas subférteis por problemas adquiridos, as quais ficam impedidas de exercer uma gestação a termo, devido a uma variedade de razões, tais como problemas locomotores, infecção uterina crônica, danos cervicais, etc. Além disso, esta biotécnica favorece o maior controle de doenças, quando da transferência de material genético entre estados ou países, bem como a obtenção de divisas via exportações de embriões congelados (ARRUDA et al., 2001).

#### **2.1.2 - Seleção e manejo das doadoras e receptoras**

A seleção da égua doadora deve ser baseada primeiramente pelo seu potencial genético seguido pelo histórico reprodutivo, pela fertilidade, pelo valor potencial do potro (a) resultante e pelo número de gestações desejadas (SQUIRES et al. 1999).

O manejo consiste em acompanhar o comportamento reprodutivo, pelo emprego da palpção transretal e ultrassonografia, para monitorar a atividade folicular e ovulação, e o uso de hormônios exógenos para sincronizar o estro e a ovulação. Quando em cio, a égua doadora é examinada diariamente, visando o melhor momento para inseminação com sêmen fresco, refrigerado ou congelado (VANDERWALL & WOODS, 2007).

As éguas receptoras é um dos fatores importantes que afeta o sucesso de um programa de TE (VANDERWALL & WOODS, 2007; MCKINNON & SQUIRES, 2007), visto que estas irão reconhecer o embrião e terão que fornecer as condições necessárias ao seu desenvolvimento

(FLEURY et al., 2007). Critérios de seleção incluem escore corporal, idade de 3 a 10 anos, boa índole e bom desenvolvimento mamário (SQUIRES et al., 1999), ciclos estrais normais e livres de anormalidades uterinas e ovarianas (VANDERWALL & WOODS, 2007).

As receptoras também devem ser examinadas diariamente durante o estro para o monitoramento do crescimento folicular e ovulação (VANDERWALL & WOODS, 2007). É preferível que pelo menos duas receptoras estejam disponíveis para cada doadora (MCKINNON & SQUIRES, 2007), permitindo assim, no momento da inovulação, escolher a que apresentar as melhores condições reprodutivas para receber o embrião. De acordo com CARNEVALE et al. (2000), as receptoras ideais devem apresentar um corpo lúteo bem definido, tônus uterino e cervical variando de bom a excelente, e nenhuma outra alteração no útero.

### **2.1.3 - Sincronização do estro e indução da ovulação**

A utilização de várias combinações de esteróides reprodutivos (progestágenos e estrógenos), prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF e análogos), gonadotrofina coriônica humana (hCG) e hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH e análogos), têm sido usados no controle do desenvolvimento folicular e tempo de ovulação, e aplicada com propósitos básicos durante a transição da primavera, ciclo estral e período pós-parto em éguas (MCKINNON & VOSS, 1993; BERGFELT, 1999; PINTO & MEYERS, 2007).

A janela de sincronização entre a ovulação da receptora e da doadora era de +1 (ovulação um dia antes da doadora) a -3 (ovulação três dias após a doadora), não sendo as taxas de gestação entre si diferentes neste intervalo (IMEL et al., 1981; IULIANO et al., 1985; SQUIRES et al., 1985; SQUIRES & SEIDEL, 1995; MCKINNON & SQUIRES, 2007). De acordo com JACOB et al (2002) é possível utilizar éguas receptoras D2 e D9 obtendo taxas de prenhez similares, não havendo mais preocupação com sincronia entre doadoras e receptoras. CAIADO et al (2007) relatou o uso de receptoras entre D2 a D8 mediante tratamento prévio com progesterona (P4) do D0 ao D4.

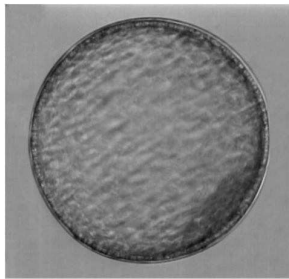
Atualmente, a sincronização entre doadora e receptora é uma técnica realizada de maneira relativamente simples em éguas cíclicas. Geralmente, administra-se uma única injeção intramuscular de PGF<sub>2-α</sub> ou análogo na égua doadora, um ou dois dias à frente da mesma terapia, aplicada nas receptoras, quando se sabe que ambas estão entre o 6º e 14º dias do diestro e o exame ultrassonográfico dos ovários revela a ausência de um grande folículo pré-ovulatório, que pode ovular rapidamente (ALLEN, 2001).

Em todos os protocolos de sincronização empregados, monitora-se o crescimento folicular por ultrassonografia e utiliza-se hCG, GnRH ou EPE (DUCHAMP et al., 1987) para induzir ovulação nas éguas receptoras, dentro de 48 h depois que a doadora for inseminada. Salienta-se

que sucessivas aplicações de hCG induzem a formação de anticorpos, reduzindo a sua eficiência na resposta ovulatória (DUCHAMP et al, 1987).

#### 2.1.4 - Coleta e transferência dos embriões

Os embriões equinos são transportados da tuba uterina para o útero entre os dias 5 e 6,5 pós-ovulação, os quais estão na fase de mórula compacta, para desenvolvimento inicial de blastocisto. Após entrar no lúmen uterino, o tamanho do embrião aumenta dramaticamente, desenvolvendo-se para blastocisto expandido. Embora embriões possam ser recuperados nos dias 6 a 9, o período ideal para sua coleta é nos dias 8 ou 9 após a fertilização (Fig.1). Para congelamento de embrião, a indicação para recuperação embrionária é no dia 6 pós-ovulação (SQUIRES & SEIDEL, 1995).



**Fig.1 – Blastocisto equino recuperado do útero oito dias após ovulação.**

**Fonte: Elsevier Saunders (2005).**

A coleta de embriões pode ser realizada por meio de dois métodos: cirúrgico e o não cirúrgico, sendo esse último o mais utilizado como rotina. O procedimento não cirúrgico de coleta do embrião do lúmen uterino é relativamente simples. Após introduzir o catéter pela cérvix (via transvaginal) e alojá-lo no corpo uterino, o balão é inflado entre 30 e 50 ml de ar, tracionando-se para ser mantido em íntimo contato com a porção uterina da cérvix. Por meio deste catéter, são infundidos de 500 a 2000 ml de solução Ringer lactato no útero da égua, dependendo do tamanho do útero da doadora. Este fluido é então drenado, diretamente para um filtro, e o procedimento é repetido de uma a três vezes (FLEURY et al., 2001).

O rastreamento dos embriões é realizado com auxílio de um microscópio estereoscópico (lupa) sob aumento de 10X e a classificação embrionária é realizada utilizando-se aumento de 40X. A placa de petri deve estar previamente riscada na sua parte inferior, para facilitar a localização do embrião. Uma vez localizado, este é removido por aspiração com o auxílio de uma palheta de 0,5 ou 0,25 ml, acoplada a uma seringa de insulina, e transferido para

uma placa de petri menor (35 x 10 mm), contendo um meio de manutenção constituído de tampão fosfato, bicarbonato e tampão zwitteriônico.

A classificação é feita de acordo com os parâmetros de estágio de desenvolvimento e qualidade, conforme recomendações da IETS (International Embryo Transfer Society), descritas por MCKINNON & SQUIRES (1988). Em coletas realizadas entre 6 e 8 dias após ovulação, geralmente são encontrados mórula (MO), blastocisto inicial (BI), blastocisto (BL) e/ou blastocisto expandido (BX). A avaliação da qualidade embrionária leva em consideração a morfologia, relacionando-a com sua viabilidade. É atribuído um escore de 1 a 5, avaliando-o quanto ao formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade de zona pelúcida (Tab.1-MCKINNON & SQUIRES 1988).

**Tab. 1 - Critério de classificação do grau de qualidade de embriões equinos.**

<b>Classificação</b>	<b>Qualidade</b>
Grau 1	<b>Excelentes</b> - Ideais, esféricos, com tamanho, cor e textura uniformes.
Grau 2	<b>Bom</b> - Pequenas imperfeições com poucos blastômeros extrusos, forma irregular ou separação de trofoblasto.
Grau 3	<b>Razoáveis</b> - Problemas não muito severos de blastômeros extrusos, células degeneradas ou blastocele colapsada.
Grau 4	<b>Ruins</b> - Blastocele colapsada, vários blastômeros extrusos e células degeneradas, mas com aparência viável da massa embrionária.
Grau 5	<b>Degenerado</b> - Oócito não fertilizado ou embrião totalmente degenerado

**Fonte: McKinnon & Squires (1988)**

A qualidade do embrião apresenta o principal efeito sobre as taxas de prenhez. Embriões com baixo escore de qualidade ( $\geq 3$ ) resultam em baixa taxa de prenhez (SQUIRES & SEIDEL, 1995). Embriões que são menores que o normal para a idade deles, ou têm anormalidades morfológicas, também resultam em taxas de prenhez reduzidas (SQUIRES et al., 2003).

Após avaliação e classificação, o embrião é lavado em 10 passagens consecutivas no meio de manutenção, com o objetivo de eliminar as impurezas presentes na zona pelúcida antes de aspirá-lo na palheta de inovulação. Neste momento, o embrião está pronto para ser transferido para uma égua receptora ou ser acondicionado ao resfriamento para o transporte (DAELS, 2007).

A transferência pelo método não cirúrgico é a mais utilizada devido à facilidade, sendo semelhante à inseminação artificial. Coloca-se o embrião em uma pipeta de inseminação,

respeitando-se a seguinte sequência: coluna de meio + coluna de ar + coluna de meio contendo o embrião + coluna de ar + coluna de meio, e transfere-o para o corpo do útero (CARNEIRO, 2005; FLEURY et al., 2001).

## **2.2 - Recuperações embrionárias**

O sucesso de um programa de transferência de embriões está intimamente relacionado à taxa de recuperação dos embriões a partir das éguas doadoras. Dados referentes a um período de cinco anos, em uma fazenda de criação da raça Mangalarga Marchador, totalizando 658 lavados, revelaram uma taxa de recuperação embrionária de 63,4% (JACOB et al., 2002). Fatores como número de ovulações, dia da coleta do embrião, égua doadora e qualidade de sêmen são alguns dos responsáveis pela baixa eficiência nos programas de TE.

O número de ovulações pode afetar as taxas de recuperação embrionária, sendo de 58,2% para éguas com ovulação simples e de 106% para éguas com ovulação dupla espontânea (SQUIRES, 1987).

Quanto ao dia da coleta dos embriões, sabe-se que o embrião equino chega ao útero materno entre o quinto e o sexto dia pós-ovulação (GINTHER, 1992). Coletas realizadas seis dias após a ovulação, geralmente fornecem resultados ligeiramente inferiores, mas são necessárias quando se deseja congelar os embriões, devido a maior viabilidade após a congelamento e descongelamento dos embriões de seis dias, em comparação aos de sete ou mais dias (SQUIRES et al., 1999).

Outro fator importante que afeta a recuperação embrionária sem dúvida alguma é o status reprodutivo da égua doadora. Segundo SQUIRES et al.(1999), éguas idosas com histórico reprodutivo ruim, geralmente produzem menos embriões. CARNEVALE e GINTHER (1992) relataram que éguas idosas apresentaram maior incidência de inflamação endometrial, taxa de prenhez reduzida e maior incidência de morte embrionária. Além disso, a idade avançada foi relacionada ao menor tônus e a contratilidade uterina.

A escolha dos ganhões utilizados nos programas de TE é baseada em suas características morfológicas e de desempenho atlético, raramente se levando em consideração a fertilidade. Por isso, não é incomum ocorrer queda da recuperação embrionária em função da utilização de sêmen de má qualidade, pois a fertilidade do sêmen é extremamente variável entre ganhões. A taxa de prenhez por ciclo estral em éguas após a inseminação artificial com sêmen fresco, de onze ganhões diferentes, variou de 40 a 79% (AMANN e PICKETT, 1987). Já SQUIRES et al., (1999) observaram que o sêmen fresco geralmente fornece melhores resultados de recuperação de embriões do que o sêmen refrigerado ou congelado.

## **2.3 - Taxas de prenhez**

### **2.3.1 - Idade do embrião**

Dois trabalhos desenvolvidos em programas de TE, com a raça Mangalarga Marchador, revelaram taxas de gestação de 70,30% (JACOB et al., 2002) e 72,50% (GOMES et al., 2004). Geralmente as coletas são realizadas no dia 7 ou 8 após a ovulação, exceto os embriões para congelamento, os quais são coletados no 6º dia após a ovulação (SQUIRES et al., 1999). Embriões coletados 6 dias após a ovulação têm menores taxas de recuperação do que aqueles coletados do dia 7 ou 9 (SQUIRES et al. 1999). Entretanto, IULANO et al. (1985) registraram taxas de recuperação de embriões de 65, 75 e 82 % para coletas no 6º, 7º e 8º dia após a ovulação, respectivamente, e FLEURY (1998) verificou taxas de recuperação embrionária de 49,30; 58,00 e 54,50%, em coletas realizadas no 7º, 8º e 9º dias pós-ovulação. Contudo, SQUIRES (1993) observou que em embriões de nove dias (blastocisto expandido), o aumento da relação volume/superfície torna o embrião mais sensível ao manuseio.

FLEURY (1998) e FLEURY et al. (1999) concluíram que, com adequado manuseio e técnica não cirúrgica, as taxas de prenhez obtidas com embriões coletados no dia 8 ou 9 foram similares as obtidas com embriões coletados no dia 7 após a ovulação. Se as receptoras são selecionadas baseadas na sincronia da ovulação das doadoras, especialmente quando se transfere embriões com 8 e 9 dias, deve-se modificar a seleção para evitar a transferência em receptoras com muitos dias pós-ovulação (CARNEVALE et al., 2000). Estudos conduzidos com embriões mais jovens mostraram que as taxas de prenhez foram menores após a transferência de pequenos embriões ou mórulas (100 a 299 micra). Esses resultados não necessariamente indicam que a viabilidade é menor, quando os embriões pequenos ou mórulas são coletados inicialmente após a ovulação, por exemplo, no dia 6. Provavelmente, muitos desses embriões encontravam-se atrasados em seu desenvolvimento na ocasião das coletas (CARNEVALE et al., 2000; SQUIRES et al., 2003). Tais observações foram anteriormente relatadas por VANDERWALL, 1999, o qual verificou, em éguas com idade avançada, um atraso no desenvolvimento embrionário e no transporte dos mesmos pelo oviduto.

Para éguas mais velhas, tem se preconizado coletas no 8º ou 9º dia pós-ovulação (SQUIRES et al., 1999). Da mesma forma, SQUIRES (1993) ressalta que os melhores índices de gestação ocorreram em embriões com oito dias de idade, do que com nove dias de idade. De acordo com FLEURY et al. (2002) embriões grandes (blastocistos expandidos) podem ser transportados e transferidos, resultando em boas taxas de prenhez.

### **2.3.2 - Sítio de deposição do embrião**

A deposição do embrião no corno uterino pode ser testada, como forma de se verificar possível vantagem do mesmo na migração uterina, processo este muito importante no reconhecimento materno da gestação (CARVALHO, 2000). O mesmo autor não encontrou diferenças nas taxas de prenhez de embriões depositados no corno ou no corpo uterino, muito embora cite que as taxas de prenhez em receptoras com deposição do embrião no corno uterino encorajem sua utilização.

### **2.3.3. - Método de transferência do embrião**

Embriões equinos têm sido transferidos pelo método cirúrgico por incisão no flanco e pelo método não cirúrgico via transcervical. Segundo SQUIRES et al. (1999), o método cirúrgico apesar de ser mais oneroso fornece taxas de prenhez mais consistentes do que o transcervical (65 a 75% vs. 50 a 75% respectivamente). No entanto, dados provenientes de pesquisas executadas por SILVA (2003) e de programas comerciais de TE no Brasil, conduzido por profissionais criteriosos e experientes nas raças Mangalarga (FLEURY e ALVARENGA, 1999), Mangalarga Marchador (JACOB et al., 2002; GOMES et al., 2004) e Quarto de Milha / Paint Horse (PESSOA et al. 2004), têm demonstrado que o método transcervical gera taxas de prenhez consistentes, em torno de 70%, não justificando a realização do procedimento cirúrgico.

Considerando o método transcervical, diferentes dispositivos têm sido utilizados na transferência. PERES et al. (2002) não observaram diferenças significativas nas taxas de prenhez pós-transferência com a utilização do transferidor francês (59%), da pipeta de inseminação artificial (54%), do transferidor alemão (44%) ou do aparelho comum constituído por um tubo de aço inox, dentro do qual perpassava-se um tubo de polietileno contendo o embrião (62%). Recentemente foi desenvolvido um método alternativo para se executar a inovulação de embriões equinos, consistindo em depositar o embrião no útero da receptora mediante uma injeção intrauterina guiada por ultrassonografia. SILVA (2003) relata que essa nova técnica foi comparada ao método transcervical e não foram encontradas diferenças significativas nas taxas de prenhez, as quais foram de 76,9 e 78,9%, respectivamente. Entretanto, trata-se de uma técnica mais onerosa e complexa cuja aplicação se restringe a situações especiais.

### **2.3.4 - Égua receptora**

O momento fisiológico em que a receptora recebe o embrião é sem dúvida um dos principais determinantes da taxa de prenhez, juntamente com a qualidade do embrião e a idade da égua doadora (SQUIRES et al 1999).

Em estudos mais antigos, havia grande preocupação com a sincronia entre doadora e receptora. Resultados de um programa com grande número de transferências cirúrgicas, utilizando éguas receptoras que haviam ovulado de dois dias antes (+2) a três dias depois (-3) da doadora, revelaram apenas uma queda nas taxas de prenhez quando do uso de receptoras +2, sem diferença entre os demais dias (Mc KINNON, 1988).

OGURI E TSUTSUMI (1980) reportaram 63% de prenhez após transferência não cirúrgica para receptoras que ovularam 48 h depois da doadora, contra 0% em receptoras que ovularam 48 h antes da doadora. Dessa forma preconizou-se por muitos anos a transferência de embriões para receptoras +1 a -2, ou seja, que ovularam um dia antes até dois dias depois da doadora.

Trabalhos recentes têm demonstrado que a sincronia entre doadora e receptora pode ser bem mais flexível do que se pensava, até porque se pode realizar a coleta do embrião em dias diferentes. Segundo JACOB et al (2002), receptoras ovuladas um dia antes até cinco dias após a doadora, podem ser utilizadas sem afetar as taxas de prenhez. Na verdade, mais relevante que a sincronia entre doadora e receptora é o número de dias pós-ovulação que a receptora apresenta, no dia da transferência, conforme salientado por CARNEVALE et al (2000).

Constatando essa informação, dados de diversas estações reprodutivas em dois programas comerciais no Brasil, com as raças Mangalarga e Mangalarga Marchador, foram analisados e revelam similaridade ( $P > 0,05$ ) nas taxas de prenhez, em receptoras que foram utilizadas do 3º ao 8º dia pós-ovulação (FLEURY et al, 1989; JACOB et al, 2002). Esses resultados são de grande importância prática, uma vez que confere maior flexibilidade a utilização das receptoras, reduzindo, por conseguinte, o número de receptoras alojadas e o tempo necessário para torná-las gestantes.

### **2.3.5 - Qualidade do embrião**

Após a colheita, é comum avaliar a morfologia e o estágio de desenvolvimento do embrião. A qualidade do embrião antes da transferência afeta drasticamente as taxas de prenhez (SQUIRES, 1993). CLARK et al (1987) reportaram 50% (13/26) de prenhez após transferência

de embriões com grau de qualidade menor que 2, comparada a apenas uma prenhez, de seis transferências de embriões de grau maior ou igual a 2 (grau 1 = excelente e grau 4 = ruim).

De forma similar, as taxas de prenhez aos 50 dias após transferência cirúrgica, foram maiores ( $P < 0,05$ ) para embriões grau 1 ou 2 (69% 214/310) do que para embriões classificados como grau  $\geq 3$  (18% 4/22) (Mc KINNON 1988).

### **2.3.6 - Refrigeração e transporte de embriões equinos**

Embriões equinos têm sido refrigerados a 5 °C e transportados por até 30 horas antes da transferência (SQUIRES et al 2003). Taxas de prenhez similares para embriões transferidos a fresco ou refrigerados a 5 °C foram reportadas (CARNEY et al 1991). Mc CUE et al (2000) compararam as taxas de prenhez de embriões refrigerados por 24 h, em meio Ham's F10 ou em meio de manutenção, e não observaram diferenças significativas.

FLEURY et al (2002) comparou a refrigeração de embriões a uma temperatura de 15 a 18°C utilizando Ham's F-10 com Heps e 0,4% de Albumina Sérica Bovina (BSA), sem atmosfera específica de CO<sub>2</sub>, em diferentes períodos de tempo antes da transferência. Os embriões foram divididos em grupos de acordo com o tempo de estocagem em: <1 h, 1 a 4 h, 4 a 8 h e 12 a 18 h. Em cada grupo, os embriões foram subdivididos em <1000 µm ou >1000 µm, não sendo observada diferença significativa nas taxas de gestação entre os grupos ou em relação ao diâmetro dos embriões.

### **2.3.7 - Intervalo do parto ao primeiro cio, intervalos de partos e utilização do cio do potro.**

Segundo GINTHER (1992), éguas que não fiquem gestantes no primeiro cio pós-parto podem passar por prolongado período até o próximo cio. ALLEN (1994) cita que éguas podem apresentar cios atípicos após o cio do potro e que a utilização desse cio tem como vantagem evitar tal fato. Tendo em vista a rápida involução uterina e os bons índices de gestação no cio do potro, recomenda-se a sua utilização em um programa de transferência de embriões, principalmente pelo limitado intervalo de tempo verificado durante as estações de monta (CARVALHO, 2000).

Éguas gestantes e paridas são a maior proporção das éguas receptoras, presentes em uma fazenda de criação que utiliza a TE como rotina na reprodução. Devido ao alto custo de manutenção dessas éguas é importante que as mesmas tenham intervalo de parto pequeno.

CAMILLO et al (1997) comenta que como o tempo de gestação equino é de 310 a 340 dias, a meta de criação é que a égua produza um potro por ano.

Na espécie equina existe uma limitação fisiológica em relação ao número de coletas de embriões durante a “estação de monta”, devido ao longo período de gestação e a sazonalidade reprodutiva. Em função dessas limitações, o “cio do potro” que ocorre logo após o parto, deve também ser utilizado com o objetivo de maximizar o número de coletas e a produção de embriões por estação de monta (CARVALHO, 2000). No Brasil, aproximadamente no 17º dia após o parto, 95% das éguas já apresentaram o cio e 85% já ovularam. A fertilidade do cio do potro aproxima-se da fertilidade por ciclo das demais categorias de éguas (PALHARES, 1989).

## **2.4 - Gestação**

### **2.4.1 - Reconhecimento materno da gestação**

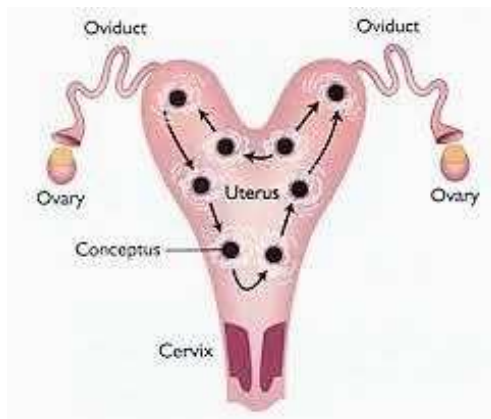
O reconhecimento materno da gestação (RMG) é um processo fisiológico por meio do qual o conceito sinaliza a sua presença ao organismo materno, assegurando a manutenção do corpo lúteo (CL) primário, e conseqüentemente, dos níveis de progesterona necessários à sobrevivência e desenvolvimento do embrião (KASTELIC et al.1987; ALLEN,2001; SPENCER et al.,2004). O RMG é um passo essencial para o estabelecimento da gestação em muitos mamíferos.

Entretanto, a natureza desse processo na espécie equina é diferente de outras espécies domésticas. A égua é provida de uma distinta e aparentemente única maneira, pela qual o embrião possui uma total importância no sinal do reconhecimento materno da gestação (ALLEN, 2000). O embrião equino é envolto por uma resistente e ajustada cápsula de glicocálix entre os dias 6,5 a 14 após a ovulação, sendo incapaz de reorganizar e alongar o trofoectoderma entre os dias 10 e 14 após a ovulação, permanecendo esférico e completamente solto dentro do lúmen uterino (ALLEN, 2000; ALLEN & STEWART, 2001), onde se move continuamente de uma extremidade à outra do útero, levado por fortes contrações peristálticas do miométrio, nos dias 9 a 17 após a ovulação (GINTHER, 1983; LEITH & GINTHER, 1984; GASTAL *et al.*, 1998; ALLEN, 2000; ALLEN & STEWART, 2001; STOUT & ALLEN, 2001, 2002).

Este processo incomum de mobilidade do conceito na égua persiste até o dia 16 ou 17 após a ovulação, quando ocorre um rápido aumento no diâmetro do embrião e um súbito espasmo que aumenta o tônus miometrial e fixa o conceito no eventual local de implantação, na base de um dos cornos uterinos (GINTHER, 1983; LEITH & GINTHER, 1984; ALLEN, 2000; SHARP, 2000; ALLEN, 2001; STOUT & ALLEN, 2001, 2002). Está claro que este constante

movimento do conceito é uma adaptação evolucionária, que garante ao embrião o sinal de reconhecimento materno da gestação, por toda a extensão do útero (ALLEN, 2000), levando a uma supressão na liberação cíclica de PGF-2 $\alpha$  pelo endométrio, permitindo a luteostase necessária para a manutenção da gestação (GINTHER, 1983; SHARP, 2000; STOUT & ALLEN, 2001).

A migração do conceito (Fig.2) também pode auxiliar no desenvolvimento, permitindo a captação de secreções uterinas, que constituem a única fonte de nutrientes no período anterior à formação da placenta definitiva, processo este que começa aos 45 dias de gestação na égua (SPENCER et al. 2004). Outra forma incomum de reconhecimento de gestação nos equinos é a capacidade dos embriões iniciarem seu transporte até o útero, quando já estão em desenvolvimento, pois os óvulos não fertilizados são retidos na junção ampola-istmo do oviduto, onde são lentamente degenerados (VAN NIEKERK et al. 1966; BETTERIDGE & MITCHELL, 1982).



**Fig. 2 – Migração do embrião equino pelo útero.**

**Fonte: [www.tankonyvtar.hu](http://www.tankonyvtar.hu) (2013)**

A capacidade do oviduto de diferenciar entre oócitos não fertilizados e embriões em desenvolvimento baseia-se no fato de que somente os últimos são capazes de secretar a prostaglandina E2 (PGE2). De fato, quando um embrião atinge a fase de mórula compacta de desenvolvimento no, Dia 5 (Dia 0 = dia da ovulação), começa a secretar quantidades apreciáveis desse hormônio (WEBER et al, 1991), que atua localmente no relaxamento das fibras de músculo liso na parede do oviduto, fazendo com que ocorra a abertura do esfíncter da ampola, permitindo assim que o embrião possa passar e introduzir no útero. Na verdade, o embrião equino gasta quase todo o seu período de 6 dias de desenvolvimento no oviduto, perto da junção

ampola-ístmio, enquanto que a passagem através do ístmio é rápida, gastando cerca de 35 horas (WEBER et al, 1991).

A restrição cirúrgica do embrião equino, em um terço da área total uterina, é seguida por luteólise e um retorno ao cio no período esperado do ciclo estral (ALLEN, 2000; SHARP, 2000). A ausência de qualquer barreira física, que possa impedir o conceito de se movimentar livremente de uma extremidade à outra no lúmen uterino, é um pré-requisito para a manutenção da gestação nos equinos. Alterações dentro do endométrio, bem como grandes cistos ou septos endometriais, podem contribuir para um insuficiente reconhecimento materno e subsequente perda da gestação (ALLEN, 2001).

Outra diferença na égua é a habilidade do conceito equino em secretar grande quantidade de PGF-2 $\alpha$  e Prostaglandina E2 (PGE2), tanto in vivo como quando cultivado in vitro (ALLEN, 2000; ALLEN, 2001). A produção de prostaglandinas pelo conceito é alta no dia 10 após a ovulação, elevando significativamente em função do aumento da idade gestacional (STOUT E ALLEN, 2001; STOUT E ALLEN, 2002). As prostaglandinas secretadas pelo conceito inicial, aparentemente derivam da membrana córion-vitelínica (ALLEN, 2000; ALLEN, 2001; STOUT E ALLEN, 2002) e não têm acesso à circulação sistêmica em quantidade suficiente, que comprometa a função do corpo lúteo. A função destas prostaglandinas não é completamente definida (STOUT E ALLEN, 2002), porém tem sido proposto que são necessárias para simular localmente as contrações peristálticas (tubáricas e uterinas) e o relaxamento do miométrio, requeridas para propulsar o conceito de uma extremidade à outra no lúmen uterino (ALLEN, 2000; STOUT E ALLEN, 2001; STOUT E ALLEN, 2002). Também é possível que essas prostaglandinas produzidas tenham outras funções, como promover a rápida expansão do blastocisto inicial e aumentarem o fluxo sanguíneo uterino e a permeabilidade vascular, facilitando a distribuição de nutrientes para o desenvolvimento do conceito (STOUT E ALLEN, 2002).

Alguns experimentos mostraram que um processo gradual permite a queda de receptores para a ocitocina no endométrio, entre os dias 10 e 16 após a ovulação (ALLEN, 2000; BETTERIDGE, 2000; ALLEN E STEWART, 2001), reduzindo potencialmente a cascata do ácido araquidônico, que em adição à produção de um inibidor da síntese de prostaglandinas, bloqueiam a conversão do ácido araquidônico na potente PGF, auxiliando na manutenção do corpo lúteo (SHARP, 2000). Uma elevada taxa na perda de gestação na égua (32%) ocorre entre os dias 12 e 30 após a ovulação, por não suportar uma deficiência na liberação do fator de reconhecimento materno da gestação pelo conceito, impedindo a ação cíclica da prostaglandina, a qual ganha acesso à circulação periférica, pela veia uterina, e acidentalmente induz a luteólise do corpo lúteo equino (ALLEN E STEWART, 2001).

Diferente dos ruminantes, o conceito equino não produz a molécula protéica interferon-tau, com propriedade luteostática, mas semelhante ao embrião suíno, começa a secretar estrógeno desde os sete dias após a ovulação e, portanto, inicialmente acreditou-se que essa seria a substância que teria a função do interferon-tau, no reconhecimento materno da gestação no equino (ALLEN, 2000; ALLEN, 2001; RAESIDE *et al.*, 2002, 2004; HAFEZ E HAFEZ, 2004). Embora o estrógeno sozinho não seja responsável pela sinalização materna da gestação em equinos, parece estar envolvido. Altas concentrações de estrógeno, associadas ao aumento da progesterona levam a um aumento considerável na produção de uteroferrinas (ELLENBERGER *et al.*, 2008), e estas parecem ser as proteínas responsáveis pelo reconhecimento materno da gestação (SHARP, 2000).

A produção de estradiol pelo conceito equino inicial é significativa para o estabelecimento da gestação, porém sua exata função no processo ainda não está bem determinada. Uma das funções do estrógeno é a de mediador local nos tecidos e desempenha também uma contribuição essencial na comunicação materno-fetal na placenta epiteliocorial (RAESIDE *et al.*, 2002, 2004).

#### **2.4.2 - Diagnóstico de gestação**

A duração da gestação na égua varia de 310 a 360 dias e é influenciada pelo tamanho da égua, pelo genótipo fetal e pela fase da estação de monta no período de concepção (HAFEZ & HAFEZ, 2004). O diagnóstico precoce da gestação é essencial tanto para o manejo reprodutivo, quanto para a produção econômica. Diversos métodos são empregados para o diagnóstico de gestação na espécie equina, entre os quais cita-se o não retorno ao cio, a palpação transretal, dosagens hormonais e ultrassonografia (RICKETTS, 2008).

Durante a gestação, o potro inibe a regressão do corpo lúteo, assim impede que a égua entre em cio, esse teste deve ter início 16 dias após a cobertura, assim a fêmea que não entrar em cio é considerado prenhe (JACKSON, 2005). Porém, deve-se lembrar de que algumas éguas podem não mostrar cio devido à pseudociese ou ao cio silencioso (GINTHER, 1992).

A palpação transretal é um método de diagnóstico que visa detectar o aumento uterino, que ocorre durante a gestação, assim como o feto e as membranas fetais. Esse método pode ter início na égua a partir de 25 dias após a ovulação (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

As dosagens hormonais mais utilizadas no diagnóstico de gestação na espécie equina são o sulfato de estrona e a progesterona. O sulfato de estrona é o principal estrógeno produzido pelo potro e pode ser mensurado no plasma materno, no leite ou na urina de todos os animais domésticos. Na égua, esse hormônio é detectável por volta dos 40 dias de gestação. Devido ao fato do desenvolvimento fetal liberar altas quantidades de sulfato de estrona na circulação

materna, entre os dias 75 e 100 da gestação, esse hormônio tem a vantagem sobre o eCG na determinação da viabilidade fetal (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

A progesterona pode ser coletada na égua entre os dias 16 e 22 após a ovulação e pode ser avaliada por radioimunoensaio (RIA), quimiluminescência ou por Enzyme LinkedImmuno Sorbent Assay (ELISA).

Éguas prenhes devem apresentar concentrações de progesterona superiores a 2 ng/ml. Um prolongamento na fase luteínica do ciclo em uma égua que não está prenhe pode gerar um resultado falso positivo; portanto este teste não é considerado seguro e deve ser realizado no mínimo duas vezes (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

A ultrassonografia transretal é o método mais confiável e prático para o diagnóstico da gestação. PALMER E DRIANCOURT (1980) registraram a utilização da ultrassonografia do trato genital da égua, como sendo uma técnica não invasiva e sem efeitos adversos conhecidos. Aplicada de forma direta, permite detectar alterações morfológicas e anatômicas, normais ou patológicas, dos tecidos moles ou órgãos explorados, associadas a eventos fisiológicos. Das principais utilizações da técnica nesta área, destaca-se a determinação da viabilidade do embrião, que nas fases precoces de gestação se faz, principalmente, por meio da exclusão de sinais de morte embrionária e de gestações gemelares. A avaliação do momento exato da ovulação da égua evita o desgaste do garanhão, colocando-o para cobri-la somente quando estiver pronta (SIMÕES & GINJA, 2006).

O diagnóstico por ultrassonografia na égua pode ser realizado a partir de 10 dias após a ovulação, onde é possível avaliar o tamanho do embrião e verificar sua taxa de crescimento (BUCCA et al., 2005). Nesse período, a vesícula embrionária apresenta-se como uma imagem esférica, e anecóica (preta) sobre o ultrassom (Fig.3). Frequentemente são observadas na região dorsal e ventral, manchas ecóicas (brancas) denominados reflexos especulares. Esses reflexos especulares podem auxiliar na busca de um diagnóstico precoce, mas devem ser diferenciados de alguns cistos uterinos, que também podem apresentar essa característica. Uma forma de distinguir uma vesícula de um cisto uterino é por meio da mobilidade e do crescimento do concepto (Mc KINNOW, 2011).



**Fig.3 – Imagem da vesícula embrionária no ultrassom.**

**Fonte: Arquivo pessoal (2013)**

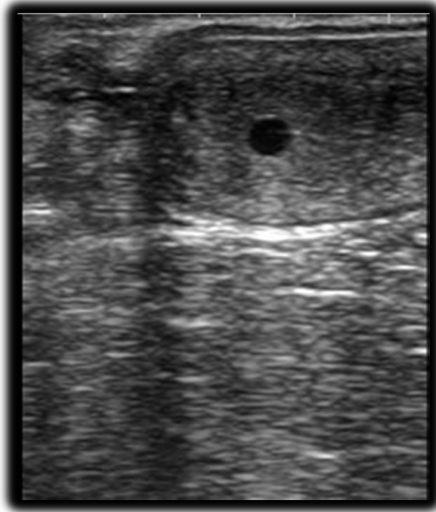
A vesícula embrionária, por volta dos 10 dias, se localiza 60% das vezes no corpo do útero e apresenta-se esférica e com um tamanho médio de 3-6 mm (Fig.4). A partir do 14º dia, o diagnóstico de prenhez positivo é totalmente seguro com a vesícula vitelínica medindo em média 15 mm (Fig.5). Nesta fase o desenvolvimento diário da vesícula alcança aproximadamente 3 mm e já no dia 16 apresenta diâmetro entre 20 e 25 mm Contudo, a velocidade de crescimento é reduzida a partir do 17º dia de prenhez (MERK et al, 1983; GINTHER, 1986; KÄHN, 1991).

A partir do dia 17, ocorre uma imobilidade do embrião em decorrência do aumento do tônus uterino e crescimento da vesícula embrionária, iniciando dessa maneira o processo de fixação da estrutura embrionária ao endométrio (GINTHER, 1986; KÄHN, 1991).

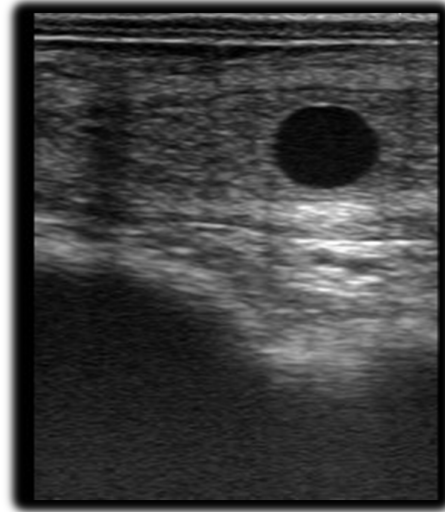
A vesícula embrionária adquire uma forma ovóide a irregular entre os dias 18 e 21 de prenhez. A partir do dia 21, o embrião é visível pela primeira vez na parte ventral da vesícula (Fig.6), porém com certa dificuldade devido a sua hiperecogenicidade, que pode ser confundida com a parede uterina (GINTHER, 1986). Entre os dias 22 e 25 caracteriza-se o ascenso embrionário, ou seja, com a formação de vesícula alantoideana na parede ventral uterina e sua progressiva expansão e redução do saco vitelínico, o embrião é deslocado para cima ate alcançar o pólo dorsal.

Com 27 dias o embrião encontra-se ainda no terço inferior da vesícula, em torno de 30 dias no meio (Fig. 7) e com 33 dias no terço superior. Aos 40 dias, o feto alcança a posição mais dorsal na vesícula, onde o cordão umbilical começa a ser formado (GINTHER, 1986). Entre 41 e 60 dias ocorre o descenso fetal para a porção ventral da vesícula, onde o feto se posiciona em

decúbito dorsal (Fig. 8). A partir desse período não é mais possível a visualização total da vesícula fetal no monitor de ultrassonografia (GINTHER, 1986).



**Fig. 4 – Embrião com 10 dias**



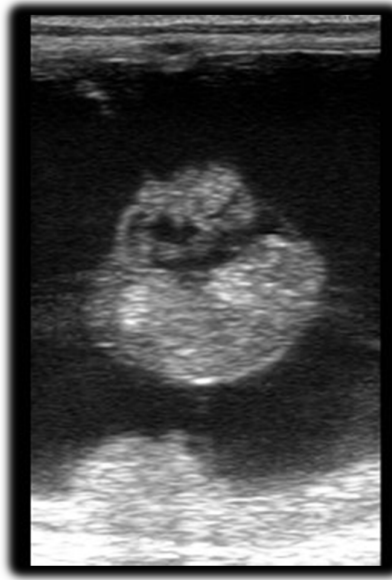
**Fig. 5 – Embrião com 14 dias**



**Fig.6 – Embrião 21 dias**



**Fig.7 – Embrião 30 dias**



Fonte: Arquivo pessoal (2013)

Fig. 8 – Feto entre 41 e 60 dias

### 2.4.3 - Endocrinologia da gestação

A gestação e o desencadeamento do parto ocorrem por uma série de eventos hormonais, que envolvem interações entre o feto em desenvolvimento, a placenta e a égua. Nos estádios iniciais da gestação (abaixo de 45 dias), hormônios da égua (progesterona, estrógenos e gonadotrofinas) produzidos pelos ovários, endométrio, cérebro e o embrião em crescimento, desempenham um papel importante no reconhecimento materno da gestação (Mc KINNON, 2011).

A placenta começa a se expandir por volta dos 40 a 120 dias, quando então assume uma função endócrina significativa, pois adquire capacidade secretora de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG). O feto se desenvolve simultaneamente com a placenta e a partir de 70 dias, já utiliza substratos obtidos da circulação placentária para sintetizar os hormônios produzidos pelas gônadas fetais (progestágenos e estrógenos). Isso representa a atividade endócrina mais significativa para a manutenção da gestação, pois assegura o desenvolvimento fetal dentro de um ambiente uterino controlado (MC KINNON, 2011).

#### 2.4.3.1 - Progesterona e derivados

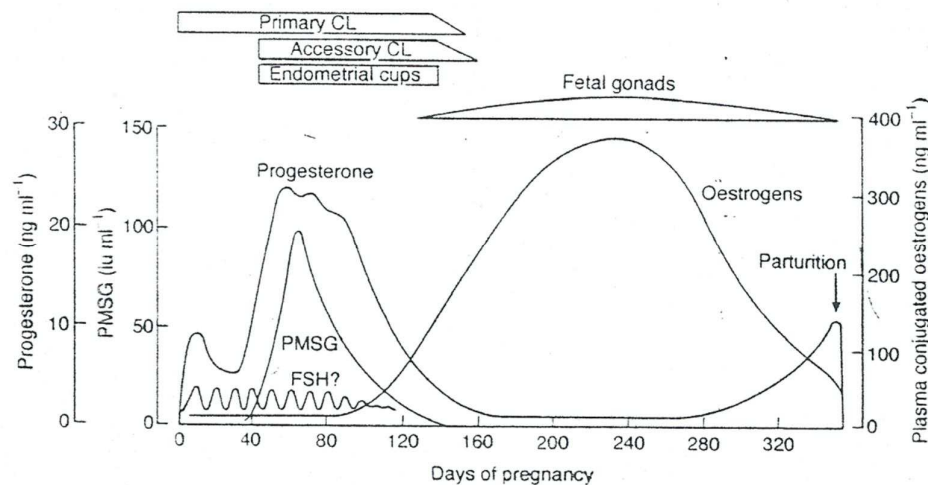
A progesterona (P4) e seus derivados são necessários para a manutenção da gestação. Altas concentrações de progestágenos bloqueiam a síntese de prostaglandina, que causaria a luteólise do principal corpo lúteo (CL) no início da gestação (MC KINNON, 2011). Estudos demonstram que a administração repetida de prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) em éguas prenhes irá

causar aborto precoce ou tardiamente, mas isso pode ser prevenido com suplementação de progesterona no início da prenhez (DAELS, et al., 1996; LEADON et al, 1982).

De acordo com DAWSON (1977), as concentrações plasmáticas de progesterona atingem um pico de 8-15 ng/mL entre 6 a 14 dias após a ovulação e sofre um declínio para cerca de 4-6 ng/mL entre os dias 30 e 35. Após os 40 dias, as concentrações de P4 aumentam, pela atividade da gonadotrofina (eCG) secretada pelos cálices endometriais em desenvolvimento, que estimulam a ovulação/luteinização de folículos secundários (ALLEN, 2001 e GINTHER, 1992).

Um aumento adicional de P4 ocorre com o desenvolvimento do primeiro corpo lúteo acessório (40-60 dias), atingindo concentrações de 8-25 ng/mL, que se mantêm aproximadamente até os 150 dias quando os corpos lúteos primários e acessórios regridem (GORDON, 1992). Na segunda metade da gestação, as concentrações plasmáticas de progesterona se mantêm baixos (<4 ng/mL), mas voltam a aumentar durante os últimos 30 a 50 dias de gestação (BARNES et al, 1975) (Gráf.1).

**Fig. 9 - Eventos endócrinos na égua gestante**



**Fonte: Allen, 1987.**

Em vista do fato de que a deficiência de progesterona pode estar relacionada à perda embrionária precoce em éguas, KNOWLES et al (1992), no Colorado, utilizou receptoras ovariectomizadas para definir claramente a função da progesterona. Resultados mostraram que baixos níveis de progesterona (1,5 ng/mL) não foram associados a baixas taxas de prenhez, e altos níveis (25,2 ng/mL) não aumentaram as taxas de prenhez acima do encontrado em éguas normais (8,8 ng/mL). No Brasil, LOPES et al (1993) estudaram concentrações de progesterona e estrógeno até o 30º dia de gestação. Encontraram éguas com altas concentrações de

progesterona, que tinham grande incidência de absorção embrionária em relação a outras éguas, e altas concentrações de estrógeno em éguas prenhas do que as que não mantinham esta prenhez.

A placenta se desenvolve como um órgão endócrino ativo, durante o seu período de expansão e fixação para o corno materno subjacente entre 40 e 120 dias de gestação. As células trofoblásticas localizadas entre o saco vitelino e o córion-alantóide se desenvolvem na cinta coriônica, que invade o endométrio materno e cria os cálices endometriais, secretando eCG até cerca de 120 dias de gestação (ALLEN et al, 1973). Quantidades crescentes de precursores esteróides, são transportados para a circulação materna-fetal e são metabolizados dentro dos tecidos fetais e da placenta, para produzir progestágenos e estrógenos, que são secretados voltando para a circulação materna (MC KINNON, 2011). Dentre os precursores de esteróides, o principal é o colesterol, que provavelmente se origina na circulação materna, atravessa a placenta, e é convertido a pregnenolona (P5) no feto, pelo citocromo P450sc, via clivagem da cadeia lateral, sendo sintetizado em diversos tecidos fetais, incluindo as glândulas adrenais, gônadas e trofoblasto (CHAVATTE *et al*, 1997; HAN X *et al*, 1995).

Durante o segundo e terceiro trimestre de gestação, maiores quantidades de precursores de esteróides são transferidos para o útero e metabolizados dentro do tecido fetoplacentária, levando a um aumento gradativo das concentrações de progestágenos (OUSEY et al, 2003). No entanto, durante as últimas semanas de gestação, as concentrações totais de progestágenos aumentam rapidamente, atingindo um pico cerca de 2 a 3 dias antes do parto, e, então, diminui durante as últimas horas antes do parto (Mc KINNON, 2011).

#### **2.4.3.2 - Estradiol**

O perfil de secreção de estrógenos na égua preta é único entre os mamíferos domésticos. Os estrógenos têm sido identificados no concepto equino a partir do 8º dia de gestação (ZAVY et al, 1979), sendo a concentração sérica aumentada de acordo com o diâmetro do concepto (CHOI *et al*, 1997). Apesar disso, as concentrações de estrogênio no soro materno permanecem baixas durante as primeiras semanas de gestação, indicando que a quantidade de estrógenos produzidos pelo concepto é utilizada no útero (TERQUI & PALMER, 1979). Os estrogênios estão presentes em elevadas concentrações (0,1-2 mg / mL) no soro materno, urina e fluido alantóide na maior parte da gestação.

Os estrogênios clássicos predominantes são estrona,  $17\beta$  - estradiol e  $17\alpha$  - estradiol e os seus sulfaconjugados, por exemplo, sulfato de estrona. O estrona e a equilina são os esteróides principais, e todos os outros estrogênios são em grande parte derivados deles pelo

metabolismo da égua. O principal precursor do estrogênio, DHEA, é produzido em grandes quantidades pelas gônadas fetais, que possuem as enzimas necessárias, P450<sub>scc</sub> e 17 $\alpha$ -OH, para converter o colesterol para DHEA (PASHEN et al, 1982; RAESIDE et al, 1979). No entanto, o tecido gonadal carece de 3 $\beta$ -HSD e aromatase, enzimas-chave na via biossintética do estrogênio. Conseqüentemente, as gônadas fetais não podem sintetizar estrogênios e, em vez disso excretam altas concentrações de DHEA para a artéria umbilical (PASHEN et al, 1982; MARSHALL et al, 1999).

Os estrogênios anel B são produzidos por uma via alternativa a partir da 5,7-androstadieno-3,17-diol e 7-desidro-DHEA, também segregado pelas gônadas fetais e também aromatizado pela placenta em 17 $\beta$ -dihidroequilina e 17 $\beta$ -equilenin (FOSTER et al, 2002; RAESIDE et al 1997; TAIT et al 1983). A produção de estrogênio não difere entre éguas transportando fetos do sexo masculino ou feminino, e as enzimas necessárias para a expressão de estrogênio são igualmente observadas nos ovários e testículos fetais (HASEGAWA et al, 2001; RAESIDE & LIPTRAP, 1975).

As concentrações totais de estrogênio no sangue materno aumentam por volta dos 80 dias de gestação e permanecem altas até os últimos três meses, quando sofrem um declínio gradual. Isto reflete o perfil do fornecimento dos precursores esteróides que aumentam e diminuem com a hipertrofia e subseqüente regressão das gônadas fetais (PASHEN et al., 1979; RAESIDE et al, 1997). HALUSKA e CURRIE (1988) informaram que a ascensão e a queda em concentrações plasmáticas de estradiol-17 $\beta$  ocorreram durante um período específico e foi relacionado a um ambiente com fotoperíodo de 13,4 h de luz/dia, ao invés da fase de gestação, que variou amplamente em suas éguas experimentais. Esta interessante observação pode ajudar a explicar a variabilidade nos perfis de estrogênio entre éguas gestantes.

Os estrogênios são agentes uterotônicos e, geralmente, opõem-se à ação da progesterona. As altas concentrações de estrogênio estão associadas com o aumento do fluxo sanguíneo, tanto durante a gestação quanto no ciclo estral da égua (BOLLWEIN *et al* 2002; 2004). Em outras espécies, os estrógenos promovem atividade miométrial, favorecendo a síntese de proteínas contrátil das células do miométrio, aumentando o acoplamento e a expressão de receptores de oxitocina, e promovendo a liberação da prostaglandina (CHALLIS et al, 2002; LEUNG et al 1999).

PASHEN & ALLEN (1979) acreditam que a função primária de grandes quantidades de estrogênios, produzidos na égua gestante, seria estimular o crescimento fetal, exercendo uma ação positiva sobre o fluxo sanguíneo uterino e placentário. Estudos demonstraram que a gonadectomia fetal em meados da gestação provoca um imediato declínio das concentrações

totais de estrogênio, e as éguas geram potros subnutridos, pois as contrações uterinas são fracas, e as concentrações de prostaglandina são baixas em comparação com as éguas controle (PASHEN et al, 1979). Estes resultados demonstram que os estrogênios são indispensáveis para a vascularização uterina e entrega de nutrientes para o desenvolvimento fetal, além de desempenhar um papel chave no trabalho de parto.

No início da gestação os estrógenos encontram-se em níveis muito baixos ( $25 \pm 16$  pg/ml), ocorrendo elevação por volta de 35 a 60 dias devido ao aumento da atividade ovariana. A partir do 80º dia observa-se incremento da concentração de estrógenos, atingindo pico ( $130/400$  pg/ml) por volta de 210 dias, proveniente da hipertrofia das gônadas fetais (TSUMAGARI *et al.*, 1991). O declínio dos estrógenos no pré-parto começa de 2 a 3 meses antes do nascimento e atinge baixos níveis no final da gestação, consequência da regressão das gônadas fetais. Embora na última semana de gestação as concentrações totais de estrogênio estejam em declínio, a liberação pulsátil do estradiol-17 $\beta$  são maiores à noite, associada à atividade do miométrio (HALUSKA & CURRIE, 1988; BARNES et al 1975; O'DONELL et al, 2003).

#### **2.4.3.3 - Relaxina**

A relaxina é um hormônio da gestação que é produzido principalmente pela placenta, especificamente nas células trofoblásticas (KLONISCH & HOMBACH, 2000). As concentrações maternas aumentam a partir de 80 dias de gestação e tendem a permanecer elevadas quando a placenta cresce (STEWART et al, 2004). Outro aumento ocorre durante o parto, o que provavelmente é iniciado pelo aumento das concentrações de ocitocina, pois as concentrações de relaxina também aumentam na sequência de administração exógena de ocitocina (STEWART et al, 2004; THORBURN, 1993). No pós-parto, as concentrações de relaxina diminuem gradualmente com a liberação da placenta, mas pode permanecer elevada se a placenta for retida. Diferença nos níveis de relaxina entre raças parece não estar relacionado com o tamanho da placenta, mas podem refletir na fisiologia da raça (STEWART et al, 1992).

#### **2.4.3.4 - Prostaglandinas**

As prostaglandinas constituem uma grande família de hormônios, produzidos a partir do precursor ácido araquidônico. Elas não são armazenadas em células, mas são sintetizados quando necessários, quando há enzimas e substratos disponíveis. As principais prostaglandinas durante a gestação no parto da égua, em comum com outras espécies, são a prostaglandina F2a (PGF2 $\alpha$ ) e prostaglandina E2 (PGE2). No início da gestação, a PGF2 é luteolítica enquanto na gestação estimula as contrações do miométrio, aumentando os níveis de cálcio intracelular

(LEADON et al. 1982; CHALLIS et al, 2000). A PGE2 promove o amadurecimento do colo do útero e é utilizada clinicamente para relaxamento da cérvix (RIGBY et al, 1998).

#### **2.4.3.5 - Glicocorticóides**

As concentrações de cortisol fetal aumentam rapidamente no final da gestação, já as concentrações de glicocorticoides maternas mudam pouco durante a gravidez. Em éguas prenhas, a concentração de cortisol é baixa, e o receptor de glicocorticoide uterino mantém-se inalterado durante toda a prenhez (CHAVATTE et al, 2000; SILVER et al 1994).

#### **2.4.3.6 - Hormônios envolvidos na lactação e desenvolvimento fetal**

A prolactina e o hormônio do crescimento são essenciais para o início da lactação na maioria das espécies de mamíferos e, se um deles não está presente, a glândula mamária não cresce ou produz leite (COWIE et al, 1980). Uma série de outros hormônios incluindo progestágenos, estrógenos, insulina e esteróides adrenais também desempenham este papel. A prolactina, juntamente com estrogênios e progestágenos, é importante para o crescimento da glândula mamária, porém altas concentrações de progestágenos podem ser suficientes para inibir a produção de leite. Porém, esses hormônios não serão discutidos com detalhes nesse trabalho.

#### **2.4.3.7 - Gonadotrofina Coriônica equina (eCG)**

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) também chamada de gonadotrofina do soro de éguas prenhas (PMSG) é produzida por células especializadas chamadas de cálices endometriais, que começam a se formar e invadir o endométrio materno aproximadamente com 35 dias de gestação (ALLEN et al, 2002). Um aumento nos níveis de eCG pode ser detectado entre os dias 35 a 42, atingindo concentrações máximas entre os dias 55 e 70 (ALLEN et al, 2002; ALLEN 1969). A regressão completa dos cálices e uma ausência de eCG ocorrem por volta dos 100 a 140 dias (COLE & HART, 1930; ALLEN, 1969).

A eCG possui atividade biológica semelhante tanto ao FSH quanto ao LH, porém, predominantemente ao FSH. A secreção da eCG estimula o desenvolvimento de folículos ovarianos e alguns chegam a ovular, mas a maioria transforma-se em folículos luteinizados, devido à ação de LH. Esses folículos luteinizados resultam em corpos lúteos acessórios, produzindo progesterona e contribuindo para a manutenção da gestação (HAFEZ, 2004).

Uma égua com gestação gemelar pode apresentar níveis elevados de eCG (ROWLANDS, 1949), ao passo que uma égua prenhe de feto muar pode possuir pouca ou

nenhuma eCG detectável, devido à rejeição imunitária inicial dos cálices endometriais (TAYLOR et al, 1980).

#### **2.4.4 - Duração da gestação**

A gestação na égua pode variar entre 310 e 340 dias. Diversos fatores podem influenciar a duração da gestação nas éguas. Dentre eles podemos citar fatores ambientais, nutricionais, raças e o sexo fetal (GINTHER, 1992). Fatores ambientais foram estudados em éguas Árabes na Califórnia, variando a duração da gestação de acordo com as estações do ano. Éguas que pariram no inverno (338 dias) e primavera (342 dias) tiveram gestações significativamente maiores do que as éguas que pariram no verão (331 dias) e outono (329 dias) (HOWELL, 1951).

Diferenças raciais na duração da gestação têm sido descritas. Variações entre 322 e 345 dias têm sido observadas para várias raças. Na raça Árabe, foram descritos valores mínimos de duração da gestação de 330,0 dias (PONOMARENKO, 1991) e máximos de 341,7 dias (VIVO et al., 1984). No Brasil, UNANIAN e PEREIRA (1991), ao estudarem a duração da gestação em 23 éguas da raça Puro Sangue Inglês e em 20 éguas Árabes mestiças, observaram médias de  $330 \pm 6,35$  (307 a 363) e  $337,5 \pm 2,47$  (317 a 361) respectivamente. No caso da raça Puro Sangue Árabe, não houve diferença na duração da gestação em razão do sexo da cria, resultado observado por VIVO et al. (1984), DERMICI (1988) e EL-WISHY et al. (1990).

#### **2.4.5 - Perdas gestacionais**

Perdas embrionárias e fetais têm sido relatadas como uma das causas da baixa eficiência reprodutiva tanto na monta natural, quanto nos programas de TE, ocasionando grandes perdas econômicas (ROCHA et al, 2007). O uso da ultrassonografia, a partir da década de 80, possibilitou o acompanhamento do embrião do 10º ao 40º dia pós-ovulação, ou seja,  $\frac{3}{4}$  do período em que ocorre a perda embrionária (VANDERWALL, 2008). GINTHER (1992) utiliza o termo embrião e morte embrionária até 40º dia de gestação, onde se observa o desenvolvimento de estruturas anexas ao conceito, como a transição do saco vitelino para o saco alantóide e a formação de cálices endometriais. Já o termo aborto se refere a todas as perdas gestacionais durante o estágio fetal, ou seja, a partir do 40º dia de gestação até os 300 dias de gestação, como recomendado pela WORKING PARTY TERMINOLOGY (1982).

### **2.4.5.1 - Mortalidade embrionária precoce**

Os fatores que podem contribuir para a ocorrência de perdas embrionárias na égua têm sido classificados como intrínsecos, extrínsecos e embrionários (BALL, 1988). Os fatores intrínsecos incluem patologias endometriais, insuficiência de progesterona, idade materna, lactação, cobertura no cio do potro, momento de inseminação em relação à ovulação, local de fixação intrauterina da vesícula embrionária e anormalidades cromossômicas maternas. Os fatores extrínsecos incluem estresse, nutrição, estação do ano e temperatura ambiental, fatores inerentes ao garanhão e ao sêmen, fatores iatrogênicos. Já os fatores embrionários incluem anormalidades cromossômicas e outros fatores inerentes ao embrião (BALL, 1988).

#### **2.4.5.1.1 - Fatores intrínsecos**

Para GINTHER *et al* (1985) o fenômeno de perda embrionária pode ser ocasionado provavelmente pela inadequação do ambiente uterino, por ocasião da chegada do embrião ao útero, entre o 5º e 6º dia. Endometrite persistente pós-cobertura ou de origem infecciosa, podem ocasionar a morte embrionária pela incompatibilidade de sobrevivência do embrião, ou pela liberação constante de prostaglandinas devido à inflamação, que lisa o corpo lúteo, diminuindo a concentração de progesterona circulante (ADAMS *et al* 1987; Le BLANC, 2003). Éguas com histórico de endometrite demonstraram taxas superiores de perdas embrionárias, quando comparadas com éguas sem histórico de endometrites (WOODS, *et al* 1987).

Anormalidades endometriais não infecciosas, como a fibrose periglandular, tem sido considerada clinicamente como um importante fator na ocorrência de perda embrionária precoce e morte fetal (KENNEY, 1978). Cistos endometriais glandulares e linfáticos também podem afetar a permanência do embrião no útero (STANTON *et al*, 2004). De maneira geral, cistos endometriais menores não são nocivos à fertilidade da égua. Porém, conforme aumenta o tamanho e/ou o número de cistos de tamanho razoável, começam a surgir efeitos negativos que afetam a mobilidade do conceito, a fixação da vesícula embrionária e a placentação. No primeiro caso ocorre o não reconhecimento materno da gestação. Há inadequado fluxo sanguíneo e fornecimento de nutrientes se há uma fixação próxima ou adjacente a um cisto. E no terceiro caso, afeta a placentação na medida em que não houver desenvolvimento microcotiledonário nas zonas em que a placenta estiver em contato com os cistos (STANTON *et al*, 2004).

A produção de progesterona durante a gestação da égua começa pela luteostase do corpo lúteo primário induzido pelo conceito, através do redirecionamento do fluxo endometrial de PGF2 $\alpha$ . Isso permanece por pouco tempo, quando o suporte de progesterona é suplementado

por um aumento na produção ovariana de progesterona, após o 40º dia pela ação do hormônio eCG, que induz à ovulação de folículos secundários, dando origem a corpos lúteos acessórios (ALLEN, 2001). GINTHER (1985) descreve que em algumas éguas um corpo lúteo funcional pode sofrer um perecimento precoce. Nesse sentido, qualquer condição que irrite o endométrio ou cause metrite, pode levar a uma luteólise precoce ativada pelo útero (VANDERWALLS, 2008) sendo que a iminente perda de prenhez pode ser contida com a administração de progesterona exógena. Porém, o tratamento deve ser continuado até que a égua forme corpos lúteos acessórios e/ou a produção fetoplacentária de progestinas inicie, em torno de 55 e 85 dias respectivamente (KNOWLES, 1993).

Em relação à idade, éguas novas (média de 4 anos) apresentaram taxas de fertilização de 90%, comparadas à éguas mais velhas (média de 18 anos) que apresentaram 85%. Entretanto, as taxas de recuperação embrionária em éguas idosas, nos dias 6 a 9 pós-ovulação, são marcadamente menores do que a de éguas novas (34% vs 54%) durante a primeira semana de gestação. Experimentos demonstraram que embriões e oócitos de éguas idosas possuem menor taxa de sobrevivência (25% e 31%) quando comparados aos embriões e oócitos de éguas novas (84% e 92%) (BALL *et al*, 1989; CARNEVALE E GINTHER, 1995).

Segundo KENNEY (1978) nenhuma categoria de égua (virgem, lactante ou vazia) tem sido identificada como susceptível a mortalidade embrionária precoce (MEP), no entanto éguas lactantes tem incidência relativamente maior de MEP quando cobertas no cio do potro, o que não se verifica quando a cobertura se dá nos cios subsequentes. Já NEWCOMBE & WILSON (2005) encontraram 34,1% de perdas embrionárias em éguas lactantes, enquanto em éguas primíparas foi menor e em éguas solteiras a metade da incidência das lactantes. Porém, esses achados não são conclusivos, pois outros eventos relacionados ao parto podem estar presentes, pois não se comparou éguas lactantes com éguas que pariram e não amamentaram.

Quanto à inseminação, WOODS *et al* (1990) verificou que éguas inseminadas mais tarde ao momento da ovulação, em relação às que foram inseminadas logo após a detecção da ovulação, apresentaram taxas mais altas de perdas embrionárias (47% vs 25%). Já BARBACINI *et al* (1999) inseminando éguas com sêmen congelado 6 horas antes ou após a ovulação, não observou diferenças nas taxas de perdas embrionárias.

Embora seja incomum, o local de fixação da vesícula embrionária também pode resultar em perda embrionária, quando ocorre de forma errônea. Um estudo realizado por JOBERT *et al* (2005) mostrou que de 30 prenhez que se fixaram no corpo uterino, ao invés do corno, apenas 10 chegaram a termo. Anormalidades cromossômicas em éguas saudáveis e fenotipicamente

normais também são descritas como responsáveis pela perda embrionária precoce (LEAR *et al*, 2008).

Variações de MEP entre raças também são observadas. ROCHA (2007) relatou na raça Mangalarga Marchador, taxas de perdas embrionárias aos 30, 45 e 60 dias, sendo encontrados valores de 4,8%, 9,0% e 12,2%, respectivamente. Já LOPES *et al* (1993) investigaram a morte embrionária em éguas Quarto-de-Milha (QM), Puro Sangue Inglês e Mangalarga Paulista e assinalaram perdas de 13,28% para o período de 10 a 30 dias. DUARTE *et al* (2002) relatou perdas na raça QM entre os dias 11 e 20, de 8,53%, não havendo diferenças entre éguas falhadas, potrancas e paridas, porém apresentando uma maior susceptibilidade de ocorrer perdas entre a segunda e terceira semana de gestação. Similarmente FERREIRA *et al* (1999) registraram proporções mais elevadas de perdas na fase inicial da gestação em animais da raça Campolina. De um total de 103 éguas prenhes, estes autores verificaram morte embrionária em 7 animais (6,83%), sendo que, em três destes, as perdas ocorreram entre 15 e 20 dias. Essas taxas são compatíveis com os valores descritos para éguas férteis, que variam de 5 a 45% de perdas (BALL, 1993).

#### **2.4.5.1.2 - Fatores extrínsecos**

O estresse materno pode contribuir para a ocorrência de perda embrionária precoce. VAN NIEKERK & MORGENTHAL (1982) apud BALL (1988) relataram um aparente declínio abrupto nas concentrações de progesterona periféricas totais em éguas que passaram por estresse relacionado à dor, doença infecciosa ou desmame durante a gestação. Esse declínio das concentrações seria devido à liberação de cortisol. NEWCOMBE e WILSON (2005) sugeriram que o estresse social, principalmente em éguas recém-incluídas no lote de cria, também pode contribuir para perda embrionária. Além disso, o estresse ocasionado por transporte também pode colocar a gestação em risco (VILLAHUZ, 1985).

A nutrição parece ser um fator primordial para o sucesso de uma gestação. HENNEKE *et al* (1984) observou que éguas que perderam condição corporal 90 dias antes do parto e mantiveram essa condição baixa por 90 dias pós-parto tiveram, entre os dias 30 e 90 de gestação, uma taxa de perda embrionária de 75%. VAN NIEKERK E VAN NIEKERK (1998) verificaram a influência da nutrição na ocorrência de MEP. Observaram que 35,7% de MEP em éguas alimentadas com dieta pobre em proteína e 7,3% em animais que receberam níveis adequados de proteína. Para somar aos estudos, NEWCOMBE e WILSON (2005) encontraram 71% das éguas que mantiveram prenhez ganharam peso durante a temporada reprodutiva, enquanto 58% das éguas que perderam a gestação entre 14 e 45 dias perderam peso durante a estação reprodutiva.

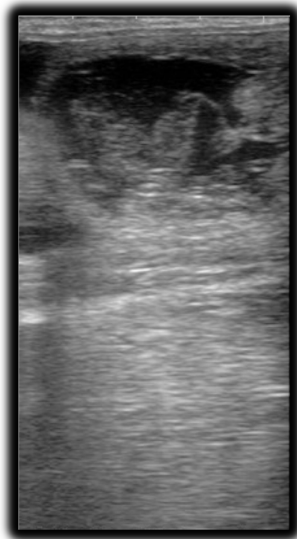
#### **2.4.5.1.3 - Fatores embrionários**

O aumento na idade materna está associado ao decréscimo na qualidade dos oócitos, o que pode refletir alterações cromossômicas ou outras mudanças no oócitos que aparentemente não afetam as taxas de fertilização, mas elevam muito a incidência de perda embrionária precoce em éguas idosas (CARNEVALE E GINTHER, 1995).

Anomalias cromossômicas têm sugerido ser a maior causa de mortalidade embrionária em todas as espécies (BISHOP, 1964). Anomalias cromossômicas envolvendo blastocistos triplóides e tetraplóides foram observados em embriões bovinos e suínos (Mc FEELEY, 1968).

#### **2.4.5.1.4 - Diagnóstico e acompanhamento ultrassonográfico da Mortalidade Embrionária Precoce**

A disseminação de aparelhos de ultrassom facilitou o acompanhamento da gestação inicial em éguas. A detecção precoce de perda embrionária pode ser feita pela realização de exames sequenciais com ultrassonografia transretal, a cada 10 ou 14, entre o 14° e o 40° dia de gestação. Segundo GINTHER *et al* (1985) e BALL (1987 *apud* VANDERWALL, 2008) possíveis indicações de perda embrionária incluíram: vesícula embrionária menor do que o normal; mobilidade prolongada (além do dia 16) do embrião; formato irregular da vesícula; edema excessivo das pregas endometriais; presença de fluído no lúmen uterino (Fig. 9); deslocamento da vesícula, com perda de fluído; falta de desenvolvimento do embrião; ausência de batimentos cardíacos no embrião (após dia 24-25); aumento na ecogenicidade do fluído no concepto e desenvolvimento anormal das membranas fetais. Muitas perdas entre os dias 11 e 20 não apresentaram sinais detectados por GINTHER *et al* (1985) através da ultrassonografia, havendo apenas, o simples desaparecimento da vesícula sem nenhum indicativo.



**Fig. 10 – Mortalidade embrionária aos 58 dias de gestação**

**Fonte: Arquivo pessoal (2013)**

Avanços na ultrassonografia criam expectativas com o uso de ultrassom Doppler. HEINRICH et al (2002) demonstraram diferenças no fluxo sanguíneo uterino entre éguas prenhes e não prenhes ao 11º dia pós-ovulação. Segundo GINTHER e MATTHEW (2004), a ultrassonografia de Doppler pode ajudar o clínico a fazer julgamentos para a probabilidade de perda embrionária.

#### **2.4.5.2 - Abortos e natimortos**

O fracasso de uma gestação representa uma série de perdas financeiras e de melhoramento genético. Além disso, compromete a saúde reprodutiva da égua, seja causando danos imediatos e temporários, ou tardios e permanentes (Mc KINNON, 2011). Mesmo monitorando a égua gestante e o ambiente, muitas vezes não é possível identificar a ocorrência do aborto. Após quatro meses de gestação, o material abortado é mais provável de ser encontrado, principalmente quando os funcionários estão atentos na observação da égua (Mc KINNON, 2011).

Entre as causas envolvidas temos as de origem não infecciosa e as de origem infecciosa. Entre os abortos de origem não infecciosa a causa mais comum seria a prenhez gemelar. Gêmeos equinos geralmente são originados de ovulações múltiplas, mais frequentes no Puro Sangue de Corrida do que em outras raças (GINTHER, 1989). Registros demonstram que as gestações gêmeares respondem por aproximadamente 40% das causas de aborto (MERKT,

1982) sendo a morte fetal ocasionada principalmente pela insuficiência placentária (ACLAND, 1993).

Anormalidades placentárias são particularmente importantes em éguas mais velhas, onde se verifica um maior comprometimento do endométrio que pode ser comprovado por biópsia uterina. Éguas que apresentam extensa fibrose endometrial por muitas vezes são capazes de emprenhar, mas a gestação nem sempre vai a termo. Podemos ainda verificar anormalidades no cordão umbilical como torções, com conseqüente interrupção do afluxo sanguíneo para o feto, resultando em abortos por volta dos 7 aos 10 meses (ACLAND, 1993).

A deficiência de progesterona tem sido por várias vezes incriminada como causa de aborto em éguas. Apesar de a progesterona ser o principal hormônio ligado a manutenção da gestação, sendo inclusive indicada como agente terapêutico em situações de prenhez de maior risco, a simples aferição dos níveis séricos da mesma não ampara um diagnóstico definitivo. Na maioria das vezes a deficiência de progesterona seria conseqüente a alguma anormalidade da placenta, que é a principal fonte deste hormônio a partir dos 90 dias de gestação (ALLEN, 1993).

Abortos de origem infecciosa podem ser contagiosos ou não. A principal causa infecciosa e não contagiosa de aborto seria a placentite, que representa uma ameaça à viabilidade fetal. A placentite ascendente representa mais de 30% de partos prematuros e perdas dentro das primeiras 24 horas de vida (LE BLANC *et al.*, 2004). É comumente causada por bactérias ascendentes através da vagina, mas também pode introduzir no útero por uma rota hematogênica. Os patógenos bacterianos encontrados mais frequentemente na placentite equina são: *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, e espécies de *Leptospira*. *Aspergillus fumigatus* e outras espécies de *Mucor* são diagnosticadas como as causas mais comuns de aborto micótico em éguas (Mc KINNON, 2011). Os sinais clínicos mais comuns de placentite são o desenvolvimento prematuro do úbere (com ou sem fluxo de leite) e descarga vulvar.

O monitoramento através da ultrassonografia tem sido uma ferramenta auxiliar para o diagnóstico da placentite. A ultrassonografia no final da gestação da região caudal do córionantóide oferece uma excelente imagem da placenta próxima à estrela cervical. A região da estrela cervical é mais afetada em éguas com placentite ascendente, por isso seu monitoramento pode dar uma indicação de doença clínica ou subclínica. A área analisada nesta região é o combinado do útero e da membrana córionantóica a partir da placenta (Mc KINNON, 2011). Esta unidade tem sido chamada de junção útero-placentária (JUP) e será discutida mais adiante.

Os abortos de origem infecciosa também podem ser contagiosos como os causados por Herpesvírus tipo I e Leptospirose, mas estes não serão abordados nesse trabalho.

## 2.4.6 - Placenta

### 2.4.6.1 - Placentação

A placenta da égua é classificada como epiteliocorial, difusa, microcotiledonária e adeciuada (ABD-ELNAEIM *et al.*, 2006). Na égua, a aderência placentária ocorre somente por volta dos dias 24 a 40 (HAFEZ E HAFEZ, 2004). Este tipo de placentação é não invasivo e produz uma mínima resposta celular materna (GINTHER, 1992; GERSTENBERG *et al.*, 1999). A placenta equina é classificada como epiteliocorial, uma vez que o epitélio uterino está em contato com a camada do córion, apresentando, portanto, seis camadas de tecido entre os capilares materno e fetal (endotélio, tecido conjuntivo e epitélio), por isso, nesta espécie não ocorre passagem de imunoglobulinas da mãe para o feto, sendo a administração do colostro muito importante. A classificação difusa se deve ao fato de que a vilosidade do córion está distribuída uniformemente sobre toda a superfície de tecido materno, formando pequenos agrupamentos dos vilos aparentando microcotilédones (ALLEN *et al.*, 2002). A característica adeciuada da placenta se deve ao fato de não ocorrer perda de tecido materno durante o parto (GINTHER, 1992; GERSTENBERG *et al.*, 1999).

A adesão precoce ocorre por meio de uma interdigitação entre a superfície epitelial da vesícula embrionária e o revestimento uterino. Com a contínua expansão da placenta por todo o útero, a justaposição dos microvilos do córion com o epitélio uterino torna-se mais complexa para permitir o aparecimento de milhares de estruturas microcotiledonárias que prendem firmemente a placenta (GINTHER, 1992; SHARP, 2000; ALLEN, 2001; ALLEN *et al.*, 2002a; HAFEZ E HAFEZ, 2004).

A placentação envolve um aumento e uma reorganização consideráveis em ambos os tecidos, materno e fetal (GERSTENBERG *et al.*, 1999). Como estruturas distintas da placenta equina madura, os microcotilédones são completamente formados no quinto mês de gestação. As dobras primárias do trofoblasto são subdivididas com a progressão da gestação. Estas modificações são reflexos das estruturas das criptas maternas que recebem os vilos fetais. Dentro de cada microcotilédone, os epitélios coriônico e uterino estão em contato íntimo e a junção do microvilo é formada entre os limites materno-fetais (ALLEN, 2001; HAFEZ E HAFEZ, 2004; ABD-ELNAEIM *et al.*, 2006).

Cada microcotilédone é suprido por uma artéria maternal e uma equivalente artéria da placenta fetal (ALLEN, 2001; WILSHER E ALLEN, 2003). As funções da placenta são diversas e incluem nutrição e respiração fetal (ABD-ELNAEIM *et al.*, 2006), retirada de detritos e segurança de que o feto seja protegido da resposta imune materna, que é direcionada contra o feto ou antígenos placentários (GINTHER, 1992). Em éguas a gestação gemelar é rara, devido à competição entre as placentas pelo contato com o endométrio materno, resultando em

insuficiência placentária para ambos os conceitos. A perspectiva é que ocorra morte embrionária no início da gestação ou que o feto em desvantagem morra durante a segunda metade da gestação, dando início ao abortamento (GINTHER, 1992; ALLEN E STEWART, 2001). A placenta microcotiledonária e o endométrio inteiramente funcional são pré-requisitos essenciais para uma gestação normal na égua e produção de um feto sadio e bem desenvolvido (GINTHER, 1992; ALLEN e STEWART, 2001; WILSHER E ALLEN, 2003).

#### **2.4.6.2 - Junção útero- placentária**

A junção uteroplacentária (JUP) é a região situada entre o útero e a membrana córionialantóide da placenta. Essa região é a mais afetada em éguas com placentite ascendente. É importante obter todas as mensurações da JUP no aspecto ventral do corpo uterino, uma vez que o edema fisiológico no dorso do córionialantóide tem sido observado em éguas gestantes normais durante o último mês de gestação (MC KINNON, 2011).

A placentite ascendente pode resultar em aborto (TROEDSSON, 2001) ou em parto prematuro (<300 dias), sendo este tempo inviável para a maturação dos sistemas orgânicos, podendo causar significativo retardo no crescimento intrauterino, produzindo um potro inviável ou letárgico (BAIN, 2004). A dificuldade em se tratar corretamente é parcialmente atribuída à seleção terapêutica, mas também à incapacidade de diagnosticar a doença de maneira precoce, antes que essas perdas se tornem irreversíveis (MACPHERSON, 2008). TROEDSSON *et al.* (1997) e CÓLON (2008) descreveram que o espessamento da junção útero-placenta (JUP) da metade para o final da gestação sugere insuficiência placentária e possível aborto. Os autores concluíram que a avaliação ultrassonográfica transretal da junção útero placenta pode diagnosticar precocemente uma placentite.

A ultrassonografia transretal da placenta é mais precisa para identificar éguas com infecção placentária durante a gestação tardia, porque mais de 90% das infecções placentárias são ascendentes (LE BLANC *et al.*, 2004). A JUP deverá ser medida entre o meio do ramo da artéria uterina e o fluido alantóide (TROEDSSON & SAGE, 2001).

Alguns limites na JUP relacionados ao tempo de gestação podem ser indicativos de placentite (Tab. 2). Quando se encontram > 8 mm entre os dias 271 e 300, > 10 mm entre os dias 301 e 330 e > 12 mm após 330 dias, têm sido associados com insuficiência placentária e tendência a aborto (TROEDSON *et al.* 1997; RENAUDIN *et al.*, 1999).

**Tab. 2 - Limites superiores normais para a espessura da junção útero-placentária (JUP) durante o final de gestação.**

<b>Duração da gestação</b>	<b>JUP normal</b>
151-270 dias	< 7 mm
271-300 dias	< 8 mm
301-330 dias	< 10 mm
331 -	< 12 mm

Fonte: Mc KINNON (2011)

Em alguns casos de placentite, um fluido hipercóico (material purulento) pode ser notado separando o útero da placenta. Parâmetros adicionais podem ser avaliados usando a ultrassonografia transretal e incluem mudanças no espessamento da membrana amniótica e alterações no fluido amniótico (TROEDSON et al 1997; RENAUDIN et al, 1999).

Em éguas Puros Sangues Inglêss, foram encontrados valores médios de 3.28 mm (145 dias), 3.38 (acima de 160 dias) e 4.72 mm (> 225 dias). Embora estes resultados sejam bem inferiores aos relatados na literatura, as éguas não apresentaram nenhuma anormalidade placentária (FINGER *et al*, 2009).

#### **2.4.7 - Avaliação embrionária e fetal**

A gestação na espécie equina pode ser explorada com sucesso por ultrassonografia a partir de 12 dias de gestação. O acompanhamento precoce da gestação equina visa impedir a implantação de várias vesículas embrionárias, detectar sinais precoces de iminente perda embrionária e determinação do sexo fetal. O exame ultrassonográfico deve ser realizado com a égua contida num ambiente calmo e descontraído. Os achados ultrassonográficos são utilizados para estimar o tempo de gestação e avaliar o crescimento fetal.

Mensurações como a vesícula embrionária, o comprimento do corpo, o diâmetro torácico e a órbita ocular são alguns dos parâmetros mais utilizados. Outras medidas como batimento cardíaco, avaliação do sistema gastrointestinal e diâmetro aórtico não serão abordados neste momento.

##### **2.4.7.1 – Vesícula embrionária**

A vesícula embrionária é visível pela primeira vez, na maioria das éguas a partir de 10 dias de gestação. Nesse período ela é visualizada como uma pequena vesícula esférica, com diâmetro entre 4 e 5 mm e apresentando espaço vesicular anecóico com reflexão especular. No 11º dia, a vesícula se desenvolve atingindo 6 a 9 mm (GINTHER, 1986).

A partir de 14 dias a vesícula vitelínica tem tamanho médio de 15 mm. Nesta fase, o desenvolvimento diário da vesícula alcança aproximadamente 3 mm e já no dia 16 apresenta diâmetro entre 20 e 25 mm. Contudo, a velocidade de crescimento é reduzida a partir do dia 17 de prenhez. A partir dos dias 18 a 21, a vesícula embrionária assume uma forma ovóide a irregular (MERKT et al, 1983; GINTHER, 1986; KÄHN, 1991).

#### **2.4.7.2 - Embrião**

O embrião é visível pela primeira vez na parte ventral da vesícula, aproximadamente em torno de 21 dias (MERKT et al, 1983; GINTHER, 1986; KÄHN, 1991) (Fig.10). Entre os dias 22 e 25 caracteriza-se o ascenso embrionário, ou seja, com formação de vesícula alantoideana na parede ventral uterina e sua progressiva expansão.



**Fig. 11 – Embrião na região ventral da vesícula com 21 dias**

**Fonte: Arquivo pessoal (2013)**

#### **2.4.7.3 - Feto**

##### **2.4.7.3.1 - Comprimento crânio-caudal e diâmetro torácico**

A mensuração crânio-caudal (CR-CD) é realizada traçando uma linha da crista cranial externa até o processo espinhoso da vértebra sacral. Já a mensuração do diâmetro torácico, traça-se uma linha tomando por base o 6º espaço intercostal, logo abaixo do coração. Ambos os parâmetros são utilizados para estimar a idade fetal, assim como acompanhar o seu desenvolvimento.

### 2.4.7.3.2 - Órbita ocular

As mensurações dos diâmetros orbitais têm sido relatadas para diferentes estádios de gestação e demonstram uma significativa relação com a idade gestacional (Tab. 3).

**Tab. 3 - Diâmetro da órbita ocular fetal durante toda a gestação.**

<b>Período de gestação (dias)</b>	<b>Soma dos diâmetros orbitais</b>
60-90	20.34 ±1,27
91-120	31.26 ± 3.75
121-150	39.76±2.79
151-180	46.31±3.47
181-210	52.68±4.0
211-240	58.76±3.99
241-270	61.68±2.97
271-300	65.76±3.43
301-330	69.4±1.71
331-360	70.06±0.11

**Fonte: Mc KINNON (2011)**

O olho é um indicador pobre de idade fetal e o tamanho da órbita ocular oferece apenas uma estimativa aproximada de crescimento fetal em relação á gestação avançada. No entanto, um estudo recente em éguas pôneis gestantes emprega a medição do olho fetal (corpo vítreo) para a previsão de data de parto.

No estudo realizado por TURNER et al (2006), onde comparam o comprimento das órbitas entre pôneis e equinos de raças de sela e tração leve (*Light horses*), foi comprovada a diferença de desenvolvimento entre elas, onde o comprimento orbital de pôneis foi menor do que os “Light horses” durante o mesmo período gestacional. Éguas da raça Crioula apresentam desenvolvimento fetal diferente de outras raças, apresentando diferentes medidas de órbitas oculares (LAU et al, 2010).

## **2.5 - Técnicas de dosagens hormonais**

A quantificação das concentrações séricas hormonais pode ser realizada através de diversos métodos. Dentre os mais utilizados, citam-se o radioimunoensaio e a quimiluminescência, sendo este último o selecionado para a execução deste trabalho.

A quimiluminescência é um método imunológico baseado na emissão de energia luminosa a partir de uma reação química. Ela quantifica antígenos e anticorpos presentes em fluidos corporais, sendo muito utilizada na dosagem de hormônios (EDWARDS, 1999).

O método de quimiluminescência possui uma elevada sensibilidade e especificidade, sendo considerado um exame automatizado e rápido. Permite realizar análise de várias amostras e quantificação de diferentes moléculas de uma só vez e se baseia na ligação de antígeno-anticorpo. Um dos dois reagentes é conjugado a uma substância que, quando ativada, emite luz visível e esta é proporcional ao reagente pesquisado. A quantidade de progesterona e estradiol presente na amostra é determinada a partir de uma curva de calibração que acompanha o “kit” comercial, sendo a concentração destes hormônios expressa em pg/ml ou ng/ml (EDWARDS, 1999).

Pelo fato da quimiluminescência ser um procedimento simples, de fácil execução, e custo relativamente baixo (utiliza pequenas quantidades de reagentes) sua aplicação na quantificação hormonal tem sido utilizada com frequência (REBOUÇAS, 2010).

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 - Seleção dos animais e local do experimento**

Foram utilizadas 62 éguas receptoras da raça Mangalarga Marchador, com idade entre quatro e quinze anos, com peso aproximado de 400 kg. As éguas foram mantidas em regime extensivo, alimentadas com *Panicum maximum* cv. Mombaça, sal mineral e água à vontade. Todas as éguas gestantes seguiram rotina de vermifugação e vacinação. O experimento foi conduzido no Haras Laglória, situado em Muriaé - MG, 21° 07' 50" S e 42° 21' 59" W, á 100 km de Viçosa - MG durante o período de Agosto de 2011 a Janeiro de 2013.

As éguas foram avaliadas no decorrer da gestação, por meio de dosagens hormonais (progesterona e estradiol) e exames ultrassonográficos.

### 3.2- Critérios para utilização das receptoras

Os ovários das receptoras foram avaliados diariamente a partir de um folículo de 35 mm e as ovulações anotadas assim que ocorreram. Considerando como D0, o dia da ovulação, utilizaram-se receptoras variando entre D2 e D9 para a transferência do embrião. Esta data foi utilizada segundo a disponibilidade da receptora em relação à doadora. Todas as receptoras foram avaliadas quanto às seguintes características reprodutivas: tônus uterino e cervical; ecotextura e edema uterino; diâmetro do corpo lúteo; e presença de folículos nos ovários. A seleção das receptoras se baseou na avaliação subjetiva (LOURENÇO, 2011 - COMUNICAÇÃO PESSOAL):

- Tônus uterino: foi avaliado por palpação transretal pela compressão digital, cuja classificação variou de zero a três (0 a 3), na qual a classificação zero (0) correspondeu ao útero sem tônus (flácido), um (1) com pouco tônus, dois (2) com tônus moderado e três (3) correspondeu ao útero firme, com tônus máximo.
- Tônus da cervix: foi avaliado por palpação transretal pela compressão digital, cuja classificação variou de um a quatro (1 a 4), em que um (1) correspondeu a cervix sem tônus (flácida) considerada aberta, dois (2) com pouco tônus, três (3) com tônus moderado e a classificação quatro (4) correspondeu a cervix firme, considerada fechada, com tônus máximo.
- Ecotextura uterina: foi avaliada por meio de ultrassonografia transretal e classificada por meio de sistema de escores, variando de zero a três (0 a 3), no qual o escore zero (0) indica uma ecotextura bastante homogênea, característica de diestro (ausência total de edema, útero sem pregueações endometriais), um (1) com pouco edema, dois (2) com edema moderado e o escore três (3) uma ecotextura bastante heterogênea, característica de estro (edema endometrial intenso com pregas endometriais bastante evidentes).
- Ovários: nos ovários das éguas receptoras foi observada a presença de um ou mais corpos lúteos e o diâmetro do maior folículo, e ainda se algum dos ovários estava polifolicular indicando o surgimento ou o crescimento de uma nova onda folicular.
- Corpo Lúteo: as características do corpo lúteo foram avaliadas com o uso do ultrassom. A ecogenicidade do CL foi avaliada e seus valores variaram de um (1), grau de menor ecogenicidade, a quatro (4) grau de maior ecogenicidade. Foram também medidos o maior diâmetro do CL.

Como critério de seleção optou-se pelas éguas receptoras que apresentassem pontuação entre seis (6,0) e oito (8,0) na soma de todos os parâmetros avaliados; sendo que das 62 éguas, 67% (42) tiveram pontuação igual ou acima de 7,5. Essa pontuação reuniu-se as melhores características de diestro observadas de acordo com a metodologia descrita anteriormente.

### **3.3 Uso de receptoras com P4 exógeno**

A técnica de transferência de embrião requer uma perfeita sincronia entre doadora e receptora. No entanto, algumas vezes essa sincronia não ocorre de forma eficiente, sendo necessário utilizar éguas acíclicas tratadas com uma terapia hormonal.

A terapia com progesterona tem uma enorme aplicabilidade na reprodução equina, atuando na sincronização e regulação do estro, no tratamento de patologias reprodutivas, na manutenção da prenhez e como coadjuvante na inovulação de embriões. O primeiro pesquisador a reportar o uso de um progestágeno sintético via oral, Altrenogest, para o controle do estro e ovulação na égua foi Webel (1975). Desde então, surgiram diversas citações desta aplicação hormonal (Neely, 1988; Allen *et al.*, 1980 e Squires *et al.*, 1983) e diferentes veículos de administração têm sido desenvolvidos.

Recentemente, um preparado de veículo oleoso, progesterona de longa ação (P4LA) tem sido usada com sucesso em éguas com disfunção luteal, sendo realizadas aplicações (1500 mg P4) em intervalos de 7 dias mantendo as concentrações séricas de progesterona em níveis adequados a manutenção da prenhez, sem que haja necessidade da presença do corpo lúteo (Bringel *et al.* 2003). Caiado *et al.* (2007) demonstraram que receptoras quando tratadas com progesterona exógena podem ser utilizadas em um momento mais precoce do ciclo, administrando progesterona de ação diária em receptoras a partir do dia da ovulação (D0).

A utilização de novos veículos biodegradáveis de liberação lenta controlada associados à progesterona mantém os níveis plasmáticos deste hormônio por 6 a 8 dias através de uma única aplicação injetável semanal. (Losinno *et al.*; 2006).

No presente trabalho foram utilizadas cinco receptoras suplementadas com P4 exógena. O protocolo utilizado se baseou na administração de 5, 3 e 2 mg de Benzoato de Estradiol respectivamente e com aplicação semanal de 1500 mg de Medroxiprogesterona por via intramuscular em injeções contínuas até 100 dias de gestação, perfazendo um total de 13 aplicações. O protocolo hormonal teve início no dia da ovulação da doadora.

### **3.4 - Coleta de dados**

As coletas de sangue e as avaliações ultrassonográficas das éguas receptoras foram realizadas simultaneamente em períodos pré-determinados da gestação. Os períodos estabelecidos de coletas e avaliações são descritos a seguir:

- Dia da inovulação do embrião na receptora (DI): foram utilizadas receptoras com dois (D2) a nove (D9) dias após a ovulação.
- Dia 13 após a ovulação (D13) da doadora: quando foi realizado o diagnóstico de gestação.
- D21 e D30: Período onde ocorre a fixação do embrião no útero.
- D37 e D45: Início da formação dos cálices endometriais, placenta e corpos lúteos acessórios.
- D60 e D90: Início da produção de estradiol pela gônada fetal e regressão dos cálices endometriais.
- D120 e D210: Início da produção de progesterona pela placenta e regressão dos corpos lúteos acessórios.
- D240 e D330: Alterações hormonais de progesterona no pré-parto.

O sangue foi coletado via punção da veia jugular, utilizando-se agulha 25 x 8 mm e tubos para coleta a vácuo sem anticoagulante. Após a coleta, o sangue foi centrifugado por 10 min a 2360 G numa centrífuga Centribio 80-2® B. O soro obtido foi identificado e criopreservado em freezer à -20 °C para posteriores análises hormonais.

Todas as avaliações ultrassonográficas foram simultâneas às coletas sanguíneas, com exceção do dia do diagnóstico de gestação, com auxílio de um equipamento de ultrassonografia para uso Veterinário (MINDRAY DP-2200 VET), usando transdutor linear transretal de 10,0 MHz. Foram analisadas características uterinas, ovarianas, embrionárias e placentárias.

### **3.5 Avaliações embrionárias e fetais**

#### **3.5.1 Classificação dos embriões**

Foram avaliados no dia da transferência 72 embriões, com lavados realizados entre os dias D7 e D10 após a ovulação, sendo que apenas 62 gestações foram monitoradas. Os embriões foram avaliados e classificados num estereomicroscópio binocular Coleman®, para transferência de embriões, num aumento de 40X. A classificação foi realizada de acordo com as normas da IETS (International Embryo Transfer Society), descritas por Mc KINNON &

SQUIRES (2012). A mensuração dos embriões se deu com auxílio de uma ocular graduada acoplada ao estereomicroscópio e a medida em micras. Como se trata de um haras comercial, algumas das receptoras gestantes foram comercializadas no decorrer do trabalho, impossibilitando assim o acompanhamento destas até o final da gestação.

### **3.5.2 Mensuração das vesículas embrionárias**

Sessenta e duas vesículas embrionárias foram mensuradas, pela primeira vez, por volta dos 11 dias de idade do concepto, quando foi realizado o diagnóstico de gestação. A partir daí foram realizadas avaliações até aproximadamente 40 dias de idade, quando então começou a mensuração do concepto propriamente dito. Após a localização da vesícula embrionária a imagem foi congelada e traçado uma linha transversal á vesícula, resultando na medida do diâmetro vesicular (MOURA & MERKT, 1996).

### **3.5.3 Comprimento crânio-caudal e diâmetro torácico dos conceptos**

A mensuração do concepto iniciou por volta dos 20 dias de idade, quando ocorreu seu aparecimento como um nódulo hiperecogênico ventral à vesícula. Foram mensurados 62 conceptos, entre 25 e 50 dias de idade. Inicialmente foi realizada a mensuração crânio-caudal, traçando uma linha da crista cranial externa até o processo espinhoso da vértebra sacral (Fig. 11), sendo esta dada em milímetros (mm), conforme descrito por KAHN (1994). Alguns conceptos, em determinados períodos, não foi possível ser mensurados, devido à posição em que se encontravam.



**Fig. 12 – Local da mensuração crânio-caudal nos conceptos**

**Fonte: Arquivo pessoal (2013).**

Por volta dos 30 dias, iniciou-se a mensuração do diâmetro torácico descrita por BINGHAM (1990), tomando por base o 6º espaço intercostal, logo abaixo do coração (Fig. 12). Foram analisadas as mensurações do diâmetro torácico de 44 conceptos, entre 31 a 98 dias de idade. Alguns conceptos, em determinados períodos, não foi possível ser mensurados, devido à posição em que se encontravam, dificultando o acesso à região determinada.



**Fig. 13 – Local da mensuração do diâmetro torácico no conceito.**

**Fonte: Arquivo pessoal (2013).**

### **3.5.4- Diâmetro da órbita ocular fetal**

Foram realizadas as medições de órbita ocular fetal, num total de 50 fetos, a partir de 85 dias de gestação. Para a mensuração da órbita ocular fetal o transdutor foi posicionado da esquerda para a direita ao longo do útero, iniciando na região da cérvix, ate que a órbita fosse identificada. Depois de identificada, a imagem é congelada e o diâmetro da orbita obtido. Para padronizar as medidas, a mensuração foi em milímetros (mm) e realizada paralela ao cristalino (Fig. 13), conforme descrito por TURNER et al (2006).



**Fig. 14 – Região de mensuração da órbita ocular fetal**

**Fonte: Arquivo pessoal (2013)**

## **3.6 - Avaliações da égua gestante**

### **3.6.1 - Alterações ovarianas**

Os ovários foram avaliados quanto à presença de crescimento folicular, formação de corpos lúteos primários e acessórios, e formação de folículos hemorrágicos anovulatórios. As estruturas ovarianas de ambos os ovários foram quantificadas e mensuradas, por meio da palpação transretal e exames ultrassonográficos.

### 3.6.2 - Alterações uterinas

Anormalidades uterinas como líquidos, infecções e cistos no útero das éguas receptoras foram anotadas.

### 3.6.3- Alterações placentárias

#### 3.6.3.1 - Junção útero-placentária (JUP)

Foi avaliada a junção útero-placentária (JUP) de 55 éguas. As medidas da espessura da junção útero-placentária foram realizadas por meio de exames ultrassonográficos transretal, entre o meio do ramo da artéria uterina e o fluido alantóide (Fig. 14). Foi utilizada a técnica de TROEDSSON & SAGE (2001) modificada, onde se mensurou um ponto médio da JUP, próximo à estrela cervical. A mensuração foi em milímetros, sendo a primeira medida realizada aos 150 dias de gestação e as demais feitas a cada 30 dias até a proximidade do parto (330 dias).

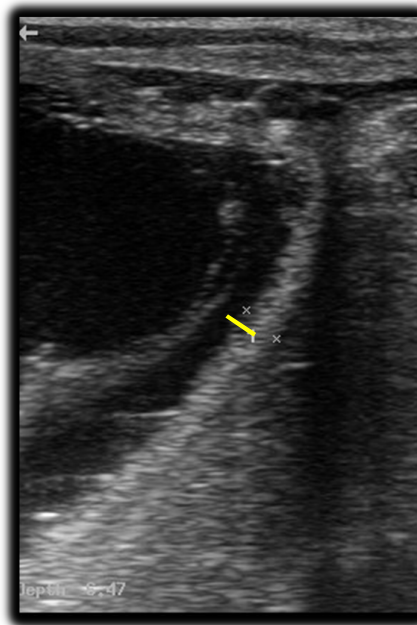


Fig.15 – Local de mensuração da junção útero-placentária

Fonte: Arquivo pessoal (2013)

### **3.7- Dosagens Hormonais**

As concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol foram determinadas por quimiluminescência (Access Immunoassay System), utilizando respectivos “kits” comerciais (Access Progesterone 33550 e Access Estradiol 33540), empregando o aparelho Immulite da Siemens®, do Laboratório de Reprodução Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (DZO/UFV).

#### **3.7.1- Progesterona**

Foi analisada a progesterona de 62 éguas, sendo as coletas realizadas nos dias DI (Dia da involução), D13, D21, D30, D37, D45, D60, D75, D90, D120, D150, D180, D210, D240, D270, D300 e D330 após a ovulação.

#### **3.7.2- Estradiol**

Foi avaliado o estradiol de 22 éguas entre os dias 60 e 180 de gestação, período este que inclui o início da produção hormonal pela gônada fetal. Os dias de coletas foram D60, D75, D90, D120, D150 e D180 após a ovulação.

### **3.8- Suplementações de progesterona em receptoras acíclicas**

Foram suplementadas cinco receptoras acíclicas com progesterona exógena. O tratamento hormonal consistiu na aplicação de Benzoato de Estradiol durante três dias (5,3 e 2 ml), seguido por Medroxiprogesterona (150 mg) na dose de 10 ml (1,5g/semana). Esse protocolo visou preparar a receptora para receber o embrião, mimetizando a condição fisiológica que ocorre nas éguas cíclicas (PINTO, 2011).

Após a confirmação da gestação na receptora, a aplicação de progestágenos foi realizada em injeções contínuas até completarem 100 dias de gestação, perfazendo um total de 13 aplicações. Nesse período, a unidade feto placentária já se encontrava suficientemente madura para manter a gestação, com a produção de seus próprios progestágenos (HOLTAN, 1979), sendo capaz de garantir a manutenção da prenhez nas éguas receptoras (GRECO et al, 2008; ROCHA FILHO et al, 2004).

### **3.9 - Outras avaliações**

#### **3.9.1 - Duração da gestação**

Das 62 éguas avaliadas, 40 delas foram acompanhadas durante todo o período da gestação. Essas éguas foram avaliadas quanto à duração da gestação em dias. Os partos foram considerados eutócicos e o sexo da cria foi correlacionado ao tempo de gestação.

#### **3.9.2 - Cornos gestantes**

Foi determinado o local de implantação embrionária de 62 éguas gestantes. Dessas éguas, 18 foram em duas gestações sucessivas, sendo 77,8% (14) utilizadas no cio do potro. As éguas foram analisadas por palpação retal e por exames ultrassonográficos. O diagnóstico de gestação foi determinado pela presença do embrião por meio da ultrassonografia e pelo tônus uterino firme devido à ação da progesterona.

### **3.10 Análises estatísticas**

Os dados coletados durante toda a gestação foram submetidos às análises estatísticas para verificar possíveis variações hormonais e alterações fisiológicas da égua gestante.

Para todos os parâmetros estudados realizou-se a estatística descritiva. As características de desenvolvimento embrionário e fetal (diâmetro vesicular, comprimento crânio-caudal, diâmetro torácico e diâmetro da órbita fetal) foram analisadas, por meio de regressão, para observar o crescimento do concepto em função do tempo de gestação.

As variáveis observadas atenderam as pressuposições de normalidade e homocedasticidade, sendo possível a realização da análise de variância (ANOVA). A análise de variância ANOVA foi utilizada para os seguintes parâmetros: diâmetro embrionário em função do sexo, concentração de progesterona (P4) em relação aos dias de ovulação e comparação entre éguas cíclicas e suplementadas com P4 exógena. Correlação de Pearson e regressão foram utilizadas para analisar a produção de progesterona em relação à área de corpo lúteo. Concentrações de estradiol, número e área total de corpo lúteo foram comparadas pela ANOVA, associada ao teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade de erro. Foi utilizado o programa SAS Institute Inc 2002: SAS/STAT® 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

## 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1- Embriões

#### 4.1.1 - Classificação e mensuração dos embriões após a coleta

Os embriões estudados foram coletados entre os dias D7 e D10, após a ovulação. Dos 72 embriões, 58 (80,50%) foram classificados como grau I, 12 (16,67%) como grau II e 2 (2,83%) como grau III. As características quanto ao desenvolvimento embrionário são demonstradas na tabela 4.

Tab. 4 – Desenvolvimento embrionário em função da idade

Idade (Dias)	Estágio embrionário	%	Tamanho Médio (Micras)
D7-D10	Mórula Compacta	8,43	2,08
D7-D9	Blastocisto Inicial	20,80	4,43
D8-D9	Blastocisto Expandido	68,00	10,74
D8-D9	Blastocisto Eclodido	2,77	20,00

Observa-se que alguns embriões tiveram seu desenvolvimento atrasado, pois mórulas compactas foram obtidas em lavados uterinos realizados 10 dias após a ovulação. Não se sabe o porquê desta ocorrência, no entanto, esses embriões se fixaram e tiveram uma gestação normal. A maioria dos embriões recuperados estava na forma de blastocisto expandido, o que é compatível com lavados realizados entre os dias 8 e 9 pós-ovulação (SQUIRES, 1993).

#### 4.1.2 - Desenvolvimento da vesícula embrionária

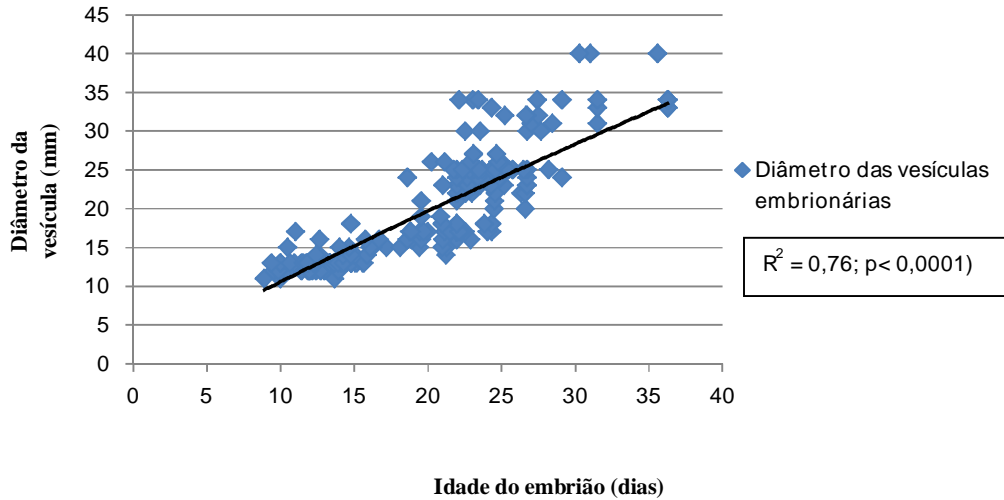
Foram estudadas 193 vesículas embrionárias entre 11 e 40 dias de idade. A tabela 5 mostra as médias das mensurações das vesículas de acordo com a idade do embrião. O tamanho das vesículas nos determinados períodos foi compatível com os valores descritos por GINTHER (1986), que cita vesículas de 10 a 13 dias medindo aproximadamente 9 mm e de 14 a 20 dias medindo aproximadamente até 25 mm.

Altas variações nas mensurações a partir de 17 dias podem estar correlacionadas ao fato da vesícula embrionária assumir uma forma ovóide a irregular, o que dificulta a mensuração correta do diâmetro.

**Tab. 5 - Mensuração dos diâmetros das vesículas embrionárias de acordo com a idade e a idade estimada do embrião em éguas da raça Mangalarga Marchador.**

<b>Idade do embrião (dias)</b>	<b>Idade do embrião estimada (dias)</b>	<b>Nº de embriões avaliados</b>	<b>Média (Desvio padrão) (mm)</b>
11	10,9	3	6,79 (5,25)
12	11,8	12	8,71 (3,53)
13	13,0	33	11,22 (4,00)
14	15,2	7	15,83(8,01)
15	16,8	10	19,32 (8,81)
16	18,7	9	23,13 (9,72)
17	20,8	17	27,59 (8,90)
18	21,3	6	28,67 (12,67)
19	20,2	2	26,35 (1,91)
20	25,5	2	37,55 (3,18)
21	22,0	3	30,13 (15,65)
22	23,9	7	34,00 (12,63)
23	23,8	12	33,88 (10,03)
24	24,0	9	34,33 (6,23)
25	24,3	18	34,94 (11,31)
26	22,8	5	31,80 (13,58)
27	23,9	2	34,05(19,73)
30	25,1	4	36,65 (16,99)
31	29,0	3	44,73(22,71)
32	26,5	4	39,63(17,80)
33	32,1	4	51,25 (25,10)
34	29,5	9	45,81 (18,59)
40	32,3	3	51,70 (26,31)

A análise de regressão mostrou que o crescimento da vesícula embrionária ocorreu de forma linear ( $p < 0,0001$ ). Dessa forma, esse parâmetro pode ser utilizado para estimar a idade do embrião (tab. 5), pela equação  $y = 7,61366 + 0,47754x$ , onde “y” representa a idade do embrião e “x” o diâmetro da vesícula embrionária em milímetros (mm). Como o coeficiente de determinação  $r^2 = 0,76$ , esse modelo torna-se aplicável, pois explica 76,45% da variação total dos dados apresentados. O crescimento das vesículas em função da idade pode ser observado na figura 16.



**Fig. 16 – Diâmetro das vesículas embrionárias em função da idade em éguas da raça Mangalarga Marchador**

Conforme descrito por GINTHER (1992), as variações de diâmetro vesicular apresentada podem estar relacionadas à produção hormonal, tanto de progesterona quanto estrógeno, assim como o diâmetro uterino das éguas que pode afetar a taxa de crescimento vesicular. Além disso, o diâmetro da vesícula embrionária também pode ser explicado por alguma variação no dia de fixação ao útero. GASTAL (1996) encontrou resultados que mostraram que quanto maior a vesícula embrionária, mais cedo foi o processo de fixação.

Concentração de proteínas uterinas, como as uteroferrinas, pode estar correlacionada ao crescimento vesicular (GINTHER, 1992). Essas proteínas podem determinar a sobrevivência do concepto (SHARP, 2000), mas essas não foram analisadas neste estudo. Além disso, o aumento da osmolaridade e da concentração de frutose no saco embrionário, interferem no desenvolvimento do embrião no ambiente uterino (RUDDOCK et al, 2000).

O crescimento entre conceptos machos e fêmeas também foi observado nesse estudo (Tabela 6).

**Tab. 6 – Diâmetro médio da vesícula embrionária de acordo com o sexo em éguas da raça Mangalarga Marchador**

Idade do embrião (dias)	Média e Desvio Padrão (mm)	
	Machos	Fêmeas
11 a 14	11,14 (3,15)	10,05 (4,25)
15 a 20	27,32 (7,57)	23,27 (7,67)
21 a 30	33,50 (4,04)	35,20 (4,17)
31 a 35	47,57 (12,36)	46,50 (9,75)

Comparando-se embriões de ambos os sexos, agrupados em quatro períodos (11-14 dias; 15-20 dias; 21 a 30 dias e 31 a 35 dias) não se observou variações no crescimento da vesícula entre os sexos ( $P>0,05$ ).

De acordo com GINTHER (1992), em algumas espécies, os embriões machos podem apresentar taxa de crescimento superior às fêmeas. No entanto, o mesmo autor não observou essa diferença entre embriões equinos de 11 a 40 dias.

#### **4.1.3 - Comprimento crânio-caudal e diâmetro torácico dos fetos**

O desenvolvimento fetal equino pode ser uma ferramenta auxiliar para predizer a idade gestacional. O comprimento crânio-caudal (CR-CD) e o diâmetro torácico (DT) são mensurações fáceis de serem realizadas e necessitam apenas de um conhecimento anatômico fetal para se realizar as mensurações.

Para a análise do comprimento crânio-caudal, foram realizadas mensurações de 68 fetos entre 27 e 50 dias de idade. A tabela 7 mostra o comprimento crânio-caudal de acordo com a idade fetal e a idade estimada.

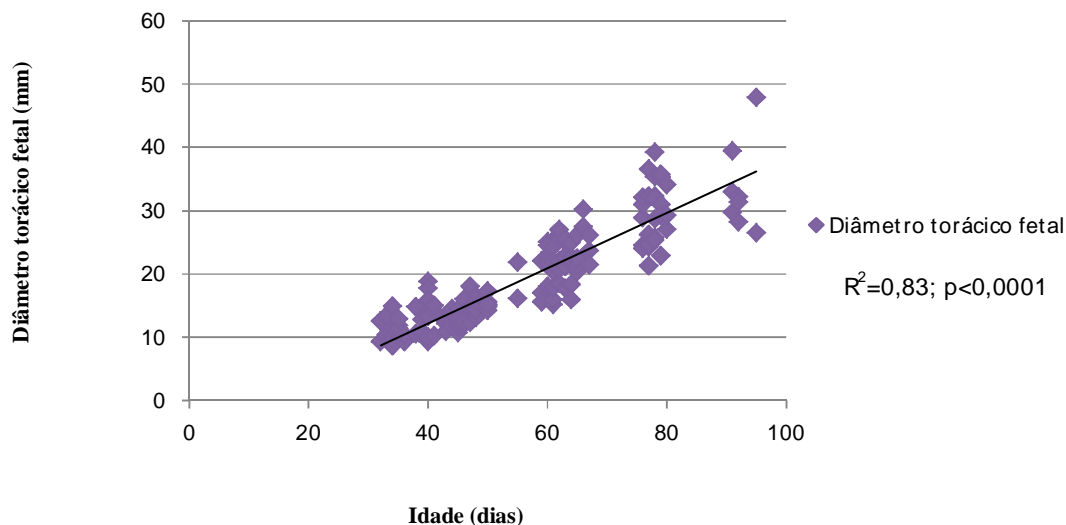
**Tab. 7 – Comprimento crânio-caudal de acordo com a idade fetal e a idade estimada em éguas da raça Mangalarga Marchador**

Idade do embrião (dias)	Idade estimada (dias)	Número de observações	Média e Desvio padrão (mm)
27	33	2	11,15 (1,63)
29	34	4	12,6 (6,12)
30	33	4	11,8 (2,13)
31	34	3	12,7 (1,85)
32	34	7	13,36 (3,31)
33	38	2	18,55 (7,57)
34	35	5	14,13 (6,09)
36	36	2	16,6 (0,99)
38	35	3	15,2 (2,01)
39	40	5	22,74 (3,86)
40	37	6	18,02 (5,40)
41	40	6	22,5 (6,73)
42	41	3	24,43 (2,15)
44	42	2	25,25 (6,43)
46	37	3	18,25 (6,12)
47	42	6	24,6 (8,64)
49	48	3	35,05 (4,15)
50	50	2	37,25 (3,18)

A análise de regressão demonstrou que a mensuração do comprimento crânio-caudal em fetos equinos também segue um crescimento linear ( $p < 0,0001$ ) sendo importante na análise do desenvolvimento fetal. A idade fetal pode ser estimada pelo modelo  $y = 25,66516 + 0,64360x$ , onde “y” representa a idade fetal e “x” o comprimento crânio-caudal em milímetros (mm). Esse modelo é capaz de explicar 53,52% da variação total dos dados descritos ( $R^2 = 0,5352$ ).

Embriões podem apresentar diferenças no tamanho no mesmo estágio de desenvolvimento, e isso pode estar associado à produção de eCG, que aumenta não só a secreção de progestágenos, como a de estrógenos, propiciando assim um ambiente uterino mais adequado ao desenvolvimento do feto (DAELS, 1998).

Quanto ao diâmetro torácico, foram mensurados 168 fetos com idade entre 32 e 95 dias. O desenvolvimento dos fetos em função da idade é demonstrado na figura 17.



**Fig. 17– Diâmetro torácico fetal em função da idade**

A média do diâmetro torácico fetal (Tab. 8) se apresentou como um parâmetro mais estável, em relação à idade do que o comprimento crânio-caudal, o que permite uma melhor acurácia na estimativa da idade fetal.

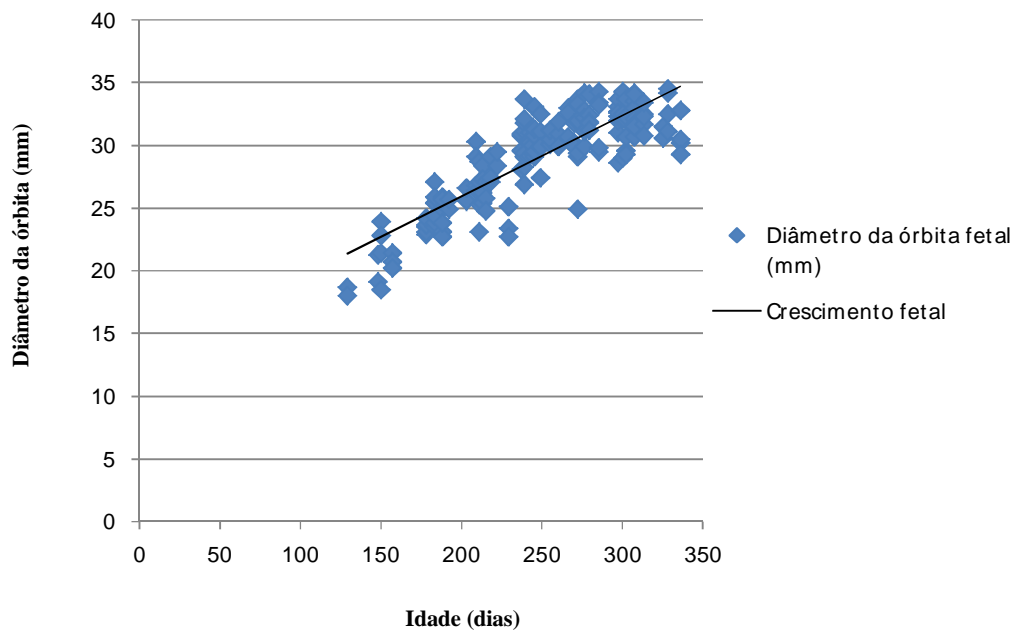
Realizando-se análise de regressão, observou-se que a mensuração do diâmetro torácico em fetos equinos segue crescimento linear de forma significativa ( $p < 0,0001$ ). A estimativa da idade fetal pode ser calculada (tab. 8) pela equação  $y = 20,52672 + 1,85657x$ , onde “y” representa a idade fetal e “x” o diâmetro torácico em milímetros (mm). Esse modelo é capaz de explicar 82,6% da variação total dos dados descritos ( $R^2 = 0,83$ ), sendo dessa forma confiável para prever a idade fetal.

**Tabela 8 – Média dos diâmetros torácicos (mm) de acordo com as idades fetais e embrionárias em éguas da raça Mangalarga Marchador**

<b>Idade (dias)</b>	<b>Idade estimada (dias)</b>	<b>N</b>	<b>Média e desvio padrão (mm)</b>
32	41	2	10,90 (2,26)
33	41	4	10,92 (1,67)
34	40	6	10,69 (2,28)
35	43	3	12,03 (0,78)
36	39	3	9,93 (0,56)
38	44	2	12,65 (3,04)
39	41	4	11,23 (1,06)
40	39	8	13,56 (3,69)
41	46	4	13,58 (2,29)
43	44	7	12,51 (0,83)
44	45	4	13,08(1,28)
45	43	7	12,29 (1,17)
46	45	5	13,08 (1,67)
47	48	5	14,60 (2,09)
48	48	5	14,92 (1,33)
49	49	2	15,30 (0,57)
50	49	8	15,33(0,90)
55	56	2	18,95 (4,03)
59	54	3	18,17 (3,40)
60	62	6	22,42 (2,52)
61	56	6	19,24 (3,57)
62	64	9	23,61 (3,05)
63	62	7	22,33 (2,63)
64	60	8	21,18 (2,81)
65	62	6	22,45 (1,97)
66	74	2	28,80 (1,97)
67	65	3	23,70 (2,35)
76	73	5	28,10 (3,70)
77	72	6	27,57 (5,73)
78	78	7	31,21 (5,07)
79	79	4	31,23 (4,65)
80	76	3	30,13 (3,59)
91	84	3	34,03 (4,93)
92	77	3	30,57(2,10)
95	90	2	37,20 (15,13)

#### 4.1.4 - Diâmetro da órbita ocular fetal

Foram mensurados 166 diâmetros de órbita fetais, com idade entre 129 e 336 dias. O diâmetro da órbita ocular fetal apresentou um padrão de crescimento linear, conforme descrito por GINTHER (1992). Para esse estudo, a fórmula utilizada foi  $y=58,41479+10,57266x$ , onde “y” representa a idade fetal em milímetros e “x” representa o diâmetro da órbita ocular fetal. Esse modelo é capaz de explicar 74,12% da variação total ( $R^2=0.7412$ ). A distribuição do crescimento das órbitas fetais é apresentada na figura 18 e as médias obtidas são apresentadas na tabela 9.



**Fig.18 - Diâmetro da órbita fetal de acordo com a idade em éguas da raça Mangalarga Marchador**

Os diâmetros das órbitas fetais foram melhor visualizados a partir de 200 dias de idade, pois nessa fase os fetos se encontravam melhor posicionados. Esse parâmetro é de extrema importância no terço médio e final da gestação, pois os fetos já se encontram grandes e não é mais possível delimitar seus limites, pois já se posicionam na posição crânio-ventral.

**Tab. 9 – Média e desvios-padrão dos diâmetros das órbitas fetais em função da idade e a idade estimada em éguas da raça Mangalarga Marchador**

Idade (dias)	Idade estimada (dias)	N	Média e DP
129	136	2	18,35(0,49)
148	155	2	20,2 (1,56)
150	170	4	21,65 (2,34)
157	161	3	20,77 (0,60)
178	190	5	23,48(0,51)
183	207	7	25,07(1,26)
188	199	6	24,35(1,35)
192	209	2	25,30 (0,57)
203	218	2	26,10 (0,71)
209	239	4	28,15 (1,86)
211	218	5	26,16 (2,10)
213	226	5	26,92 (1,15)
215	215	3	25,90 (1,15)
218	236	3	27,87 (1,08)
222	248	2	28,95 (0,78)
229	193	3	23,73 (1,23)
237	257	4	29,85 (1,31)
239	261	9	30,17 (2,14)
242	262	5	30,28 (0,67)
244	262	3	30,27 (1,03)
245	271	6	31,13 (1,69)
249	260	5	30,14 (1,88)
255	265	3	30,60 (0,56)
260	268	3	30,90 (1,00)
266	281	3	32,10 (1,23)
270	265	3	30,63 (1,02)
272	265	7	30,61 (3,07)
276	280	5	32,04 (1,64)
279	283	5	32,28 (1,10)
285	280	5	32,04 (2,22)
297	280	8	32,00 (1,59)
300	281	5	32,06 (1,92)
302	272	6	31,27 (1,70)
307	285	8	32,50 (1,31)
313	281	5	32,14 (0,97)
325	270	2	31,05 (0,64)
328	291	4	33,08 (1,58)
336	266	4	

A relação entre a idade gestacional e os parâmetros fetais pode auxiliar muito na estimativa do tempo gestacional, porém deve se levar em consideração a raça em que se está trabalhando, pois diferenças raciais têm sido observadas. Na raça Crioula, foram descritas órbitas com tamanhos inferiores quando comparada ao Mangalarga Marchador, para mensurações realizadas abaixo de 240 dias. Entre 240 e 270 dias, não houve diferença entre as raças (LAU, 2010). Deve-se considerar também que diferenças no tamanho da órbita ocular podem estar relacionadas à anatomia característica da raça, como por exemplo, a largura do crânio, que pode ser variável comparando raças como o Árabe e o Quarto-de-Milha (TURNER, 2006), tornando-se dessa forma confusa a aplicação dos modelos de previsão para as diferentes raças.

## 4.2- Avaliações ovarianas

### 4.2.1 - Número de folículos e corpos lúteo

Foi avaliada a presença de folículos e corpos lúteos nos estádios iniciais da gestação. O crescimento folicular foi classificado como significativo para folículos igual ou maior que 25 mm. As tabelas 10 e 11 apresentam a média de estruturas ovarianas em éguas cíclicas e suplementadas com P4, respectivamente.

**Tabela 10 – Estruturas ovarianas em éguas cíclicas da raça Mangalarga Marchador**

Dias de ovulação	N	Folículos	Corpos lúteos
DI	57	0,25	1
D13	53	0,74	1
D21	55	1,21	1,05
D30	55	1,33	1,13
D37	50	1,2	1,22
D45	43	0,84	1,49
D60	52	0,65	1,75
D75	49	0,45	2,12
D90	51	0,55	2,4
D120	46	0,67	1,59
D150	19	0,26	1,53

**Tabela 11 – Estruturas ovarianas em éguas da raça Mangalarga Marchador suplementadas com P4**

Dias de ovulação	Éguas suplementadas com P4		
	N	Folículos	Corpos lúteos
DI	5	0	0
D13	5	0,4	0
D21	5	0,2	0
D30	5	0,2	0
D37	5	0,4	0
D45	5	0,8	0,6
D60	5	0	2,2
D75	5	0	2,4
D90	5	0	2
D120	5	0,5	1,5
D150	5	0	0,4

A partir das tabelas 10 e 11, observam-se diferenças em relação ao surgimento dos corpos lúteos primários e acessórios. Nas éguas cíclicas o corpo lúteo primário foi observado no momento da involução e se manteve aproximadamente até os 30 dias. Folículos que apresentaram tamanho igual ou superior a 25 mm foram monitorados e relacionados ao surgimento dos corpos lúteos acessórios. Os corpos lúteos acessórios começaram a se formar ao redor dos 35 dias, pelo estímulo da gonadotrofina coriônica equina (eCG), secretada pelos cálices endometriais, e pela ação contínua do hormônio folículo estimulante (FSH) liberado pela hipófise (ALLEN, 1972; BRINSKO, 2011).

Nas éguas suplementadas com P4 exógena, o aparecimento dos primeiros corpos lúteos ocorreu por volta dos 45 dias, provavelmente pela ação do eCG. Novos corpos lúteos surgiram por volta dos 60 dias. As éguas suplementadas com P4 exógena apresentaram de 2 a 4 corpos lúteos acessórios, enquanto nas cíclicas variou de 2 a 6 estruturas. Após os 150 dias, tanto nas éguas cíclicas como nas suplementadas não foi mais observado a presença de corpos lúteos, sugerindo que a partir deste ponto a produção de progesterona tenha sido exclusivamente de origem placentária (DAELS, 1998). Todos os corpos lúteos degeneraram por volta dos 150-200 dias de gestação, de acordo com o descrito na literatura (GINTHER, 1992; ALLEN, 2001; BRINSKO, 2011).

Todas as éguas apresentaram crescimento folicular até os 150 dias de ovulação. O aparecimento de folículos hemorrágicos anovulatórios ocorreu em poucas éguas e após a luteinização, originou novos corpos lúteos acessórios.

#### 4.2.2 - Número e área de corpos lúteos durante a gestação

Foram observadas 522 mensurações de corpos lúteos, em 62 éguas entre os dias da inovulação do embrião (DI) até o D150 quando a produção de progesterona passou a ser placentária. As coletas foram distribuídas em 11 períodos (DI, D13, D21, D30, D37, D45, D60, D75, D90, D120 e D150).

Os corpos lúteos foram quantificados e mensurados quanto à área total (em milímetros) que ocupavam nos ovários (Tab. 12). Tanto o número quanto a área foram diferentes ( $p < 0,05$ ) entre os períodos estudados.

Tab. 12 – Número e área de corpos lúteos (CLs) durante a gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador

Dias de ovulação	N	Média de CLs	Área de CL (mm <sup>2</sup> )
2 a 9	57	1,00 <sup>d</sup>	32,56 <sup>d, e</sup>
13	55	1,00 <sup>d</sup>	29,21 <sup>e</sup>
21	56	1,04 <sup>d</sup>	28,60 <sup>e</sup>
30	52	1,08 <sup>d</sup>	30,02 <sup>e</sup>
37	49	1,20 <sup>d</sup>	35,39 <sup>c, d, e</sup>
45	49	1,45 <sup>c, d</sup>	42,60 <sup>b, c, d, e</sup>
60	51	1,75 <sup>b, c</sup>	48,31 <sup>b, c</sup>
75	49	2,10 <sup>a, b</sup>	53,00 <sup>a, b</sup>
90	51	2,41 <sup>a</sup>	60,14 <sup>a</sup>
120	36	2,00 <sup>a, b</sup>	43,89 <sup>b, c, d</sup>
150	16	1,87 <sup>b, c</sup>	38,87 <sup>c, d, e</sup>

Valores seguidos por letras distintas diferem pelo teste SNK ( $P < 0,05$ )

O número e a área de corpos lúteos começam a aumentar significativamente a partir de 37 dias de gestação, período correspondente ao início da formação dos cálices endometriais. A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é produzida pelas células trofoblásticas fetais e migram originando estruturas conhecidas como cálices endometriais. O eCG tem ação semelhante ao FSH e ao LH, e atua estimulando o crescimento de vários folículos, que podem ovular ou luteinizar, formando corpos lúteos acessórios, que incrementam a produção de progesterona, a qual ajuda na manutenção da gestação até aproximadamente 150-160 dias de gestação. A partir deste momento a placenta assume integralmente essa função (NISWENDER et al., 2000; THIBAUT E LEVASSEUR, 2001).

Quanto à área ocupada pelos corpos lúteos, não houve diferença até os 30 dias de gestação. Isso ocorreu provavelmente pela presença apenas do corpo lúteo gestacional. No entanto, a partir de 37 dias, a área total de corpos lúteos foi aumentando em consequência do surgimento dos corpos lúteos acessórios.

<b>Número de Corpos Lúteos</b>	
<b>Dias de ovulação</b>	<b>Média ± Erro padrão</b>
D90	2.41 ± 0.12 <sup>a</sup>
D75	2.10 ± 0.12 <sup>b</sup>
D120	2.00 ± 0.14 <sup>b</sup>
D150	1.87 ± 0.21 <sup>b</sup>
D60	1.74 ± 0.12 <sup>b</sup>
D45	1.45 ± 0.12 <sup>c</sup>
D37	1.20 ± 0.12 <sup>c</sup>
D30	1.08 ± 0.12 <sup>c</sup>
D21	1.03 ± 0.11 <sup>c</sup>
DI (Inovulação)	1.00 ± 0.11 <sup>c</sup>
D13	1.00 ± 0.11 <sup>c</sup>

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

<b>Área de Corpos lúteos</b>	
<b>Dias de ovulação</b>	<b>Média ± Erro padrão</b>
D90	60.14 ± 3.03 <sup>a</sup>
D75	52.70 ± 3.09 <sup>a</sup>
D60	48.31 ± 3.03 <sup>b</sup>
D120	43.87 ± 3.60 <sup>b</sup>
D45	42.60 ± 3.09 <sup>b</sup>
D150	38.87 ± 5.40 <sup>c</sup>
D37	35.39 ± 3.09 <sup>c</sup>
DI (Inovulação)	32.56 ± 2.86 <sup>c</sup>
D30	30.01 ± 3.00 <sup>c</sup>
D13	29.21 ± 2.91 <sup>c</sup>
D21	28.69 ± 2.89 <sup>c</sup>

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

#### **4.2.3 - Área de corpo lúteo (ACL) do dia da inovulação ao D30**

Foi realizado um total de 215 mensurações de corpos lúteos, em receptoras com dias D2 a D9 de ovulação. A avaliação da ACL do dia da inovulação foi comparada aos dias D13, D21 e D30, conforme a tabela 13.

**Tab. 13 – Área de corpo lúteo de acordo com o dia da inovulação da receptora da raça Mangalarga Marchador**

<b>Dia da Receptora</b>	<b>N</b>	<b>Área de CL e Desvio Padrão (mm)</b>
D1	57	32,6 (5,26) a
D13	52	29,2 (3,29)b
D21	55	28,9 (6,44)b
D30	51	29,7 (7,35)b

**Valores seguidos por letras distintas diferem entre si pelo teste SNK (P <0,05)**

**\*Dia da inovulação (D2 a D9)**

Houve diferença ( $p < 0,05$ ) dos dias 13 a 30, em relação ao dia da inovulação. Essa diferença pode estar relacionada a algum efeito luteotrófico do embrião sobre o corpo lúteo. O embrião secreta fatores luteotróficos durante o reconhecimento materno, a fim de manter a continuidade da gestação (GINTHER, 1992; ALLEN, 2001).

### **4.3 - Progesterona (P4)**

A dosagem de progesterona (P4) foi dada em nanograma/mL e correlacionada aos diferentes parâmetros da gestação.

#### **4.3.1 - Progesterona em relação ao dia da inovulação**

Foram coletadas 772 amostras para dosagem de progesterona, em receptoras D2, D3, D4, D5, D6, D8 e éguas suplementadas com P4 exógena. Das receptoras utilizadas, as que possuíam 2 e 3 dias de ovuladas (D2 e D3, respectivamente) foi administrada 5 ml de P4 exógena no dia da inovulação do embrião. As médias e desvios padrão da progesterona estão demonstrados na tabela 14.

Tabela 14 – Média e desvio padrão da progesterona de acordo com o dia da inovulação e suplementação com P4 exógena

		Dias das coletas																
N		DI	D13	D21	D30	D37	D45	D60	D75	D90	D120	D150	D180	D210	D240	D 270	D300	D330
Dias da inovulação e éguas suplementadas com P4	2 D2	(2,24)	(3,67)	(1,74)	(2,89)	(1,60)	(6,19)	(0,91)	(2,51)	(1,28)	(2,59)	(0,78)	(0,64)	(0,90)	(1,15)	(1,48)	(3,57)	(2,10)
	3 D3	3,20 (1,36)	3,50 (0,24)	2,60 (1,22)	3,23 (0,47)	4,45 (4,02)	7,34 (1,63)	3,72 (3,98)	4,48 (2,79)	4,12 (4,02)	3,95 (1,91)	1,98 (1,69)	1,95 (1,85)	1,96 (1,50)	1,72 (0,80)	2,16 (0,96)	4,61 (1,47)	2,42 (0,46)
	16 D4	2,74 (1,21)	2,69 (1,64)	2,26 (0,99)	2,54 (1,40)	4,34 (2,33)	5,92 (3,01)	3,78 (2,30)	4,05 (1,82)	4,10 (2,32)	3,44 (1,50)	1,90 (0,98)	1,92 (1,07)	1,84 (0,90)	1,49 (0,65)	1,86 (0,82)	3,83 (1,78)	1,93 (1,02)
	8 D5	2,49 (1,13)	2,51 (1,34)	2,04 (0,92)	2,35 (1,18)	4,00 (1,98)	5,43 (2,62)	3,54 (1,88)	3,68 (1,68)	3,80 (1,94)	3,11 (1,41)	1,75 (0,85)	1,78 (0,90)	1,69 (0,79)	1,35 (0,61)	1,68 (0,76)	3,49 (1,61)	1,78 (0,87)
	8 D6	8,84 (7,97)	6,77 (4,02)	11,63 (19,19)	6,36 (2,97)	10,42 (5,05)	8,05 (4,42)	16,90 (12,57)	10,46 (7,55)	11,39 (6,92)	19,15 (37,14)	5,13 (1,68)	4,53 (2,32)	4,41 (2,60)	4,79 (2,44)	4,60 (3,27)	11,62 (7,57)	2,47 *
	8 D8	4,33 (3,77)	3,26 (2,23)	6,95 (8,18)	2,85 (2,09)	4,76 (3,40)	4,70 (2,18)	7,44 (6,86)	5,04 (3,85)	5,28 (3,94)	12,46 (15,68)	2,08 (1,75)	2,12 (1,46)	2,08 (1,49)	1,97 (1,74)	2,23 (1,67)	5,22 (4,31)	*
	5 P4	6,23 (2,55)	4,07 (1,95)	11,49 (5,50)	3,57 (1,90)	5,91 (3,09)	4,84 (2,42)	10,94 (4,73)	6,72 (2,93)	6,88 (3,24)	21,11 (11,03)	2,66 (1,66)	2,61 (1,33)	2,64 (1,26)	2,74 (1,40)	2,94 (1,29)	7,18 (3,26)	*
		N= 48	46	50	48	48	47	46	49	49	46	49	47	47	43	44	42	24

\*Parcelas perdidas

A produção de progesterona, nos períodos de coleta estabelecidos, foi correlacionada aos dias de ovulação das receptoras utilizadas. A progesterona mensurada durante toda a gestação não apresentou diferenças ( $p>0,05$ ) em relação à idade de inovulação da receptora, sendo cíclica ou suplementada com P4 exógena (acíclica). Isso permite dizer que receptoras D2 a D9, assim como éguas acíclicas, podem ser utilizadas com as mesmas chances de fixação embrionária, desde que sejam avaliados os demais parâmetros fisiológicos (ovarianos, uterinos e cervicais) que são fundamentais na escolha da receptora a ser utilizada.

A concentração plasmática de progesterona, entre os dias DI e D13, foi compatível com os valores obtidos por DAWSON (1977), que citam para esse mesmo período concentrações de 8 a 15 ng/mL. Após 40 dias as concentrações de progesterona estavam dentro dos limites (8-25ng/ml) estabelecidos por DAWSON (1977). Provavelmente a concentração de P4 estava relacionada ao aumento da gonadotrofina coriônica equina (eCG), pois esta estimula a ovulação de folículos secundários, dando origem aos corpos lúteos acessórios, que permanecem até os 150 dias, quando ocorre sua regressão de acordo com GORDON (1992).

Após 120 dias, a progesterona apresentou baixas concentrações séricas. Essas concentrações são oriundas do declínio dos corpos lúteos e da placenta, que passa a ser a fonte principal de secreção hormonal. Algumas éguas podem apresentar um pico de progesterona cerca de 2 a 3 dias próximos ao parto (MC KINNON, 2011). Diferenças nos padrões de produção hormonal placentária podem ser ocasionadas por alguma infecção ou insuficiência placentária (TROEDSSON, 1997).

#### **4.3.2- Progesterona ao longo da gestação**

Foram analisadas 772 amostras de progesterona, em 17 períodos da gestação, conforme mostra a tabela 15.

**Tab. 15 – Variação de concentração de progesterona (ng/mL) ao longo da gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador**

<b>Data da coleta</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>(Desvio padrão)</b>
DI	48	7,939 abcd	(4,50)
D13	46	6,148 abcd	(3,20)
D21	48	6,921 abcd	(8,31)
D30	48	5,855 abcd	(2,68)
D37	48	8,476 abc	(5,33)
D45	47	8,843 ab	(5,99)
D60	46	9,792 a	(7,40)
D75	49	7,864 abcd	(5,24)
D90	49	7,625 abcd	(6,84)
D120	46	7,766 abcd	(16,60)
D150	49	4,626 bcd	(4,12)
D180	47	4,855 bcd	(6,02)
D210	47	4,741 bcd	(5,58)
D240	43	3,416 d	(1,87)
D270	44	4,119 cd	(2,45)
D300	42	6,540 abcd	(4,94)
D330	25	10,139 a	(6,73)

**Valores seguidos por letras distintas diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05)**

A progesterona variou entre os períodos estudados ( $p < 0,05$ ), mostrando que o padrão de secreção hormonal está associado às mudanças ocorridas ao longo da gestação. Variações observadas entre os dias D37 e D60 podem estar relacionadas ao surgimento dos corpos lúteos acessórios, que produzem progesterona após a ovulação ou luteinização dos folículos, em resposta à fração luteinizante do eCG, sobre os folículos mais avançados das ondas foliculares, estimuladas pela contínua secreção de FSH pela hipófise (GINTHER, 1992; ALLEN, 2001; DE MESTRE, 2011). A progesterona, produzida pelos corpos lúteos acessórios, complementa a P4 produzida pelo corpo lúteo primário e juntos mantêm a gestação nos primeiros cinco meses de prenhez (BRINSKO, 2011).

No final da gestação se observou um pico de P4 conforme descrito por GINTHER (1992). Embora ainda não seja estudado na espécie equina, acredita-se que altos níveis de progesterona no término da gestação possam estar relacionados a supressão da atividade do miométrio (GINTHER, 1992).

### 4.3.3 - Progesterona e área de corpo lúteo

A relação das concentrações de progesterona com a área de corpo lúteo em cada dia foi realizada pela correlação de Pearson. Todas as correlações são demonstradas na tabela 16.

Tab. 16 – Correlação simples de Pearson da área de corpo lúteo com a produção de progesterona durante os 180 dias de gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador.

Dia de gestação	N	R	P
DI (D2-D9)	51	-0,07421	0,6048
D13	49	-0,30710	0,0318**
D21	51	0,05301	0,7118
D30	51	-0,14015	0,3266
D37	51	0,00353	0,9804
D45	50	-0,03050	0,8335
D60	49	0,36063	0,0109**
D75	52	0,38096	0,0053**
D90	52	0,59786	<0,0001**
D120	48	0,42245	0,0028**
D150	51	0,03710	0,7961
D180	49	-0,00864	0,9530

N= Número de observações ; R =Correlação de Pearson a 5% ;P=Significância estatística;\*\* Correlações significativas

Houve correlação positiva entre os dias D13, D60, D75, D90 e D120 da gestação ( $P<0,05$ ). No dia D13, em que foi realizado o diagnóstico de gestação, a área de CL correspondeu ao CL primário e sua secreção de progesterona. Essa correlação pode ser útil para avaliar a condição da égua receptora nos estádios iniciais de gestação e, se possível, prever as chances de manutenção da gestação.

A partir do dia 60-70 se inicia a regressão dos cálices endometriais e estes não coincidem exatamente com a regressão dos corpos lúteos acessórios, sendo possível determinar a área de CL nesse período. A regressão dos cálices está ligada a resposta imune celular com o aparecimento de linfócitos, células mononucleares, células do plasma, macrófagos e eosinófilos no endométrio. A morte e a descamação de todo o cálice, com processo de necrose ocorre aproximadamente entre os 100-120 dias de gestação (ALLEN, 1975).

Os corpos lúteos acessórios regridem mais tardiamente, sendo possível observar a presença de CLS funcionais (com capacidade de produzir progesterona) até o dia 198 de

gestação. Na grande maioria dos casos, a redução da produção de progesterona é verificada a partir dos 160 dias de gestação, sugerindo que a partir deste momento ocorreu o processo de regressão dos corpos lúteos (MARTIN, 1989).

Nas éguas avaliadas, o declínio da progesterona iniciou a partir de 120 dias de gestação e após os 150 dias não foi mais observado presença de corpos lúteos na maioria das éguas. Durante o período de 120 dias, as concentrações de progesterona e progestágenos, verificados no soro, representam uma mistura de P4 secretada pelos corpos lúteos em processo de declínio e pelos progestágenos da placenta, secretados pelo alantocórion em crescimento (ALLEN, 2001).

Avaliando-se 604 amostras até os 180 dias de gestação, período onde ainda se observou corpos lúteos foi realizado outra correlação ( $r=0,32$ ) da área de CL com a concentração de P4. Essa correlação se mostrou significativa ( $p<0,001$ ) para o determinado período. A progesterona apresentou um comportamento quadrático em relação à área de corpo lúteo sendo:

$$\text{Concentração de P4} = 5,2551 + 0,02435 \text{ X (Área de CL)} + 0,00064167 \text{ X (Área de CL}^2)$$

No entanto, esse modelo explica apenas 12,4% da variação total ( $R^2=0,12$ ). Isso pode ter ocorrido pelo fato da progesterona, a partir de 160 dias, ter sua secreção à concentrações basais (ALLEN, 1987) ou ainda, por ter como fonte de secreção a placenta a partir dos 120 dias, não dependendo exclusivamente dos corpos lúteos (ALLEN, 2001).

#### **4.3.4 - Éguas cíclicas e suplementadas com progesterona (P4) exógena**

Foram avaliadas éguas que ciclaram normalmente e éguas acíclicas, estas últimas utilizando administração exógena de P4 até os 100 dias de gestação. As concentrações de progesterona entre os grupos são observados na tabela 17.

Tab. 17 – Variação de progesterona entre éguas cíclicas e acíclicas suplementadas com P4

Dia de gestação	N	Éguas cíclicas	N	Éguas Suplementadas com P4
DI	44	7,78 (4,61)	5	8,72(3,26)
D13	42	5,80 (3,05)	5	8,72 (3,26)
D21	45	6,60 (8,43)	4	10,04 (4,93)
D30	44	5,54 (2,66) *	5	8,06 (1,95) *
D37	44	8,46 (5,54)	5	8,27 (2,06)
D45	43	8,72(6,20)	5	9,31 (3,36)
D60	42	9,83(7,70)	5	9,06 (3,01)
D75	45	7,86(5,48)	5	7,12 (1,73)
D90	45	7,70 (7,07)	5	5,79 (3,87)
D120	42	8,15 (17,32)	5	3,42(2,53)
D150	45	4,80 (4,21)	5	2,81 (2,19)
D180	44	4,97 (6,21)	4	2,89 (1,00)
D210	44	4,82 (5,69)	4	3,58 (3,52)
D240	40	3,30 (1,72)	4	4,14 (3,29)
D270	41	4,00 (2,35)	4	4,74(3,68)
D300	39	6,57 (5,12)	4	5,55(1,90)
D330	23	10,31(7,01)	3	8,82(0,74)

\*Diferem em nível de 5% pelo teste F

Comparando-se os grupos, observou-se diferença ( $p < 0,05$ ) apenas no dia 30 da gestação (D30), período correspondente à fixação do embrião ao útero. Não foi possível explicar o porquê dessa variação ter ocorrido apenas nesse período, mas deve-se estar atento quando se trata dos estádios iniciais da gestação. Perdas embrionárias são comuns de ocorrer nessa fase e algumas das vezes a insuficiência de progesterona pode ser a principal responsável pelo acontecimento.

Avaliando a progesterona de toda a gestação, desconsiderando-se os dias com ambos os tratamentos, não se verificou diferenças entre os grupos de éguas ( $p > 0,05$ ).

#### 4.4 - Estradiol (E2)

Para a avaliação do estradiol, foram realizadas coletas de 18 éguas nos dias D60, D75, D90, D120, D150 e D180 após a ovulação, período que inclui o início da produção hormonal

pela gônada fetal. Os valores médios obtidos de estradiol em função da idade gestacional são mostrados na tabela 18.

**Tab. 18 – Concentrações de estradiol (E2) em função da idade gestacional**

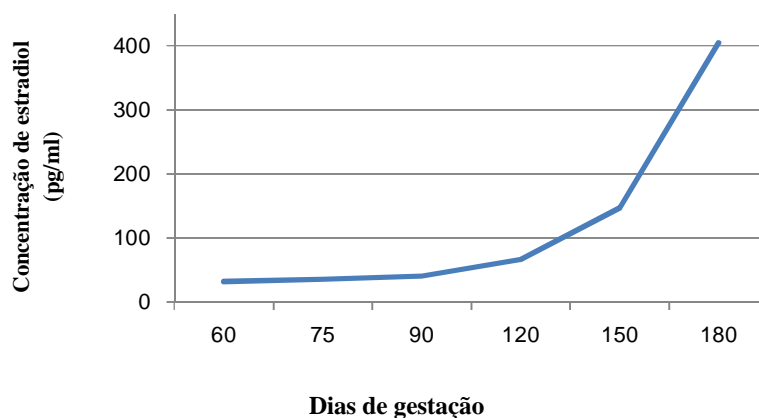
<b>Dias de gestação</b>	<b>Média de E2 e Desvio Padrão (pg/ml)</b>
60	31,89 <sup>c</sup> (12,36)
75	36,20 <sup>c</sup> (16,84)
90	40,42 <sup>c</sup> (19,01)
120	66,63 <sup>c</sup> (29,97)
150	147,89 <sup>b</sup> (87,64)
180	405,54 <sup>a</sup> (205,44)

**Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste SNK em nível de 5% de probabilidade.**

A concentração de estradiol diferiu no tempo ( $p < 0,05$ ), aumentando de forma crescente ao longo da gestação (Figura 19). A partir de 80 dias em ambos os fetos, do sexo masculino e feminino, as gônadas começam a crescer progressivamente, até atingir um tamanho máximo e peso aproximado de 350 g, entre os dias 230 e 260 dias. Após os 270 dias, as gônadas reduzem de tamanho e por volta dos 336 dias se encontram em tamanho e aparência relativamente insignificantes, semelhantes às gônadas neonatais dos outros animais domésticos (ALLEN, 2001).

As concentrações de estradiol começam a se elevar por volta dos 80 dias, conforme descrito por Mc KINNON (2011). Esse aumento gradativo é proveniente das gônadas fetais, que iniciam sua produção hormonal a partir de 88 dias de gestação, paralelamente ao seu crescimento (GINTHER, 1992; ALLEN, 2001).

Concentrações séricas de estrogênio materno aumentam até atingir um pico de 400 ng/mL entre 190 dias e 250 dias de gestação, sofrendo um posterior declínio aos valores basais (COX, 1975). As concentrações de estradiol encontradas a partir de 180 dias podem estar relacionados ao pico hormonal descrito por COX (1975) e MC KINNON (2011), mas novos estudos são necessários para determinar o padrão de secreção de estradiol nessa raça.



**Fig. 19 – Níveis de estradiol em função da idade gestacional**

#### **4.5 - Junção útero-placentária (JUP)**

Das 55 éguas que foi avaliada a junção útero-placentária, 8 apresentaram alterações na gestação, sendo 4 (7,27%) que sofreram abortamentos e 4 (7,27%) que geraram potros com problemas. As medidas das junções útero-placentária obtidas em média das éguas Mangalarga Marchador estão demonstradas na tabela 19.

**Tab. 19 – Espessura da junção útero-placentária (JUP) de acordo com o período gestacional em éguas da raça Mangalarga Marchador.**

Período de gestação (dias)	Espessura da JUP (mm)
150	6,43
180	8,23
210	8,18
240	8,59
270	9,26
300	9,39
330	9,17

De acordo com LE BLANC (2004), a JUP aumenta em média 4 mm entre os 4 e 8 meses de gestação e pode chegar a 10 ou 12 mm no terço final da gestação (RENAUDIN et al., 1997). Uma JUP maior que 12 mm aos 9 meses e maior do que 15 mm aos 11 meses pode estar associadas à placentite ascendente.

As JUPs mensuradas entre os 5 e 8 meses de gestação nas éguas da raça Mangalarga Marchador foram superiores às relatadas na literatura, porém isso não foi indicativo de anormalidades placentárias, visto que os partos nasceram normalmente. Em 3 éguas (5,45%), foram verificadas junções acima de 12mm a partir de 270 dias de gestação, mas isso não resultou em abortos ou potros com problemas, o que reduziu a chance do diagnóstico de placentite.

Quanto às éguas que sofreram alterações na gestação, foram observados que as maiores variações da JUP ocorreram por volta dos 240 dias, em relação às éguas que pariram normalmente (Tab. 20). Os valores observados foram superiores aos descritos na literatura para o determinado período (LE BLANC, 2004; MC KINNON, 2011).

**Tab. 20 – Junções útero-placentárias das gestações normais e das que sofreram alterações**

Período de gestação (dias)	Gestação Normal (mm)	Abortamentos (mm)	Potros com problemas (mm)
150	6,24	7,84	7,56
180	8,24	7,76	8,57
210	8,06	8,04	9,59
240	8,42	10,78	9,41
270	9,27	9,78	8,95
300	9,95	*	11,76
330	9,15	*	9,13

\*Período em que ocorreu o abortamento.

As mensurações da JUP observadas em éguas Mangalarga Marchador, no período de 180 a 300 dias, foram superiores às relatadas (Le BLANC, 2004; Mc KINNON, 2011), porém a maioria das éguas não apresentaram alterações placentárias, o que sugere que essas medidas pudessem ser uma característica da raça, mas isso ainda requer mais estudos.

#### **4.6 - Perdas gestacionais**

Das 62 gestações avaliadas a taxa de perda gestacional foi de 12,9%, sendo que foram 4 mortalidade embrionária precoce (6,45%) e 4 abortamentos (6,45%). Informações referentes à essas perdas podem ser visualizadas na tabela 21.

**Tab. 21 – Informações relacionadas às perdas gestacionais em éguas da raça Mangalarga Marchador**

<b>Tipo de perda gestacional</b>	<b>Animal</b>	<b>Período de ocorrência (Dias de gestação)</b>	<b>Concentração de P4</b>	<b>Pontuação da receptora no dia da inovulação</b>	<b>Observações</b>
<b>Mortalidade Embrionária Precoce</b>	1	37	Estáveis	7,0	
	2	21	Declínio a partir do dia da inovulação	7,0	Animal debilitado
	3	21	Estáveis	7,5	
	4	34	Declínio a partir do dia da inovulação	7,0	
	5	59	Declínio com 45 dias	8,0	Presença de líquido no lúmen uterino
<b>Abortamentos</b>	6	283	Declínio a partir de 75 dias	7,5	Retorno ao cio, útero com edema.
	7	270	Declínio a partir de 240 dias	8,0	
	8	210	Declínio a partir de 120 dias	6,5	Aborto ocorrido após transporte entre criatórios

Perdas embrionárias em equinos são relativamente comuns, sendo a frequência de 9% em éguas jovens, podendo chegar 60 a 70% em éguas idosas (Mc KINNON, 2011). Para a raça Mangalarga Marchador, no presente estudo, as taxas de perdas gestacionais encontradas para os dias 30 (3,22%), 45 (3,22%) e 60 (1,61%) foram abaixo de LOPES (2004), que verificou perdas de 4,8%, 9,0% e 12,2% para os mesmos períodos estudados.

As éguas que tiveram mortalidade embrionária precoce apresentaram queda na concentração de progesterona e embora essa baixa concentração seja causada pela insuficiência do corpo lúteo primário, sua ocorrência não foi bem determinada como causa de perda embrionária precoce em éguas (ALLEN, 2001). De acordo com GINTHER (1985) um corpo lúteo funcional é sujeito a um precimento precoce, sendo dessa forma vulnerável a qualquer condição que irrite o endométrio ou cause metrite, levando a uma luteólise precoce ativada pelo útero.

Durante a seleção das receptoras não foi visualizada nenhuma alteração endometrial, que compromettesse a implantação do embrião, mas infecções subclínicas poderiam estar presentes tornando o ambiente uterino inadequado. Anormalidades endometriais crônicas

podem ser a causa de perdas em algumas éguas, pois estas conseguem manter o desenvolvimento embrionário normalmente até o 28º dia (BALL et al, 1987).

Os abortamentos ocorridos, embora tenham apresentado como característica a queda de progesterona, não se pode dizer que essa foi a causa principal de sua ocorrência. Alterações placentárias só foram observadas em uma égua (JUP>10 mm), podendo sugerir caso de placentite ascendente.

Outras causas, como o estresse materno relacionado a algum evento doloroso ou de manejo, como mudanças de lotes e desmames, podem ter contribuído para as perdas gestacionais, tal como citado por NEWCOMBE & WILSON, 2005.

O diagnóstico conclusivo da etiologia dos abortamentos só seria possível caso tivesse sido realizado a necropsia do material abortado, associado à realização de exames microbiológicos e ao histórico reprodutivo de cada égua.

#### **4.7 - Outras avaliações:**

##### **4.7.1 - Duração da gestação**

Foi avaliada a duração da gestação em 40 éguas (Tabela 22). Dessas gestações, 21 éguas (52,5%) pariram produtos machos, enquanto 19 (47,5%) pariram produtos fêmeas.

**Tab. 22 – Duração da gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador de acordo com o sexo do produto.**

<b>Categoria</b>	<b>Média e Desvio Padrão (Dias)</b>	<b>N</b>	<b>CV (%)</b>
TOTAL	334,04 (11,17)	40	0,53
MACHOS	337,33 (10,71)	21	0,69
FÊMEAS	330,74 (10,50)	19	0,72

**CV = coeficiente de variação (%)**

Coeficientes de variação foram verificados na duração de gestações de produtos machos e fêmeas. As gestações de machos apresentaram menor variação quando comparadas às de fêmeas, porém todas as éguas apresentaram período gestacional dentro da normalidade, de acordo com o descrito na literatura, que é de 310 a 340 dias (Mc KINNON, 2011).

#### **4.7.2 - Cornos uterinos gestantes**

Foram avaliadas 51 éguas quanto ao lado do corno uterino em que ocorreu a fixação do embrião. Dessas gestações, a fixação se deu no corno direito em 62,75% dos animais (32), enquanto em 37,25% (19) ocorreram no corno esquerdo. Em 18 éguas receptoras recém-paridas, também foram avaliados pela palpação transretal os cornos gestantes da gestação anterior e estes foram comparados à gestação que estava sendo monitorada (Tabela 23).

Das gestações sucessivas avaliadas, em 61,1% (11) das éguas a fixação embrionária ocorreu contralateralmente, enquanto em 38,9% (9) foi ipsilateral. O cio pós-parto utilizado para a inovulação do embrião também foi observado. Dados referentes às gestações sucessivas podem ser visualizados na tabela 23. Das 67 gestações avaliadas, o corno direito prevaleceu em 53,73 % dos casos.

GASTAL (1996), avaliando a fixação do embrião no útero, não observou diferenças entre os lados dos cornos uterinos ou entre cornos gestantes e não gestantes, quanto ao diâmetro uterino. A fixação do embrião normalmente ocorre no segmento caudal de um dos cornos uterinos, entre os dias 15 a 17 (GINTHER, 1983) pós-ovulação, mas sem levar em conta o lado da ovulação. Esse local de fixação ocorre principalmente pelo impedimento de mobilidade da vesícula, que se encontra em crescimento contínuo (GINTHER, 1983; GASTAL, 1996).

**Tab. 23 – Alternância de cornos uterinos gestantes em gestações sucessivas de éguas da raça Mangalarga Marchador**

<b>Égua</b>	<b>CG Ant.*</b>	<b>CG Atual**</b>	<b>Cio utilizado***</b>
1	Direito	Esquerdo	Cio do potro
2	Esquerdo	Esquerdo	Cio do potro
3	Direito	Direito	Cio do potro
4	Direito	Esquerdo	Cios subsequentes
5	Esquerdo	Direito	Cio do potro
6	Esquerdo	Esquerdo	Cio do potro
7	Esquerdo	Direito	2º cio pós-parto
8	Direito	Direito	Cio do potro
9	Esquerdo	Esquerdo	Cio do potro
10	Direito	Esquerdo	Cio do potro
11	Esquerdo	Esquerdo	Cio do potro
12	Direito	Esquerdo	Cio do potro
14	Direito	Esquerdo	Cio do potro
14	Direito	Esquerdo	Cio do potro
15	Esquerdo	Direito	Cio do potro
16	Esquerdo	Esquerdo	Cio potro
17	Direito	Esquerdo	2º cio pós-parto
18	Direito	Esquerdo	4º cio pós-parto

**Legenda:**\*CG Ant.: Corno uterino gestante da gestação anterior;\*\*CG Atual: Refere-se à gestação que foi monitorada;\*\*\*Cio utilizado para inovulação do embrião.

Analisando as amostras, concluiu-se que éguas da raça Mangalarga Marchador alternam o corno uterino entre gestações sucessivas ( $p < 0,05$ ), independente de se utilizar ou não o cio do potro.

#### **4.8 - Considerações finais**

A raça Mangalarga Marchador apresenta características gestacionais importantes que podem auxiliar o veterinário de campo na escolha do manejo e na avaliação da eficiência reprodutiva do plantel.

Características embrionárias e fetais podem servir tanto para verificar a viabilidade do concepto, quanto para estimar o tempo gestacional. Incompatibilidades entre os parâmetros relacionados à idade do concepto podem sugerir futuras perdas gestacionais.

A presença e o número de corpos lúteos primários e acessórios variam entre éguas cíclicas e suplementadas com P4 exógena. Concentrações hormonais de progesterona são variáveis durante a gestação e isso está correlacionado com as mudanças pelas quais passa os órgãos reprodutores da fêmea gestante.

A produção de estradiol pela gônada fetal começa a se elevar a partir dos 120 dias, mas novos estudos são necessários para determinar o comportamento hormonal. Alterações na espessura da junção placentária pode ser uma ferramenta útil para detectar prováveis ocorrências de perdas gestacionais.

#### 4.9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCCMM - **Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Mangalarga Marchador**. Dados oficiais cedidos pelo árbitro Tiago de Resende Garcia. Belo Horizonte, 2012.

ALLEN W. R. Factors influencing pregnant mare serum gonadotropin production. **Nature** 1969; 223:64–6

ALLEN W. R.; MOOR R. M. The origin of the equine endometrial cups. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. **Journal of Reproduction and Fertility**. 1972; 29:313-6.

ALLEN W. R.; HAMILTON D. W., MOOR R. M. The origin of equine endometrial cups. II. Invasion of the endometrium by trophoblast. **Anatomy Record** 1973; 177:485–501.

ALLEN W. R. The influence of fetal genotype upon endometrial cup development and PMSG and progestagen production in equids. **Journal of Reproduction and Fertility**. 1975;23 Suppl:405-13. 23.

ALLEN W. R. The Physiology of Early Pregnancy in the Mare. In: **American Association of Equine Practitioners. Proceedings...** 2000, 46: 338-354.

ALLEN W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, 2001, 121: 513-527.

ALLEN W. R, STEWART F. Equine placentation. **Reproduction, Fertility and Development**, 2001 13: 623-634.

ALLEN W. R. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. **Reproduction in Domestic Animals** 2001; 36:121–31.

ALLEN W. R, WILSHER S, STEWART F, OUSEY J, FOWDEN A. The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. **Journal of Endocrinology** 2002; 172:237–46

AMANN, R. P.; PICKETT, B. W. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. **Journal of Equine Veterinary Science** , v.7, p.145-173, 1987

ARRUDA R.P., VISINTIN J.A., FLEURY J.J., GARCIA A.R., MADUREIRA E.H., CELEGHINI E.C.C. & NEVES NETO J.R. 2001. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultrassom e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embrião equinos? **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**. 38:233-239.

AURICH C, GERLACH T, AURICH JE, HOPPEN HO, LANGE J, PARVIZI N. Dopaminergic and opioidergic regulation of gonadotropin and prolactin release in stallions. **Reproduction in Domestic Animals** 2002; 37:335–40.

BAIN, F.T. Management of the Foal from the Mare with Placentitis: A Clinician's Approach. In: **Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, Denver, 2004.

- BALL,B.A.;HILLMAN,R,B.;WOODS.,G.L. Survival of equine embryos transferred to normal and subfertile mares.**Theriogenology**,v.28,p.167-174,1987.
- BALL,B.A. EMBRYONIC LOSS IN MARES: Incidence, possible causes, and diagnostic considerations veterinary clinics of north America: **Equine practice** v4 n2 p263-290,1988
- BALL B.A Embryonic death in mares. In: Mc KINNON,A.O;VOSS,J.L.Equine reproduction. Philadelphia: Lea &Febiger,1993.p.517-531 before or after ovulation.**Equine Veterinary Education**,v 11,n.5,p 251-254,1999.
- BARBACINI S, GULDEN P, MARCHI V, ZAVAGLIA G. Incidence of embryo loss in mares inseminated before or after ovulation. **Equine Veterinary Education**.1999; 11(5) 251-254.
- BARNES R. J, NATHANIELSZ P. W, ROSSDALE P. D, COMLINE R. S, SILVER M. Plasma progesterone and oestrogens in fetus and mother in late pregnancy. **Journal Reproduction and Fertility** Suppl 1975; 23:617-23.
- BERGEFELT D.R. 1999. Estrous synchronization, p.229-246. In: Samper J.C. (Ed) **Equine breeding management and artificial insemination**. Saunders Comp., Pennsylvania.
- BETTERIDGE K. J (2000). Comparative aspects of equine embryonic development. **Animal Reproduction Science**, 60-61: 691-702.
- BETTERIDGE K. J, EAGLESOME M. D., MITCHELL D, FLOOD P. F., BERIAULT R. (1982). Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation: observations on fresh specimens. **Journal of Anatomy**, 135: 191-209.
- BINGHAM, C.M., WILSON, P.R. AND DAVIES, A.S., 1990. Real-time ultrasonography for pregnancy diagnosis and estimation of fetal age in farmed red deer. **Veterinary Record**, 126, 102-106
- BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J. Reproductive physiology of the nonpregnant mare. In: **Manual of equine reproduction**. St Louis: Mosby, 1998. p. 9-14.
- BOLLWEIN H, MAYER R, WEBER F, STOLLA R. Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology** 2002; 57:2043-51
- BOLLWEIN H, WEBER F, WOSCHEE I, STOLLA R. Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. **Theriogenology** 2004; 61:499-509.
- BRINSKO S.P, BLANCHARD T.L., VARNER D.D., SCHUMACHER J, LOVE C. C., HINRICHS K, et al. **Manual of equine reproduction**. 3<sup>a</sup> ed. St. Louis: Mosby Elsevier; 2011.
- BUCCA, S., FOGARTY, U., COLLINS, A., SMALL, V. Assessment of foeto-placental wellbeing in the mare from mid gestation to term: transrectal and transabdominal ultrasonographic features. **Theriogenology** v.64, p. 542-557, 2005.
- CAMILO F., VANNOZZI I, LUZIO B.D., ROMANGNOLI S., ARIA G. & ALLEN W.R. 2003. Successful non-surgical transfer of horse embryos to mule recipients. **Reproduction in Domestic Animals**. 38: 380-385.

CARMO, M.T. Comparação entre doses constantes e decrescentes de extrato de pituitária equina na indução de superovulação em éguas. 2003. 156p. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CARNEIRO, G.F. Transferência de embriões em equinos. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL**, 16, 2005, Goiânia. Anais..., 2005.

CARNEVALE, E. M.; SQUIRES, E. L.; McKINNON, A. O.; HARRISON, L. A. Effect of human chorionic gonadotropin on time to ovulation and luteal function in transitional mares. **Equine Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 27-29, 1988.

CARNEVALE, E.M.; GINTHER, O.J. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. **Theriogenology** , v.37, p.1101-1115, 1992.

CARNEVALE, E.M.; GINTHER, O.J. Defective oocytes as a cause of subfertility in old mares **Biology Reproduction Mono.**, v1 p 209-214, 1995.

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

CARVALHO, G.R. Estudo de alguns aspectos da transferência de embriões em equinos. Universidade Federal de Viçosa, 2000. Viçosa - MG. 103 p. **Dissertação (Doutorado em Zootecnia)**.

CHALLIS J.R.G, MATTHEWS S.G, GIBB W, LYE S.J. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. **Endocrinology Review** 2000; 21:514–50.

CHALLIS J.R, SLOBODA D.M, ALFAIDY N, LYE S.J, GIBB W, PATEL F.A, WHITTLE W. L, Newnham J. P. Prostaglandins and mechanisms of preterm birth. **Reproduction** 2002; 124:1–17.

CHAVATTE P, HOLTAN D, OUSEY J. C, ROSSDALE P. D. Biosynthesis and possible biological roles of progestagens during equine pregnancy and in the newborn foal. **Equine Veterinary Journal Supplement** 1997; 89–95.

CHAVATTE PALMER P, DUCHAMP G, PALMER E, OUSEY J. C, ROSSDALE P. D, LOMBES M. Progesterone, oestrogen and glucocorticoid receptors in the uterus and mammary glands of mares from mid- to late-gestation. **Journal Reproduction Fertility Supplement** 2000; 56:661–72.

CHOI S. J, ANDERSON G. B, ROSER J. F. Production of free estrogens and estrogen conjugates by the preimplantation equine embryo. **Theriogenology** 1997; 47: 457–66.

COLE H. H, HART G. H. Properties of gonad-stimulating principle of mares serum. **American Journal Physiology** 1930; 93:57

COLE, H., HART, G., LYONS, W., CATCHPOLE, H. The development and hormonal content of fetal horse gonads. **Anatomy Record** 1933; 56:275–93

COLON, J.L. Trans-rectal ultrasonographic appearance of abnormal combined uteroplacental thickness in late-term gestation and its incidence during routine survey in a population of

thoroughbred mares (2005–2008). In: **Proceedings of the 54<sup>th</sup> Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, San Diego, 2008, v 54:279-285

COWIE, A, FORSYTH, I.; HART, I. Hormonal Control of Lactation. New York: **Springer-Verlag**, 1980

COX, J. E Oestrone and equilin in the plasma of the pregnant mare **Journal of Reproduction and Fertility Supplement** (1975) 23 463–468

CUERVO-ARANGO J, AGUILAR J. & NEWCOMBE J.R. 2009. Effect of type of semen, time of insemination relative to ovulation and embryo transfer on early equine embryonic vesicle growth as determined by ultrasound. **Theriogenology** 71:1267-1275.

DAELS,P.F, BESOGNET B, HANSEN B, MOHAMMED H, ODENSVIK K, KINDAHL H. Effect of progesterone on prostaglandin F2 alpha secretion and outcome of pregnancy during cloprostenol-induced abortion in mares. **American Journal Veterinary Research** 1996; 57: 1331–7.

DAELS, P.F., ALBRECHT, B.A., MOHAMMED, H.O., 1998. Equine chorionic gonadotropin regulates steroidogenesis in pregnant mares. **Biology Reproduction**. 59, 1062–1068.

DAELS P.Embryo transfer tips and tricks. **Proceedings 5<sup>th</sup> European Veterinary Conference**, (2007) Voorjaarsdagen, Amsterdam, p.213-215.

DOUGLAS, R.H. 1979. Review of induction of superovulation and embryo transfer in the equine. **Theriogenology** 11:33-36.

DERMICI, E. Length of gestation in purebred Arab mares and the effect of age on gestation length. **Veterinary. Fak. Reproduction.**, v.35, p.69-79, 1988.

DUARTE, M.B; VIEIRA, R.C; SILVA, F.O.C. Incidência de perda de prenhez até o 50º dia em éguas Quarto-de-Milha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p 643-647, 2002.

DUCHAMP , G., BOUR B., COMBARNOUS Y. & PALMER E. Alternative solutions to hCG induction of the ovulation in the mare. **Journal Reproduction in Fertility**. 35(suppl.), 1987 :221-228.

EDWARDS,R .Imunnodiagnosics, a practical approach .**Oxford University Press** .281 pg., 1999

EL-WISHY, A.B.; EL-SAYED, M.A.I.; SIDA, A.A. et al. Some aspects of reproductive performance in Arabian mares in Egypt. **Reproduction in Domestic Animals.**, v.25, p.227-234, 1990.

ELLENBERGER C, WILSHER S, ALLEN W.R, HOFFMANN C, KOLLING M, BAZER F.W, KLUG J, SCHOON D, SCHOON H.A (2008). Immunolocalisation of the uterine secretory proteins uterocalin, uteroferrin and uteroglobin in the mare's uterus and placenta throughout pregnancy. **Theriogenology** 70: 746–757

FERRAZ, L.E.S.; VICENTE, W.R.R. Concentração de progesterona e estradiol e características ultra-sonográficas da vesícula embrionária no início da gestação em éguas Puro Sangue Inglês. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.4, p.470-6, 2001.

- FERREIRA, J.B. P; PINHO, T.G. SANTOS, M.R. C et al. Incidência e caracterização ultrassonográfica da morte embrionária em éguas da raça Campolina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.202-203,1999.
- FINGER, I; SANTOS, R; LINS, L. NOGUEIRA, C.E. Medição da junção útero placenta em éguas Puro Sangue Inglês de um criatório na região de Bagé-RS a partir do quinto mês de gestação. **XVIII CIC. XI ENPOS**. Pelotas, RS 2009.
- FLEURY J.J., ALVARENGA M.A., COSTA NETO J.B.F. & PAPA F.O. 1987. Transferência de embriões em eqüinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 39: 485-487.
- FLEURY J.J. & ALVARENGA M.A. 1999. Effects collection day on embryo recovery and pregnancy rates in nonsurgical equine embryo transfer program. **Theriogenology** 51: 261
- FLEURY J.J., PINTO A.J., MARQUES A., LIMA C.G. & ARRUDA R.P. 2001. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em eqüinos da raça Mangalarga. **Brazilian Journal Veterinary Research. Animal Science** 38:29-33.
- FLEURY P.D.C., ALONSO M.A., SOUSA F.A.C., ANDRADE A.F.C. & ARRUDA R.P. 2007. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 31:27-31.
- FORSYTH I.A, ROSSDALE P.D, THOMAS C.R. Studies on milk composition and lactogenic hormones in the mare. **Journal Reproduction Fertility Supplementary** 1975;23:631-5.
- FOSTER S.J, MARSHALL D.E., HOUGHTON E, GOWER D.B. Investigations into the biosynthetic pathways for classical and ring B-unsaturated oestrogens in equine placental preparations and allantochorionic tissues. **Journal Steroid Biochemic Molecular Biology** 2002; 82:401-11.
- FOWDEN A.L., COMLINE R.S., SILVER M. Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. **Equine Veterinary Journal** 1984;16: 239-46
- FOWDEN A.L. Comparative aspects of fetal carbohydrate metabolism. **Equine Veterinary Journal Supplementary** 1997; 24:19-25.
- FOWDEN A.L. The insulin-like growth factors and fetoplacental growth. **Placenta** 2003;24: 803-12.
- GASTAL M.O, GASTAL E.L, TORRES C.A.A, GINTHER O.J (1998). Effect of PGE2 on Uterine Contractility and Tone in Mares. **Theriogenology**, 50: 989-999.
- GASTAL M.O, GASTAL E.L, KOT K, GINTHER O.J. Factors related to the time of fixation of the conceptus in mares. **Theriogenology** 1996; 46:1171-1180.
- GINTHER O.J. **Reproductive Biology of the Mare**, 2nd edn. Cross Plains, WI: Equiservices, 1992
- GINTHER O.J (1983). Mobility of the early equine conceptus. **Theriogenology**, 19: 603-611.

- GINTHER O.J. Fixation and orientation of the early equine conceptus. **Theriogenology** 1983; 19:613–623.
- GINTHER, O.J. Embryonic Loss. In: Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. **Cross Plains: Equiservices**, 1986; p 241,253-285.
- GINTHER, O.J. Embryonic Loss in mares: Incidence, time of occurrence, and hormonal involvement. **Theriogenology**, v.23, n°1, p.77-89, 1985
- GINTHER, O.J.; GARCIA, M.C. BERGFELT, D.R.; Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. **Theriogenology**, v.24, p.409-417, 1985.
- GINTHER, O.P. Ultrasound imaging and reproductive events in the mare. **Madison. Equiservice**, 1986, 377 p.
- GOMES, G.M.; JACOB, J.C.F.; DOMINGUES, I.B. Utilization of mares after first post partum ovulation as embryo recipients. In: **6 th International Symposium on Equine Embryo Transfer, 2004, Rio de Janeiro, Brasil. Proceedings...** Rio de Janeiro: 2004.
- GRECO G.M, AVANZI B.R, FIORATTI E.G, QUEIROZ F.J. R, MEIRA C, ALVARENGA M.A. Efeito da interrupção do tratamento com progesterona em éguas receptoras acíclicas apresentando a formação de corpos lúteos acessórios. **Acta Science Veterinary**. 2008;36 Supl 2: 590.
- HAFEZ E.S. E, HAFEZ B. **Reprodução animal**. 7ª ed. Barueri: Manole; 2004.
- HALUSKA, G.J, CURRIE, W.B. Variation in plasma concentrations of oestradiol-17 beta and their relationship to those of progesterone, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F-2 alpha and oxytocin across pregnancy and at parturition in pony mares. **Journal Reproduction Fertility** 1988; 84:635–46.
- HAN X, ROSSDALE P.D, OUSEY J, HOLDSTOCK N, ALLEN W.R, SILVERM, FOWDEN A.L, MCGLADDERY A.J, LABRIE F, BELANGER A, *et al*. Localisation of 15-hydroxy prostaglandin dehydrogenase (PGDH) and steroidogenic enzymes in the equine placenta. **Equine Veterinary Journal** 1995; 27:334–9
- HASEGAWA T, SATO F, NAMBO Y, ISHIDA N. Expression of steroidogenic enzyme genes in the equine feto-placental unit. **Journal Equine Science** 2001; 12:25–32.
- HEAP, R.B, HAMON M, ALLEN W.R. Studies on oestrogen synthesis by the preimplantation equine conceptus. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1982;32:343–52.
- HEIDLER B, PARVIZI N, SAUERWEIN H, BRUCKMAIER R.M, HEINTGES U, AURICH J.E, AURICH C. Effects of lactation on metabolic and reproductive hormones in Lipizzaner mares. **Domestic Animal Endocrinology** 2003; 25:47–59.
- HOLTAN D.W, NETT T.M, ESTERGREEN V.L. Plasma progestins in pregnant, postpartum and cycling mares. **Journal Animal Science** 1975; 40:251–60.
- HOLTAN D.W, SQUIRES E.L, LAPIN D.R, GINTHER O.J. Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. **Journal Reproduction and Fertility**. 1979; 127 Suppl:457-63.

HOLTAN D.W, HOUGHTON E, SILVER M, FOWDEN A.L, OUSEY J, ROSSDALE P.D. Plasma progesterone in the mare, fetus and newborn foal. **Journal Reproduction in Fertility Supplementary** 1991; 44:517– 28

HOWELL, C.; ROLLINS, W 1951.environmental sources of variation in the gestation length of the horse. **Journal Animal Science** 10:789-796

HURTGEN J.P. 2008. Management of embryo donor mares with chronic infertility. **Proceedings 54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, San Diego, California. P.414-417

IMEL K.J. 1981. Recovery, culture and transfer of equine embryos. **MS Thesis, Colorado State University**, Fort Collins, CO, USA.

IULIANO M.F., Squires E.L. & Cook V.M. 1985. Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. **Journal Animal Science**. 60:258-263.

JACKSON, P.G.G. **Obstetrícia Veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2005.

JACOB, J.C.F.; DOMINGUES, I.B.; GASTAL, E.L. et al. The impact of degree of synchrony between donors and recipients in a commercial equine embryo transfer program. **Theriogenology** , v.57, n.1, p. 545, 2002.

JOBERT,M.L.;Le BLANC,M.M;PIERCE,S.W.Pregnancy loss rate in equine uterine body pregnancies **Equine Veterinary Education**,v. 17,n.3,p.163-165,2005.

KÄHN,W. **Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik** .Hannover.Schulterische Verlage 1991,256 p.

KÄHN, W. **Veterinary reproductive ultrasonography**. London: Mosbywlf, 1994. 256p

KASTELIC JP, ADAMS GP, GINTHER OJ. Role of progesterone in mobility, fixation, orientation, and survival of the equine embryonic vesicle. **Theriogenology** 27: 655-663, 1987.

KENNEY, R.M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. **Journal American Veterinary Medical , Assoc**,v 172,p.241,1978.

KLONISCH T, HOMBACH-KLONISCH S. Review: relaxin expression at the fetomaternal interface. **Reproduction in Domestic Animals** 2000; 35:149–52.

LAU, L.C. LISBOA, F.P. DOS SANTOS, R.S; HARTWIG, F.P; CURCIO, B.R. Relação da medida da órbita ocular fetal e tempo de gestação em éguas da raça Crioula. **XII ENPOS, XIX CIC, II Mostra Científica**, Pelotas-RS, 2010.

LEADON D.P, ROSSDALE P.D, JEFFCOTT L.B, ALLEN W.R. A comparison of agents for inducing parturition in mares in the pre-viable and premature periods of gestation. **Journal Reproduction in Fertility Suppl** 1982;32:597–602.

LEADON D.P, ROSSDALE P.D, JEFFCOTT L.B, ALLEN W.R. A comparison of agents for inducing parturition in mares in the pre-viable and premature periods of gestation. **Journal Reproduction in Fertility Suppl** 1982; 32:597–602.

- LE BLANC, M. M.; MACPHERSON, M.; and SHEERIN, P. (2004) Ascending placentitis: what we know about pathophysiology, diagnosis, and treatment. In: **Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, Denver, 2004, v.50, 127-143.
- LEITH G.S, GINTHER O.J (1984). Characterization of intrauterine mobility of the early equine conceptus. **Theriogenology**, 22: 401-408.
- LEUNG S.T, WATHES D.C, YOUNG I.R, JENKIN G. Effect of labor induction on the expression of oxytocin receptor, cytochrome P450 aromatase, and estradiol receptor in the reproductive tract of the late-pregnant ewe. **Biology Reproduction** 1999; 60:814–20.
- LIRA, R.A.; PEIXOTO, G.C.X.; SILVA, R.A. Transferência de embrião em equinos: revisão. **Acta Veterinária Brasilica**, v.3, n.4, p.132-140, 2009.
- LISA H.M. & MEADOWS S. 2008. Essential management practices in commercial equine embryo transfer. **Proceedings 7<sup>th</sup> International Symposium on Equine Embryo Transfer**, Cambridge, UK. p.101-102.
- LOPES, E.P. Parâmetros reprodutivos de éguas Mangalarga marchador em projeto comercial de transferência de embriões **Dissertação de Mestrado**. 53 pág. 2004
- LOPES, M.D.; PAPA, F.O; PRESTES,N.C et al. Morte embrionária precoce em éguas: aspectos clínicos e hormonais. In: **X Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 1993, Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte: CBRA,1993 v2,p 231-380
- MACPHERSON, M.L.; BAILEY, C.S. A clinical approach to managing the mare with placentitis. **Theriogenology**, 2008.
- MARSHALL D.E, GOWER D.B, SILVER M, FOWDEN A, Houghton E. Cannulation in situ of equine umbilicus. Identification by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of differences in steroid content between arterial and venous supplies to and from the placental surface. **Journal Steroid Biochemistry Molecular Biology** 1999;68:219–28.
- MARTIN J.L, SALTIEL A, EVANS J.W. Progesterone synthesis by different types of corpora lutea during the first 198 days of pregnancy. **Journal Equine Veterinary Science** 1989; 9:84-87.
- McFEELEY, R. A. Chromosomes and infertility. **Journal American Veterinary Medic. Assoc.**,v. 153, n. 12, p. 1672-1675, 1968.
- McKINNON A.O., SQUIRES E.L. & CARNEVALE E.M. 1988. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology** 29:1055-1063.
- McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 2011.
- McKINNON A.O. & SQUIRES E.L. 2007. Embryo transfer and related technologies, p.319-334. In: **Current Therapy Equine Reproduction**. Saunders, Missouri.
- MERKT,H. et al Echografie – eine Ergänzung der gynäkologischen Untersuchungsmethode zur Zyklus und Trächtigkeitsdiagnose beim Pferd.**Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.90,n.3,p.201-48,1983.

- MULLIS P.E, TONELLA P. Regulation of fetal growth: consequences and impact of being born small. **Best Practice Research Clinic Endocrinology Metabolic** 2008; 22:173–90.
- NETT T.M, HOLTAN D.W, ESTERGREEN V.L. Oestrogens, LH, PMSG, and prolactin in serum of pregnant mares. **Journal Reproduction Fertility Suppl** 1975;457–62.
- NISWENDER G.D, JUENGEL J.L, SILVA P.J, ROLLYSON M.K, MCINTUSH E.W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiology Review**, v.80, p.1-28, 2000.
- NEWCOMBE, J.R.;WILSON,M.C.,Age ,body weight, and pregnancy loss. **Journal Equine Veterinary Science**, v.25 p.188-194, 2005.
- O'DONNELL L.J, SHEERIN B.R, HENDRY J.M, THATCHER M.J, THATCHER W.W, LEBLANC M.M. 24-hour secretion patterns of plasma oestradiol 17beta in pony mares in late gestation. **Reproduction in Domestic Animals** 2003;38:233–5.
- OGURI N. & TSUTSUMI Y. 1980. Non-surgical transfer of equine embryos. **Archive Androl.** 5:108.
- OUSEY J.C, FORHEAD A.J, ROSSDALE P.D, GRAINGER L, HOUGHTON E, FOWDEN A.L. Ontogeny of uteroplacental progestagen production in pregnant mares during the second half of gestation. **Biology Reproduction** 2003;69:540–8
- PALMER, E., DRIANCOURT, M.A. Use of ultrasound echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v.13, p.203-216, 1980.
- PASHEN R.L, ALLEN W.R. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition in the mare. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1979;27:499–509.
- PASHEN R.L, SHELDRIK E.L, ALLEN W.R, FLINT A.P. Dehydroepiandrosterone synthesis by the fetal foal and its importance as an oestrogen precursor. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1982;23:32:389–97.
- PASTORELLO M., MEIRA C., FLEURY J.J. & DUARTE M.C.G. 1996. Transferência não cirúrgica de embriões em eqüinos de hipismo. **Arquivo da Faculdade Veterinária UFRGS** 24:212.
- PERES K.R., TRINQUE C.L.N., LIMA M.M., DUARTE M.C. & MEIRA C. 2002. Non-surgical equine embryo transfer: a retrospectivestudy. **Theriogenology** 57:558-558.
- PINTO C.R.F. & MEYERS P.J. 2007. Control and synchronization.of the estrous cycle and ovulation, p.91-98. In: Youngquist R.S. & Threlfall W.R. (Ed.) Current therapy in large animal **Theriogenology**. Elsevier Science, St. Louis.
- PINTO C.R.F. Progestagens and progesterone. In: Mc Kinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD. **Equine reproduction**. 2º ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2011. p.1811-7
- PLATT H. Growth of the equine foetus. **Equine Veterinary Journal** 1984;16(4):247–52

- PONOMARENKO, N. The duration of embryonic development. **Konev. Konnyi Sport**, v.4, p.35-36, 1991.
- RAESIDE J.I, LIPTRAP R.M, MCDONELL W.N, MILNE F.J. A precursor role for DHA in a feto-placental unit for oestrogen formation in the mare. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1979;27:493-7.
- RAESIDE J.I, LIPTRAP R.M. Patterns of urinary oestrogen excretion in individual pregnant mares. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1975;23:649-75.
- RAESIDE J.I, CHRISTIE H.L, RENAUD R.L, WAELCHLI R.O, BETTERIDGE K.J (2002). Estrogen metabolism in the equine conceptus and endometrium in early pregnancy. **Theriogenology**, 58: 817-820.
- RAESIDE J.I, CHRISTIE H.L, RENAUD R.L, WAELCHLI R.O, BETTERIDGE K.J (2004). Estrogen Metabolism in the Equine Conceptus and Endometrium During Early Pregnancy in Relation to Estrogen Concentrations in Yolk-Sac Fluid. **Biology of Reproduction**, 71: 1120-1127.
- RAESIDE J.I, RENAUD R.L, CHRISTIE H.L. Postnatal decline in gonadal secretion of dehydroepiandrosterone and 3 betahydroxyandrost- 5,7-dien-17-one in the newborn foal. **Journal of Endocrinology** 1997;155:277-82.
- TAIT A.D, SANTIKARN S, ALLEN W.R. Identification of 3 betahydroxy-5,7-pregnadien-20-one and 3 beta-hydroxy-5,7-androstadien-17-one as endogenous steroids in the fetal horse gonad. **Journal Endocrinology** 1983; 99:87-92.
- REBOUÇAS, M.F. 2010 <http://www.slideshare.net/labimuno/quimioluminescencia-3540384>
- RENAUDIN, C.D., LIU, I.K.M., TROEDSSON, M.H.T., SCHRENZEL, M.D., Transrectal ultrasonographic diagnosis of ascending placentitis in the mare: a report of two cases. **Equine Veterinary Education** v. 11, p. 69-74, 1999
- RICKETTS, S. Management of the infertile/ subfertile mare. In: **Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association**, Moscow, v.10, 244-256, 2008.
- RIGBY S, LOVE C, CARPENTER K, VARNER D, BLANCHARD T. Use of prostaglandin E2 to ripen the cervix of the mare prior to induction of parturition. **Theriogenology** 1998;50:897- 904
- ROCHA, A.N; LOPES, E.P.; G.UIMARAES, J.D; SIQUEIRA, J.B. TORRES, C.A. A; PINHO, R.O.; CARVALHO, G.R. Taxas de prenhez e perda embrionária precoce em programa comercial de transferência de embriões da raça Mangalarga Marchador. **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal** (2007)
- ROCHA FILHO A.N., PESSÔA M.A., GIOSO M.M. & ALVARENGA M.A. 2004. Transfer embryos into anovulatory recipients supplement with short or long acting progesterone. **Animal Reproduction** 1:91-95.
- ROITT, I., BROSTOFF, J., MALE, D., **Immunology**, 2nd Ed. Gower Med. Publishing, London, (1989)

- ROWLANDS I. Serum gonadotrophin and ovarian activity in the pregnant mare. **Journal Endocrinology** 1949;6:184–91.
- RUDDOCK, W.D.J., CREWS, L.J.E., WAELCHLI, R.O., BETTERIDGE, K.J., 2000. Fructose accumulation by the equine conceptus during the second to fourth weeks of gestation. **Theriogenology**.Abstract. 53, 286.
- SHARP D.C (2000). The early fetal life of the equine conceptus. **Animal Reproduction Science**, 60-61: 679-689.
- SILVER M, FOWDEN A.L. Partum adrenocortical maturation in the fetal foal: responses to ACTH. **Journal of Endocrinology** 1994; 142:417–25.
- SIMÕES, J.; GINJA, J. Monitorização Ecográfica das Estruturas Embrionárias e Fetais entre o 9º e o 56º dia de Gestação na Égua. **I Congresso de Medicina Equina e Bovina**. Vila Real, 25 e 26 de Março de 2006.
- SQUIRES E.L, DOUGLAS R.H, STEFFENHAGEN W.P, GINTHER O.J. Ovarian changes during the estrous cycle and pregnancy in mares. **Journal Animal Science** 1974;38:330–8.
- SQUIRES E.L, GINTHER O.J. Follicular and luteal development in pregnant mares. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1975; 23:429–433.
- SPENCER T.E, BAZER F.W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. **Journal Animal Science** 2004;82(E-Suppl.):E4–13.
- SPENCER T.E, BURGHART R.C, JOHNSON G.A, BAZER F.W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Animal Reproduction Science** 82-83: 537-550, 2004.
- SQUIRES E.L., IMEL K.L., IULIANO M.F. & SHIDELER R.K. 1982 Factors affecting reproductive efficiency in equine embryo transfer programme. **Journal Reproduction and Fertility** 32:409-414.
- SQUIRES E.L., COOK V.M. & VOSS J.L. 1985. Collection and transfer of equine embryo. **Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory**. Colorado State University, Fort Collins. 37p
- SQUIRES, E.L. Embryo transfer. In Mc KINNON, A.O.; VOSS,J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia:Lea & Febiger,1993 357-367.
- SQUIRES E.L. & SEIDEL G.E. 1995. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction Biotechnology Laboratory Bulletin**. Colorado State University, Fort Collins. p.397.
- SQUIRES E.L., MCCUE P.M. & VANDERWALL D.K. 1999. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology** 51:91-104.
- SQUIRES E.L., CARNEVALE E.M., MCCUE P.M. & BRUEMMER J.E. 2003. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology** 59:151- 170.

- STEWART D.R, KINDAHL H, STABENFELDT G.H, HUGHES J.P. Concentrations of 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F2 alpha alpha in the mare during spontaneous and oxytocin induced foaling. **Equine Veterinary Journal** 1984;16:270-4.
- STEWART D.R, ADDIEGO L.A, PASCOE D.R, HALUSKA G.J, PASHEN R. Breed differences in circulating equine relaxin. **Biology Reproduction** 1992; 46:648-52.
- STOUT T.A.E, ALLEN W.R (2001). Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. **Journals of Reproduction and Fertility**, 121: 771-775.
- STOUT T.A.E, ALLEN W.R (2002). Prostaglandin E2 and F2 production by equine conceptuses and concentrations in conceptus fluids and uterine flushings recovered from early pregnant and dioestrous mares. **Society for Reproduction and Fertility**, 123: 261-268
- TAYLOR T.S, HONEY P.G. Use of immunological pregnancy testing in mares carrying mule fetuses. **Equine Practice** 1980;2:25-6.
- TERQUI M, PALMER E. Oestrogen pattern during early pregnancy in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility Suppl** 1979;27:441-6.
- THIBAUT C, LEVASSEUR M.C. La reproduction chez les mammifères et l'homme. In: **Du corps jaune cyclique au corps jaune gestatif**. Paris: INRA Editions, 2001. p.479-504.
- THORBURN G.D. A speculative review of parturition in the mare. **Equine Veterinary Journal Suppl** 1993;14:41-9.
- TROEDSSON, M.; SAGE, A.M. Fetal/Placental evaluation in the mare. In: Recent Advances in Equine Reproduction. In **International Veterinary Information Service**, Ithaca, New York, 2001.
- TROEDSSON, M.H.T.; RENAUDIN, C.D.; ZENT, W.W.; STEINER, J.V. Transrectal ultrasonography of the placenta in normal mares and mares with pending abortion: A field study. In: **Proceedings of the 43th Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners AAEP**, 1997, v.43, 256-258
- TURNER, R. M., VMD, PhD, DIPLOMATE ACT; MCDONNELL, S. M. PhD; FEIT, M. S.; GROGAN E. H., BS; FOGLIA, R. DVM, MS. How to Determine Gestational Age of an Equine Pregnancy in the Field Using Transrectal Ultrasonographic Measurement of the Fetal Eye. **AAEP PROCEEDINGS**, v.52, p.250-255, 2006.
- UNANIAN, M.M.; PEREIRA, A.C. Gestation and parturition in Thoroughbred and crossbred Arab horses. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL**, 9., 1991, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1991. v.2, p.274. (Resumo)
- VAN NIEKERK C.H, GERNEKE W.H. Persistence and parthenogenetic cleavage of tubal ova in the mare. Onderstepoort **Journal Veterinary Research** 33: 195-232, 1966
- VAN NIEKERK, F,E; VAN NIEKERK,C.H. The effect of dietary protein on reproduction in the mare. VII Embryonic development early embryonic death, foetal losses and their relationship with serum progesterone. **Journal Sul African Veterinary Assoc**,v69, p.150-155,1998.

VANDERWALL D.K. & WOODS G.L. 2007. Embryo transfer and newer assisted reproductive techniques for horses, p 211-219. In: Youngquist R.S. & Threlfall W.R. (Eds) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. Saunders, Missouri.

VANDERWALL, D.K. Early Embryonic Loss in the Mare. **Journal of Equine Veterinary Science** Vol. 28, No 11 (2008)

VELAZQUEZ M.A, SPICER L.J, WATHES D.C. The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. **Domestic Animal Endocrinology** 2008;35: 325-42.

VILLAHOZ,M.D.; SQUIRES,E.L.;VOSS,J.L.;SHIDELER,R.K. Some observations on early embryonic death in mares.**Theriogenology**,v.23,p.915-924.

VIVO, R.; CASTEJAN-CALDERON, F.J.; SANTISTEBAN, R. et al. Gestation length in Arab and Andalusian mares. **Zootechny**, v.33, p.263-267, 1984.

VOGELSANG S.G., SORENSEN A.M., POTTER G.D., BURNS S.J. & KRAEMER D.C. 1979. Fertility of donor mares following nonsurgical collection of embryos. **Journal Reproduction and Fertility** 27:383-386

WEBER J.A, FREEMAN D.A, VANDERWALL D.K, GORDON L.W. Prostaglandin E2 secretion by oviductal transportstage equine embryos. **Biology Reproduction** 45: 540-543, 1991

WILSON J.M., ROWLEY W.K., SMITH H.A., WEBB R.L. & TOLLESON D.R. 1987. Successful non-surgical transfer of equine embryos to post-partum lactating mares. **Theriogenology** 27:295.

WOODS, J.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Effects of time insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss rate in mares. **Equine Veterinary Journal**,v.22, p.410-415,1990.

WORTHY K, ESCREET R, RENTON J.P, ECKERSALL P.D, DOUGLAS T.A, FLINT D.J. Plasma prolactin concentrations and cyclic activity in pony mares during parturition and early lactation. **Journal Reproduction and Fertility** 1986;77:569-74.

YAMAUCHI S. Histological development of the equine fetal adrenal gland. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1979;27:487-91.

ZAVY J.T, MAYER R, VERNON M.W, BAZER F.W, SHARP D.C. An investigation of the uterine luminal environment of nonpregnant and pregnant pony mares. **Journal Reproduction and Fertility Suppl** 1979;27:403-11.

4.10 - Anexos

ANEXO I

Vesículas embrionárias

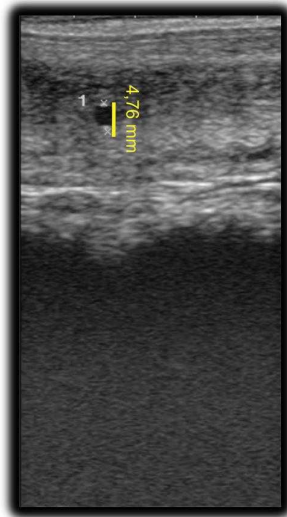


Fig. 15 - Vesícula de 12 dias (4,76mm)

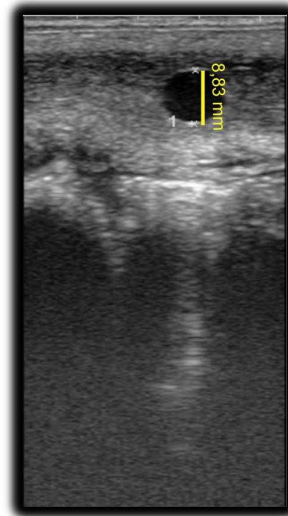


Fig. 16 - Vesícula de 13 dias (8,83 mm)

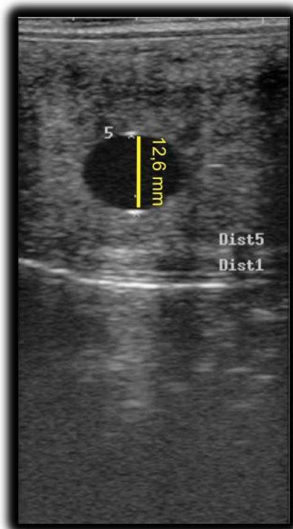


Fig. 17 - Vesícula de 13 dias (12,6 mm)

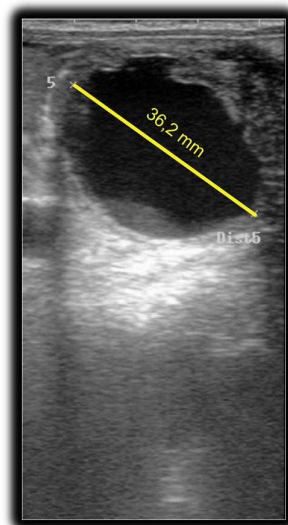


Fig. 18 - Vesícula de 24 dias (36,2 mm)



Fig. 19 – Vesícula com 24 dias (34 mm) e aparecimento do embrião na parte ventral

Fonte: Arquivo pessoal (2013)

## Fetos

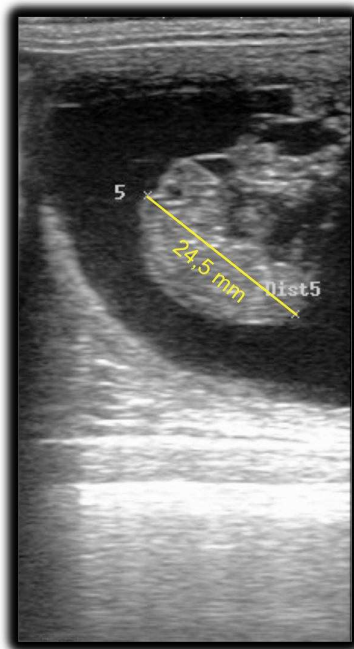


Fig. 20 - Feto com 34 dias  
(24,5 mm)

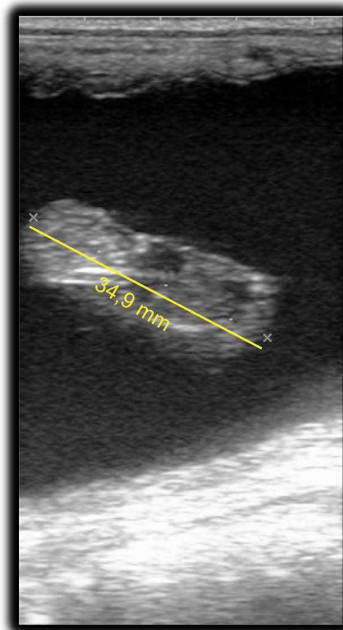


Fig. 21 - Feto com 46 dias  
(34,9 mm)

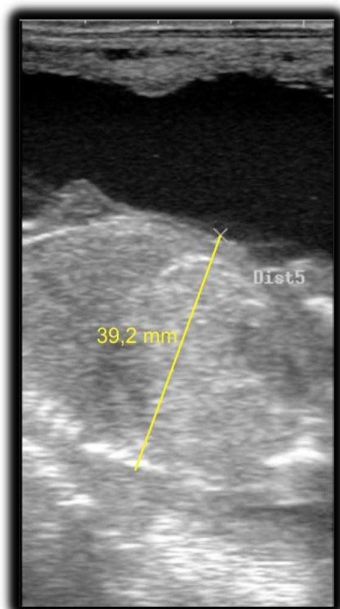


Fig. 22 – Feto com 77 dias (39,2 mm)

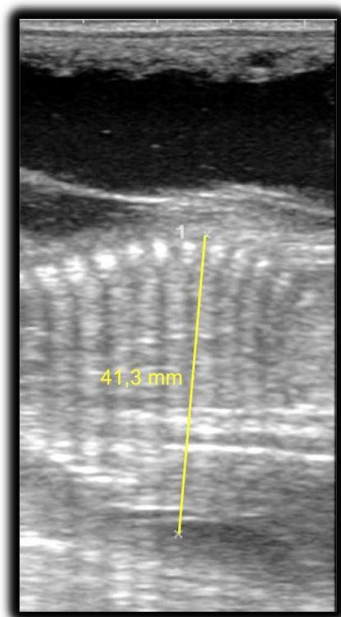


Fig. 23 – Feto com 98 dias (41,3 mm)

## Órbita ocular

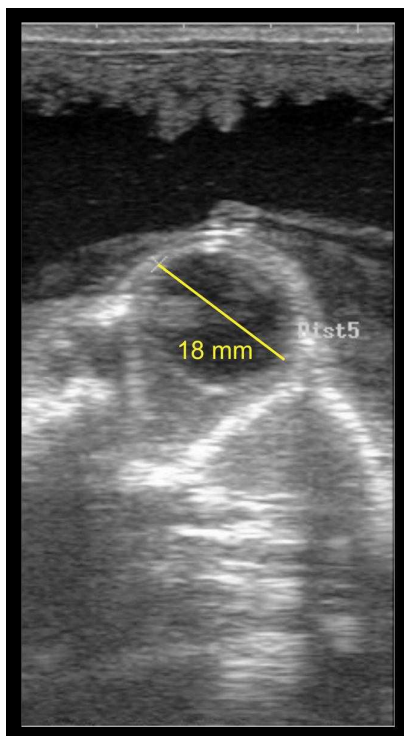


Fig. 24 - Órbita ocular fetal de 70 dias (18 mm)

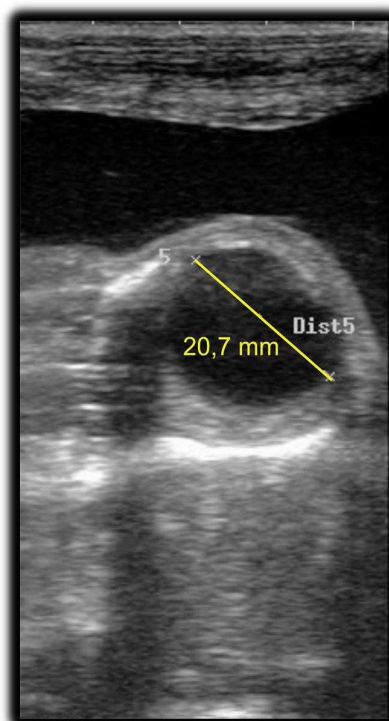


Fig. 25 - Órbita ocular fetal de 120 dias (20,7 mm)

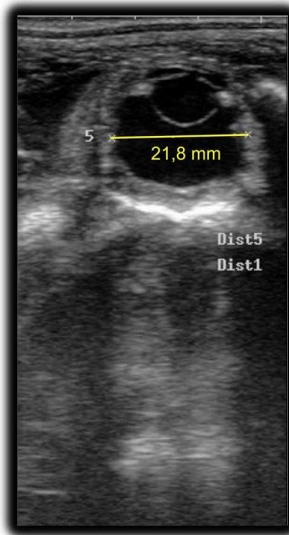


Fig. 26 - Órbita ocular fetal de 130 dias  
(21,8 mm)

### Junção útero-placentária (JUP)



Fig. 27 - JUP aos 150 dias (4,11 mm)

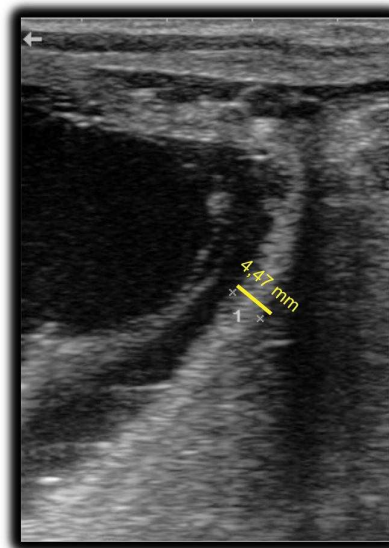
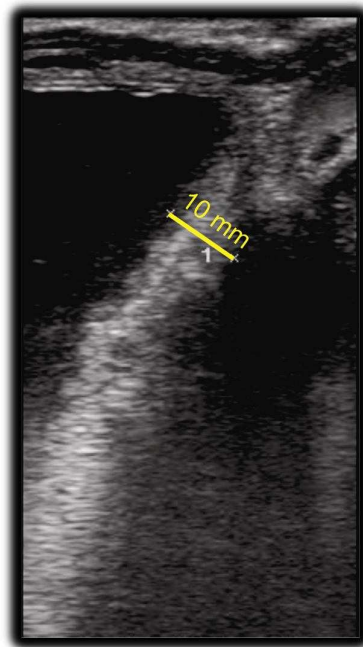


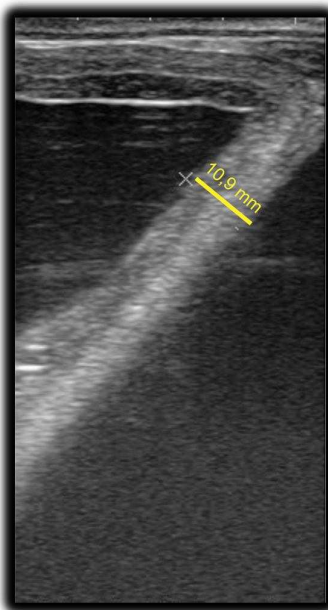
Fig. 28 - JUP aos 210 dias (4,47 mm)



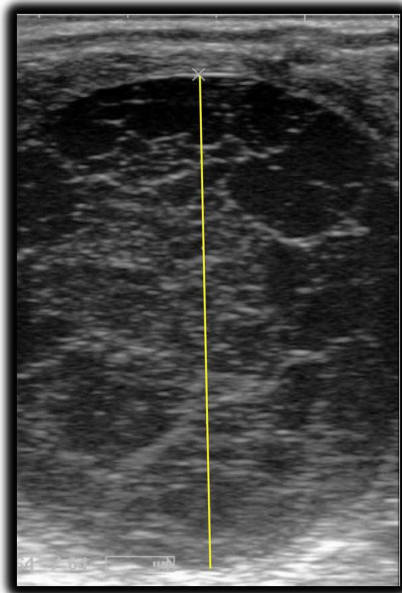
**Fig. 29 – JUP aos 240 dias  
(7,26 mm)**



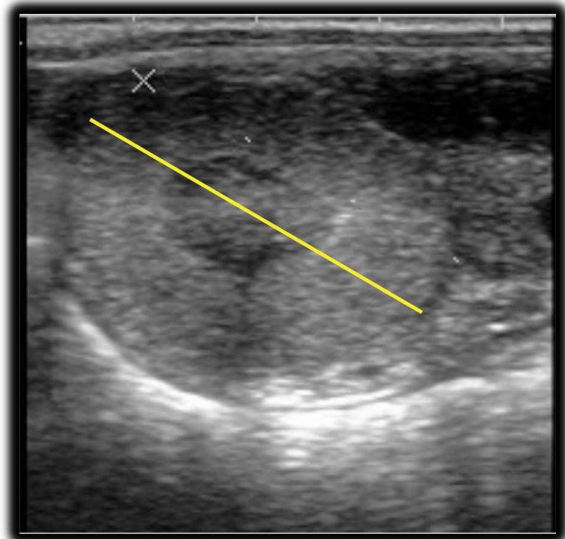
**Fig. 30 – JUP aos 270 dias  
(10,00 mm)**



**Fig. 31 – JUP aos 330 dias  
(10,90 mm)**



**Fig. 32 – Folículo hemorrágico anovulatório.**



**Fig. 33 – Corpo lúteo com centro não-ecogênico**



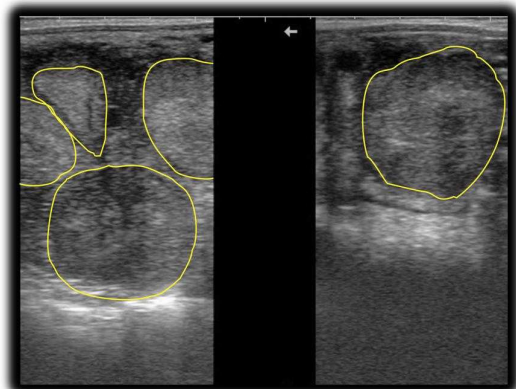
**Fig. 34 – Égua apresentando 3 corpos lúteos normais (amarelo) e 2 corpos lúteos com centro não-ecogênico (vermelho)**



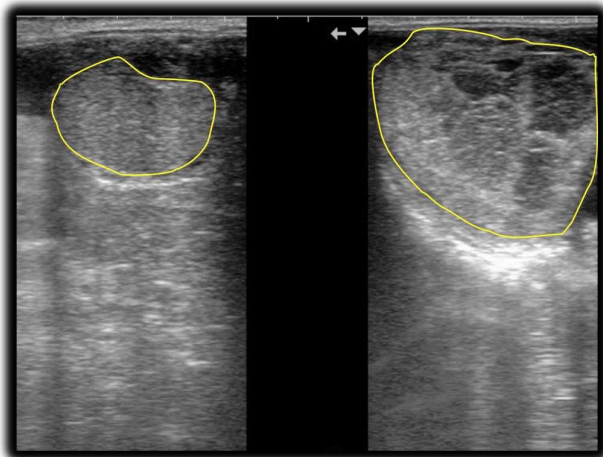
**Fig. 35 – Corpo lúteo gestacional**



**Fig. 36 - Égua apresentando 6 corpos lúteos normais**



**Fig. 37 - Égua apresentando 5 corpos lúteos normais**



**Fig. 38 - Corpo lúteo normal (esquerda) e folículo hemorrágico anovulatório (direita)**

**Fonte: Arquivo pessoal (2013)**

## ANEXO II

<b>PARÂMETROS DE GESTAÇÃO DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR</b>			
1. Duração média da gestação	334 dias		
2. Surgimento de corpos lúteos acessórios em éguas cíclicas	35 dias		
3. Surgimento de corpos lúteos em éguas acíclicas com uso de P4 exógena	60 dias		
4. Número médio de corpos lúteos acessórios em éguas cíclicas	2 a 6		
5. Número médio de corpos lúteos acessórios em éguas acíclicas com uso de P4 exógeno	2 a 4		
6. Correlações encontradas na raça Mangalarga Marchador	Modelo de regressão	Legendas	Eficiência do modelo
Idade embrionária X Diâmetro da vesícula embrionária	<b><math>y=7,61366 + 0,47754x</math></b>	Y=Idade fetal X =Diâmetro da vesícula	76,45%
Idade fetal X Comprimento crânio-caudal	<b><math>y= 25,66516 + 0,64360 x</math></b>	Y=Idade fetal X=Comprimento crânio-caudal	53,52%
Idade fetal X Diâmetro torácico	<b><math>y=20,52672 + 1,85657x</math></b>	Y= Idade fetal X= Diâmetro torácico	82,62%
Idade fetal X Diâmetro da órbita ocular	<b><math>y=-58,41479+10,57266x</math></b>	Y=Idade fetal X=Diâmetro da órbita ocular	74,12%
Concentração de P4 X área de CL	Concentração de P4 = $5,2551 + 0,02435 X$ (Área de CL) $+0,00064167 X$ (Área de CL <sup>2</sup> )		12,4%