



## **CARACTERÍSTICAS ULTRASSONOGRÁFICAS DE CORPOS LÚTEOS ACESSÓRIOS EM ÉGUAS RECEPTORAS ACÍCLICAS GESTANTES E CÍCLICAS CONVENCIONAIS GESTANTES**



10.56238/edimpecto2025.007-003

**Laura Escáfura Ramalho**

Mestre em Ciências Animal

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)

Endereço: Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil

Email: lah.ramalho@hotmail.com

**Eduardo Shimoda**

Doutor em Produção Animal

Instituição: Universidade Cândido Mendes (UCAM)

Endereço: Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil

Email: shimoda@ucam-campos.br

**José Frederico Straggiotti Silva**

Doutor em Medicina Veterinária

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)

Endereço: Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil

Email: straggio@uenf.br

ID Lattes: 1845406575748415

### **RESUMO**

A constatação de que éguas receptoras acíclicas tratadas hormonalmente podem manter a gestação através de sua produção endógena, após a formação dos corpos lúteos acessórios reduziria os gastos com suplementação de P4 nos programas de Transferência de Embriões. O experimento consistiu em avaliações ultrassonográficas dos ovários de éguas receptoras acíclicas suplementadas com progesterona exógena (período de anestro) e éguas cíclicas convencionais (estação de monta). A constatação da prenhez foi realizada com 15 dias de gestação, sendo as avaliações seguintes no período de formação dos corpos lúteos com 30 dias de gestação e no acompanhamento gestacional, com 60 e 90 dias. As imagens foram registradas e recortadas na região dos corpos lúteos e tratadas no aplicativo Pixel Analyser com o objetivo de analisar suas dimensões através da densidade de coloração dos pixels. As áreas de importância foram as hiperecogênicas, que representam o parênquima dessas estruturas, até os 120 dias de gestação, estimando, se a capacidade de produção de P4 por área no grupo experimental seria similar ao do grupo controle. Isso permitiria supor a possibilidade de manter a gestação sem suplementação de P4 exógena, o que reduziria os custos com tratamento hormonal. A análise estatística consistiu na comparação de médias entre tratamentos dos grupos controle e experimental. Considerando que, embora aos 60 dias não exista diferença estatística no tamanho das áreas hiperecogênicas, devido às diferenças entre os grupos aos 90 dias de gestação, não seria aconselhado cessar a suplementação hormonal com completa segurança, sendo necessárias mais informações acerca do tema.



**Palavras-chave:** Éguas receptoras. Reprodução. Corpo lúteo acessório. Ultrassonografia. Prenhes. Progesterona.





## 1 INTRODUÇÃO

Pesquisa divulgada pelo IBGE mostra que a criação de equinos no país mantém um crescimento positivo e chegou próxima a seis milhões de cabeças em 2020. Assim, as biotecnologias da reprodução equina são imprescindíveis para que esse setor se desenvolva cada vez mais.

O emprego da ferramenta biotecnológica denominada Transferência de Embriões (TE) é uma maneira de aumentar os índices de nascimentos de produtos melhor selecionados nos haras (Lira, 2009). As éguas doadoras, que são éguas zootecnicamente superiores, doam os embriões que serão transferidos para as éguas receptoras e gerados por elas, em função de seu menor valor zootécnico. Há uma alta demanda e um número limitado de éguas receptoras cíclicas disponíveis durante a fase transicional. A disponibilidade de éguas receptoras tornou-se um fator limitante, especialmente durante o início da estação reprodutiva, visto que parte das receptoras está em anestro devido à atividade reprodutiva sazonal.

A ultrassonografia e a palpação transretal devem ser exames de rotina para controle reprodutivo de éguas, pois permite avaliar a morfologia e funcionalidade do sistema reprodutor, realizar o controle folicular e classificar corpo lúteo (CL), responsável por produzir progesterona (P4). A manutenção da gestação é feita pela concentração de P4. A égua apresenta a peculiaridade de possuir além do corpo lúteo primário (CLp), oriundo do folículo ovulado, os corpos lúteos acessórios (CLa), oriundos de novas ondas foliculares e responsáveis por complementar a produção de P4 a partir de 36 a 40 dias de gestação até cerca de 150 dias, momento este onde a placenta torna-se responsável por essa função até o final da gestação (Silva et al., 2012). Sabendo-se que o desenvolvimento de corpos lúteos acessórios (CLa) é responsável pela síntese suplementar de progesterona até que a gestação se torne placentária-dependente, é provável que o tratamento com progesterona exógena nas éguas receptoras gestantes acíclicas possa ser interrompido mais precocemente durante a gestação.

## 2 JUSTIFICATIVA

A transferência de embriões (TE) é uma técnica mundialmente desenvolvida e disseminada na maioria das associações de criadores de cavalos, sendo Brasil, Argentina e Estados Unidos os países que detêm o maior número de embriões transferidos por ano. No entanto, um importante fator limitante nos programas de TE é o número e a qualidade reduzidos de éguas receptoras durante a estação reprodutiva. Há uma alta demanda e um número limitado de éguas receptoras cíclicas disponíveis durante a fase transicional. A disponibilidade de éguas receptoras tornou-se um fator limitante, especialmente durante o início da estação reprodutiva, visto que parte das receptoras está em anestro devido à atividade reprodutiva sazonal. Além disso, o manejo alimentar diferenciado geralmente fornecido às éguas doadoras e receptoras pode atrasar o início da ciclicidade nas receptoras.



Para aumentar a oferta de éguas receptoras em programas de TE, tratamentos com estrogênio e/ou progesterona (P4) podem ser administrados em éguas receptoras não cíclicas.

Considerando que o desenvolvimento de corpos lúteos acessórios (Cla) é responsável pela síntese suplementar de progesterona até que a gestação se torne placentária-dependente, é provável que o tratamento com progesterona exógena nas éguas receptoras gestantes acíclicas possa ser interrompido mais precocemente durante a gestação. Para testar a hipótese de que éguas receptoras prenhes não cíclicas desenvolvem Cla capaz de manter a gestação, avaliamos: imagens ultrassonográficas dos corpos lúteos acessórios de éguas receptoras prenhes acíclicas suplementadas com P4, comparando com os corpos lúteos de éguas receptoras prenhes cíclicas para inferir a possibilidade da suplementação poder cessar antes dos 90 dias de gestação, o que representa uma economia para o proprietário de equinos.

### 3 OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi o de verificar a presença e o desenvolvimento de corpos lúteos acessórios em éguas receptoras acíclicas gestantes suplementadas com progesterona exógena, buscando inferir se a imagem ultrassonográfica do(s) corpo(s) lúteo(s) acessório(s) de éguas receptoras acíclicas tratadas hormonalmente poderia prever a possibilidade de manutenção da gestação através de sua produção endógena. Dessa forma, seria possível reduzir os gastos com tratamentos hormonais nos programas de Transferência de Embriões, já que a progesterona exógena representa grande parte desses.

### 4 REFERENCIAL TEÓRICO

Nos últimos 20 anos, vários países como os EUA, Brasil e Argentina tem usado amplamente a Transferência de Embrião em equinos. Alguns fatores podem alterar os resultados da TE, como, a qualidade do sêmen do garanhão, a seleção da doadora e o método de transferência escolhido. Porém, os fatores mais importantes nesse programa são o controle reprodutivo e sincronização das éguas e a seleção das receptoras, considerando primeiramente, o estado físico geral da fêmea, o temperamento para o manejo, o histórico reprodutivo e a aptidão materna (Hartman 2011).

O ciclo reprodutivo da égua pode ser dividido em fase folicular, denominada estro, na qual há a atuação do Estrógeno (E2) e a égua está sexualmente receptiva à cópula, estando seu trato genital pronto para cobertura. A outra fase do ciclo reprodutivo é a fase lútea, denominada como diestro, na qual há a atuação da progesterona (P4) e a égua não está receptiva à cópula, estando seu trato genital preparado para a implantação e desenvolvimento de um embrião. O período de diestro termina com a regressão do corpo lúteo (CL), seguindo-se, assim, a fase folicular (Daels; Hughes, 1993).



A duração média do ciclo estral equino é de  $21,7 \pm 3,5$  dias, tendo a fase folicular uma duração média de  $6,5 \pm 2,6$  dias e a fase luteal de  $14,9 \pm 2,8$  dias no decorrer da estação fisiológica de cobertura (Ginther, 1992).

O corpo lúteo foi descoberto em 1573 por Coiter (Luz, 2004). Após diversos estudos, concluiu-se que o corpo lúteo é uma glândula endócrina transitória que se desenvolve no ovário após a ovulação, através do crescimento, diferenciação, reorganização e luteinização das células da teca e da granulosa remanescentes do folículo ovulado (Davis; Rueda, 2002). É constituído por células luteínicas esteroidogênicas pequenas e grandes que a cada ciclo, juntamente com os fibroblastos, são responsáveis pela produção de progesterona (Bertan, 2006), identificada em 1929 por Corner e Allen como o principal hormônio secretado pelo corpo lúteo. Já em 2007, Stocco concluiu que o CL é fundamental para regular o ciclo estral e permitir a manutenção da gestação.

Após ganhar a circulação sanguínea, a P4 realiza ação fisiológica em diversos tecidos alvos. Esse hormônio promove a formação de um ambiente uterino adequado para o desenvolvimento embrionário, ocorrendo, o desenvolvimento glandular do endométrio, responsável pela produção do leite uterino (Mc Kinnon; Voss, 1992) que realiza a nutrição do embrião até o final da placentação. Na ausência da fertilização ou na incapacidade do conceito em sinalizar sua existência no útero, pulsos de prostaglandina ( $PGF_{2\alpha}$ ) são liberados pelas células endometriais, promovendo a luteólise. Assim, termina o diestro, iniciando um novo estro (Webb et al., 2002; Bertan, 2006). Em equinos existe a formação de CL acessórios no período gestacional. Ao redor de 38 dias, as células trofoblásticas da cinta coriônica da vesícula embrionária invadem o epitélio uterino, se diferenciando em cálices endometriais. Essas estruturas placentárias secretam a gonadotrofina coriônica equina (eCG), hormônio glicoproteico de ação semelhante ao FSH, estimulando o crescimento de folículos, que podem ovular e luteinizar, formando os corpos lúteos acessórios ao redor de 40 dias de gestação. (Silva et al., 2012) Os CLa(s) incrementam a produção de P4, que auxilia a manutenção de gestação até cerca de 150 dias de gestação. A partir desse momento a placenta assume integralmente essa função (Niswender et al., 2000; Thibault; Levasseur, 2001).

Para a Transferência de Embriões equinos existe o método cirúrgico, por incisão no flanco, e o não cirúrgico através da via transcervical, sendo esse o mais prático, rápido e menos invasivo, já que basta depositar o embrião no corpo uterino com o auxílio de uma pipeta de inseminação artificial, utilizando e técnica coberta, isto é, revestindo o equipamento com uma bainha plástica para evitar contaminação, o que aumenta a taxa de prenhes de 23% para 54% (Squires et al., 1999).

O principal fator limitante relacionado com o programa de Transferência de Embriões é a aquisição e manutenção de éguas receptoras em função de seu alto custo, além da técnica do veterinário que realizará a transferência (Hinrichs, 1987).



As éguas receptoras de embrião são aquelas que recebem e geram o embrião, ou seja, elas terão que reconhecê-lo e fornecer as condições necessárias ao seu desenvolvimento (Fleury et al., 2007). Por isso, a seleção das receptoras é decisiva nos resultados de prenhes, uma vez que terão que criar o produto. O grupo das doadoras são as que doam o material genético para a formação do embrião e também demandam atenção, uma vez que o sucesso do programa de TE também depende de altos índices de recuperação embrionária.

A preparação da égua receptora de embriões começa quando a égua doadora apresenta os sinais de cio, devendo-se monitorar o crescimento folicular e a ovulação, definindo o melhor momento para a inseminação desse animal (Vanderwall et al., 2007). É desejável que para cada doadora estejam disponíveis pelo menos duas ou três receptoras (McKinnon; Squires, 2007). Assim, no momento da inovulação será possível escolher a que apresentar as melhores condições reprodutivas e o melhor perfil progesterônico para receber o embrião.

A sincronização estral das éguas para a TE pressupõe que a ovulação da égua receptora deve ocorrer em média um dia antes ou até três dias após a ovulação da égua doadora (Squires, 1999). Ou seja, os melhores índices de prenhez nas receptoras ocorrem quando a janela de sincronização se estabelece entre -3 (ovulação da receptora ocorre três dias após a da doadora) e +1 (ovulação da receptora ocorre um dia antes a da doadora) em relação às doadoras (Squires et al., 1985; Mc Kinnon et al., 1988).

Em éguas cíclicas o procedimento de sincronização é simples, utilizando-se uma única injeção intramuscular (IM) de prostaglandina F<sub>2</sub>-alfa na égua doadora, cerca de um ou dois dias antes da mesma aplicação utilizada nas receptoras, quando ambas estiverem entre o 6º e o 14º dias do diestro e na ausência de um folículo pré-ovulatório grande (Allen, 2001).

Para aumentar a oferta de éguas receptoras em programas de TE, tratamentos com estrogênio e/ou progesterona (P4) podem ser administrados em éguas receptoras não cíclicas. Diversos estudos relatam as taxas de prenhez após injeções de estrogênio e/ou progesterona (Hinrichs et al., 1986; Greco et al., 2013). Segundo Allen (2001), éguas receptoras acíclicas são normalmente suplementadas com P4 exógena desde o momento da inovulação do embrião até os 120 dias de gestação, quando a produção de progestágenos é completamente placentária-dependente.

Como foi demonstrado que o estradiol (E2) aumenta a expressão dos receptores uterinos para progesterona e que o embrião equino secreta estrogênios durante a fase gestacional inicial (Zavy, et al. 1979), o estrogênio foi administrado antes e junto com P4 em éguas ovariectomizadas e foram obtidas taxas de prenhez variando de 70 a 80% dentro dos diferentes protocolos hormonais avaliados (McKinnon et al., 1988).

Foi sugerido que, independentemente da injeção de E2, o principal requisito para o estabelecimento e manutenção da gestação em éguas receptoras não cíclicas é uma concentração





adequada de progesterona exógena (McKinnon et al., 1988). Nos últimos anos, diversas doses de E2 foram administradas a éguas receptoras não cíclicas intactas e, após a observação de edema uterino, progesterona de ação prolongada (LA P4) (Rocha Filho et al., 2004; Greco et al., 2012) ou altrenogest (Silva et al., 2014; Silva et al., 2015) foram administrados de três a oito dias antes da transferência do embrião.

Recentemente, demonstrou-se que a administração de uma dose única de 2,5 mg de benzoato de estradiol (BE) em éguas em anestro produz concentração de estrogênio semelhante à encontrada em éguas cíclicas (Silva et al., 2016). Além disso, sabe-se que a concentração plasmática de P4 após a injeção de 1500 mg de P4 de longa ação (LA) em intervalos de sete dias é compatível com as concentrações de P4 encontradas em éguas cíclicas durante a fase lútea ( $> 4$  ng/mL) (Bringel, et al., 2003).

A dose de 2,5 mg de BE causou edema endometrial e concentrações de estrogênio consistentes com as observadas no final do estro em éguas cíclicas. Além disso, a administração de 1500 mg de LA de P4 aumentou o tônus uterino para níveis característicos do diestro encontrados em éguas cíclicas e concentrações de P4 aceitáveis com as observadas durante o início da fase lútea (Silva et al., 2017).

Por outro lado, uma boa alternativa nesses casos é o uso de receptoras com ciclo artificial induzido. Portanto, injeções de estrogênio e P4 podem ser administradas em éguas no período de transição ou mesmo no período de anestro para mimetizar o ciclo natural (Squires 2008). As taxas de prenhez em receptoras que receberam estrogênio e P4 foram semelhantes às das éguas ciclando naturalmente (Carnevale et al., 2000).

Caiado et al., (2007) constataram que o tratamento diário com P4 resultou em uma taxa de prenhez de quase 70,0% após a TE. Em um programa comercial de TE, Rocha Filho et al., (2004) prepararam éguas receptoras por 2 dias com BE e administraram P4 no terceiro dia. Eles constataram taxas de prenhez semelhantes entre éguas tratadas e controle em um estudo com quatro tratamentos diferentes com P4.

Além disso, receptoras de éguas ovariectomizadas conseguem estabelecer e manter a gestação quando tratadas com progesterona até o 100º dia de gestação (Hinrichs et al., 1987). Por essas razões, protocolos hormonais utilizando progestagenos (Hinrichs et al., 1986; McKinnon et al., 1988; Shoemaker et al., 1989), progesterona (Hinrichs et al., 1987; Vanderwall et al., 2007), benzoato de estradiol mais progestagenos (Wiepz et al., 1988) ou progesterona (Kaercher et al., 2013) têm sido utilizados com sucesso para manter a gestação em éguas receptoras de embriões anovulatórias e ovariectomizadas. Assim, a administração hormonal em éguas anovulatórias pode torná-las adequadas como receptoras de embriões, reduzindo assim os problemas associados à sincronização do estro doadora/receptora e permitindo o uso de mais receptoras no final da estação reprodutiva (Silva et al., 2014).



## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste estudo foi utilizado de 16 a 24 éguas receptoras de embrião na verificação do(s) corpo(s) lúteo(s) no D0, D15, D30, D60 e D90 do Haras Galopante (Imburi – São Francisco do Itabapua – RJ), durante o período de anestro e a estação de monta. Todas as receptoras fazem parte dos procedimentos convencionais do programa de TE desse haras, realizado durante a estação de monta e fora da estação de monta. As éguas utilizadas foram da raça Mangalarga Marchador com idade média de 7,5 anos e com escore corporal bom. Esses animais foram mantidos em pastejo de capim cost-cross com sal mineral à vontade.

Foi feita ficha individual de todas as éguas, na qual constaram as informações referentes aos respectivos históricos e achados no exame clínico geral e reprodutivo. Avaliações por ultrassonografia do trato reprodutivo de todas as éguas receptoras foram feitas utilizando-se um equipamento US Pie Medical Falco 100, com transdutor setorial multiangular de 5,0–7,5 Mhz. A primeira avaliação foi feita para determinar a receptora mais apta para ser inovulada, a segunda para constatação da prenhez (12 – 15 dias de gestação) e a terceira no período de formação dos corpos lúteos acessórios (40 – 60 dias de gestação). As imagens obtidas através destes exames foram armazenadas digitalmente para avaliação posterior das estruturas ovarianas folículo(s) e corpo(s) lúteo(s).

O delineamento experimental se baseou no acompanhamento do procedimento da Transferência de Embriões, principalmente, no que diz respeito à receptora de embrião a partir da inovulação e no decorrer de seu período gestacional precoce até os 90 dias de gestação. O acompanhamento das características das estruturas ovarianas ocorreu no momento da inovulação, no diagnóstico precoce de prenhes com cerca de 15 dias, antes (D30) e após o momento da formação dos corpos lúteos acessórios (D60) e aos 90 dias de gestação.

Durante a estação de monta o grupo acompanhado foi o das éguas cíclicas sincronizadas com PGF2 $\alpha$ . Éguas cíclicas foram aquelas que possuem crescimento folicular com ovulação e formação de CL. As éguas acíclicas foram acompanhadas nos meses de inverno, sendo assim consideradas aquelas que apresentarem folículos com diâmetro menor que 20 mm e ausência de CL (éguas em anestro, nos meses de junho, julho e agosto) e aquelas que apresentaram folículos entre 15 e 25 mm e ausência de CL (éguas em transição, abril, maio).

Nos protocolos de sincronização das receptoras acíclicas com as doadoras utilizou-se três doses, em dias consecutivos, de Benzoato de Estradiol com 5, 3 e 2 mg respectivamente, no primeiro dia (D1) ou segundo dia (D2) após a ovulação da doadora. No terceiro dia (D3), realizou-se a aplicação IM da P4 de longa ação de 150 mg, quando detectado edema uterino de nível 3, segundo a classificação de Canesin (2013). Já nos protocolos de sincronização das receptoras cíclicas com as doadoras utilizou-se, dentre um grupo de éguas receptoras, a aplicação de uma dose de prostaglandina naquela que possuía corpo lúteo um a dois dias antes da aplicação do luteolítico na doadora de embriões.





Para indução da ovulação em éguas doadoras, aplicou-se, via intramuscular, uma dose única de 1 ml (250µg) de Strelin (análogo sintético do GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofinas) em éguas apresentando folículos ovarianos com diâmetros iguais ou maiores que 35mm de diâmetro e grau de edema uterino acima de 2 para 3. A Inseminação ocorreu seguindo diversos protocolos, sêmen fresco (diluído refrigerado) sêmen nativo e sêmen congelado.

O intervalo para se proceder com a inovulação foi ao se constatar a presença de um corpo lúteo na receptora a partir de 4 dias e no máximo 9 dias após a ovulação, sendo o ideal a partir de 5 dias pós ovulação.

Realizou-se a coleta dos embriões no período entre o 7º e 9º dia após a ovulação da doadora, preferencialmente no 8º dia. Esse procedimento foi feito através do método de lavado uterino. Esse procedimento foi repetido por três vezes em cada coleta.

O diagnóstico da gestação precoce ocorreu no período de 12 a 15 dias de gestação ou 4 a 6 dias após a inovulação das receptoras para constatação de prenhes e estruturas presentes nos ovários. E no período de 50 a 60 dias a constatou-se a manutenção de prenhes e estruturas presentes nos ovários nesse período, finalizando o exame aos 90 dias de gestação. Todos os dados das estruturas presentes nos ovários (folículos e corpos lúteos) do grupo controle (éguas cíclicas) e do grupo experimental (éguas acíclicas) foram analisados para verificar a presença e/ou ausência de folículos e corpos lúteos, determinando o tamanho do diâmetro, área e ecotextura por meio da ultrassonografia.

Realizaram-se análises métricas e de textura dos dados obtidos para as diversas características avaliadas das estruturas ovariana (folículo(s) e corpo(s) lúteo(s)), utilizando Qui-quadrado (2x), considerando-se um nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), no intuito de verificar a independência entre os dados observados e os diversos tratamentos aos quais as éguas foram submetidas.

A formatação gráfica das imagens ultrassonográficas foi realizada para o tratamento de imagens, por frequência de tonalidade, quando se utilizou um software objetivo (Pixel Analyser 6.6) para avaliação destas imagens (análise da densidade de coloração dos pixels). A análise estatística utilizou o aplicativo SAEG 9.1 para obter parâmetros da estatística descritiva; Erro-padrão (representa o quanto a média da amostra se aproxima da média da população); intervalo de confiança ( $P=0,95$ ) (Pimentel; Gomes, 1966) em relação à tonalidade dos pixels.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As imagens ultrassonográficas dos ovários direito e esquerdo de cada égua receptora cíclica (grupo controle) registrada para avaliar a presença de corpos lúteos no momento da inovulação (D0) e nos diferentes períodos gestacionais, aos 30, aos 60 e 90 dias, estão demonstradas em alguns exemplos a seguir, uma vez que o “n” das amostras é muito elevado.

No período do D0, ou seja, dia da constatação da ovulação, foram realizadas no grupo controle um total de 20 imagens ultrassonográficas de ovários direitos e esquerdos para avaliar os corpos lúteos de cada égua receptora (Figura 1).

Figura 1: Imagens representativas dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais (n=20) no dia da ovulação (D0), mostrando o corpo hemorrágico, futuro corpo lúteo (CL) formado no ovário esquerdo.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Aos 15 dias pós-transferência de embrião, foi realizada a confirmação da prenhez através da ultrassonografia e registradas no total 16 imagens ultrassonográficas dos ovários, como as registradas na Figura 2.

Figura 2: Imagens representativas dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais (n=16), mostrando o corpo lúteo (CL) formado no ovário direito aos 15 dias de gestação (D15).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Aos 30, 60 e 90 dias de gestação foram realizadas as imagens dos ovários direito e esquerdo e seus corpos lúteos durante o acompanhamento gestacional, conforme exemplificadas nas figuras 3, 4 e 5 a seguir, respectivamente.

No D30, foi registrado um total de 20 imagens, onde na Figura 3 consta como imagem representativa dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais aos 30 dias de gestação (D30).

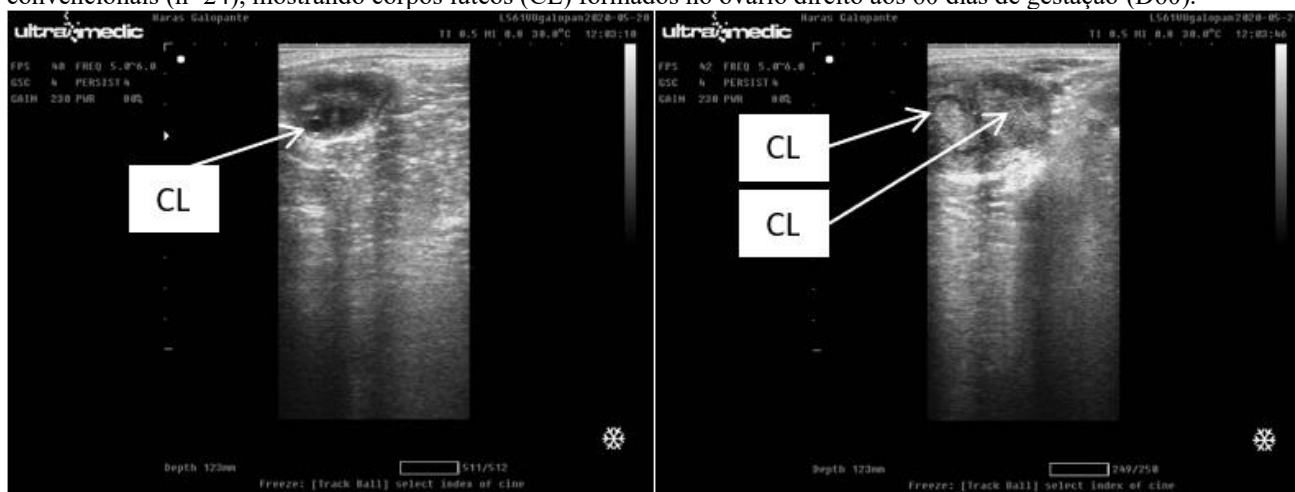
Figura 3: Imagens representativas dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais (n=20), mostrando o corpo lúteo (CL) formado no ovário esquerdo aos 30 dias de gestação (D30).



Fonte: Elaborado pelos autores.

No D60, foi registrado um total de 24 imagens, onde na Figura 4 consta como uma imagem representativa dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais aos 60 dias de gestação (D60).

Figura 4: Imagens representativas dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais (n=24), mostrando corpos lúteos (CL) formados no ovário direito aos 60 dias de gestação (D60).



Fonte: Elaborado pelos autores.

No D90, foi registrado um total de 16 imagens, onde na Figura 5 consta como imagem representativa dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais aos 90 dias de gestação (D90).

Figura 5: Imagens representativas dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras cíclicas convencionais, mostrando corpos lúteos (CL) formados no ovário direito e esquerdo aos 90 dias de gestação (D90).



Fonte: Elaborado pelos autores.

As imagens ultrassonográficas dos ovários direito e esquerdo de cada égua receptora acíclica suplementada com progesterona exógena (grupo experimental), foram registradas para avaliar a presença de corpos lúteos acessórios aos 60 e 90 dias de gestação. Estão demonstrados alguns exemplos a seguir, uma vez que o “n” das amostras é elevado.

No D60 foi registrado um total de 16 imagens, onde na Figura 6 consta como imagem representativa dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras acíclicas suplementadas com P4 exógena aos 60 dias de gestação.

Figura 6: Imagens representativas dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras acíclicas suplementadas com P4 exógena (n=16), mostrando corpo lúteo (CL) formado no ovário esquerdo aos 60 dias de gestação (D60).



Fonte: Elaborado pelos autores

No D90, foi registrado um total de 22 imagens onde na Figura 7 consta imagem representativa dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras acíclicas suplementadas com P4 exógena aos 90 dias de gestação.

Figura 7: Imagens representativas dos ovários direito e esquerdo, respectivamente, de éguas receptoras acíclicas suplementadas com P4 exógena (n=22), mostrando corpo lúteo (CL) formado no ovário direito aos 90 dias de gestação (D90).

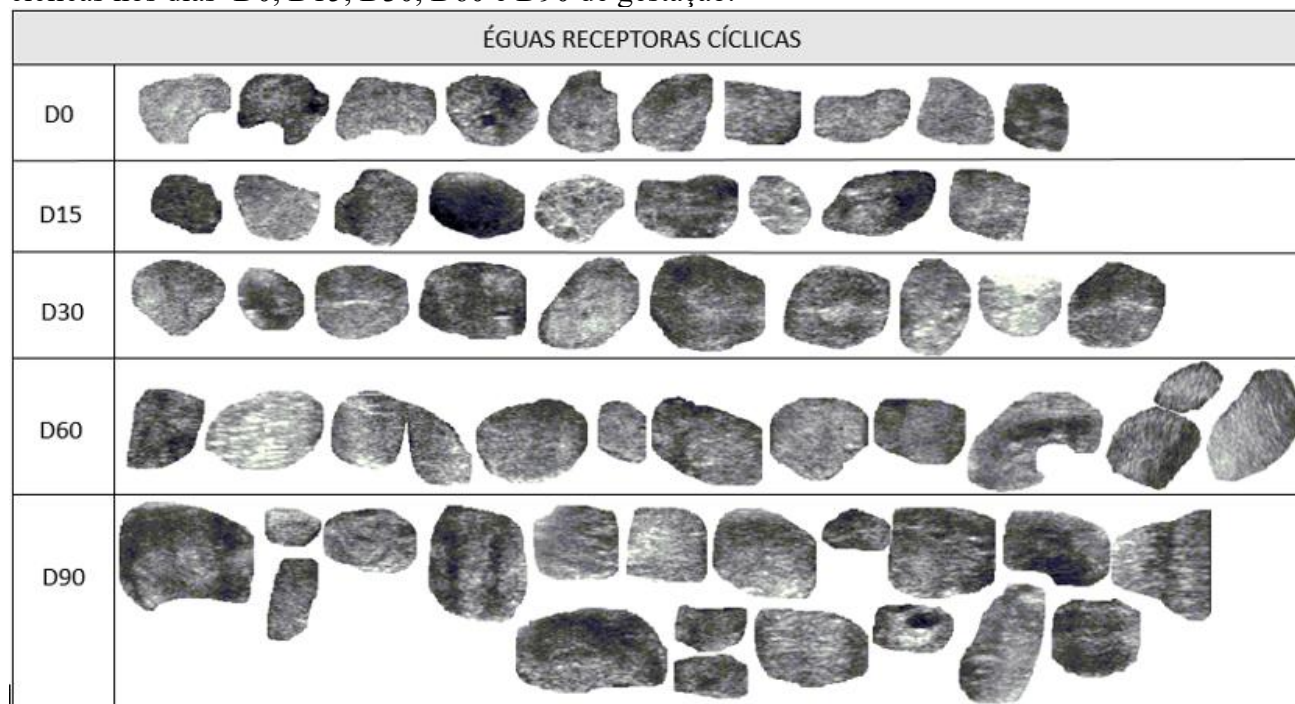


Fonte: Elaborado pelos autores.

Nas Figuras 8 e 9 encontram-se os recortes das regiões de corpo lúteo, realizados nas imagens ultrassonográficas originais registradas dos ovários esquerdo e direito de cada uma das éguas receptoras cíclicas no D0, D15, D30, D60 e D90, sendo o D0 o momento da inovulação e o D90 o último acompanhamento realizado aos 90 dias, e das éguas receptoras acíclicas tratadas hormonalmente nos dias D60 e D90. Vale ressaltar que não foram realizados recortes nos períodos anteriores no grupo experimental porque essas éguas não apresentam corpo lúteo primário e só a partir de cerca de 40 dias ocorre a formação dos corpos lúteos acessórios, que foram os avaliados neste trabalho.



Figura 8: Imagens ultrassonográficas delimitadas para a análise de Corpos Lúteos das éguas receptoras cíclicas nos dias D0, D15, D30, D60 e D90 de gestação.



Fonte: Elaborado pelos autores

Foram realizados nas éguas receptoras cíclicas 10 recortes no D0, nove recortes no D15 (devido a uma perda embrionária), 10 recortes no D30, 13 recortes no D60 e 16 recortes no D90. Espera-se essa diferença crescente no número de estruturas recortadas devido ao surgimento dos corpos lúteos acessórios nos grupos de 60 e 90 dias, tendo sido feitas as devidas correções estatísticas para a diferença entre amostra dos períodos.

Figura 9: Imagens ultrassonográficas delimitadas para a análise de Corpos Lúteos das éguas receptoras acíclicas suplementadas com P4 exógena aos 60 (D60) e aos 90 dias (D90) de gestação.



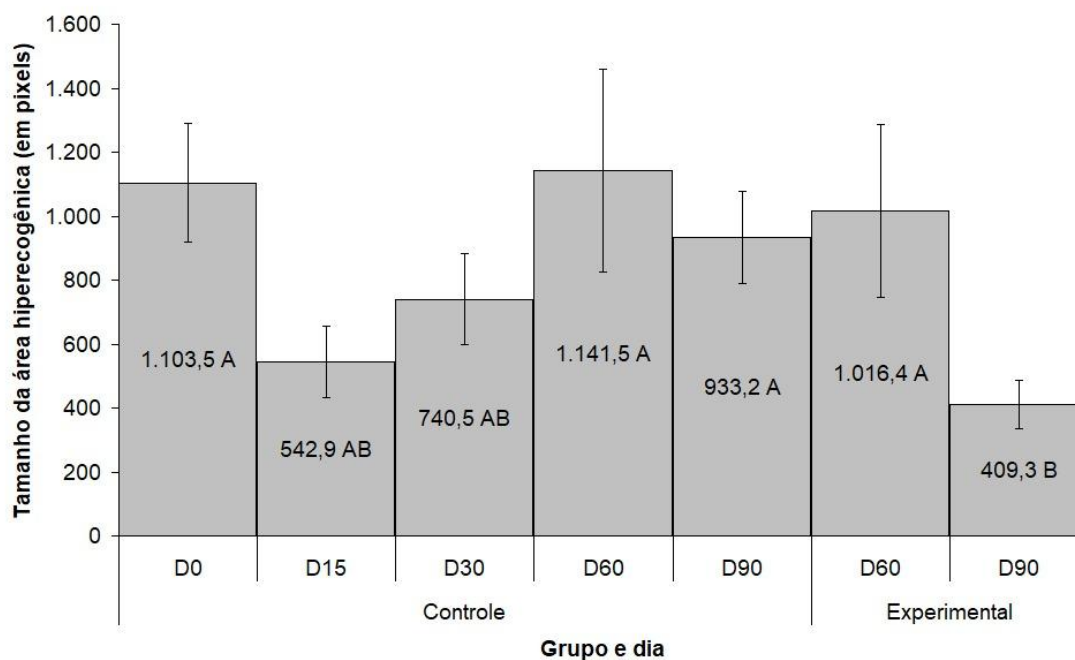
Fonte: Elaborado pelos autores.

Foram realizados nas éguas receptoras acíclicas suplementadas com P4 exógena 12 recortes no D60 e 15 recortes no D90. Também foram feitas as correções estatísticas para a diferença entre amostra



dos períodos desse grupo. Na Figura 10 estão apresentados os resultados estatísticos das análises dos corpos lúteos dos grupos controle e experimental, com relação ao tamanho da área hiperecogênicas, em pixels, em cada um dos períodos avaliados entre o grupo de éguas receptoras cíclicas (controle) e o grupo experimental de éguas receptoras acíclicas tratadas hormonalmente, considerando  $P < 0,05$ .

Figura 10: Avaliação comparativa das médias estatísticas do tamanho da área hiperecogênicas, em pixels, em cada um dos períodos avaliados entre o grupo de éguas receptoras cíclicas (controle) e o grupo experimental de éguas receptoras acíclicas tratadas hormonalmente, considerando  $P < 0,05$ .



Fonte: Elaborado pelos autores.

O fato de no D0 a área hiperecogênica apresentar a tendência de ser maior do que no D15 corrobora com os achados de Pierson e Ginther (1985), onde verificaram que no período de diestro a ecogenicidade do corpo lúteo pode ser usada para ajudar a estimar a idade tanto do corpo lúteo sólido como do corpo lúteo com hemorragia central. Durante os primeiros dias após a ovulação a ecogenicidade é alta, decrescendo até o D8 e a partir de então começa a aumentar no momento da regressão do corpo lúteo nos últimos dias do diestro. Complementando os dados de Pierson e Ginther, que não prosseguiram o estudo além do D15, o presente trabalho verificou a continuidade do aumento da área ecogênica no D30 até o D60. Conforme descreveu Ginther (1986), no dia da ovulação a glândula centralmente não ecogênica se torna ecogênica em 75 a 100 por cento de sua imagem, sendo que na maioria das éguas antes que a cavidade do CL apareça, a glândula mostra uma alta proporção inicial de tecido ecogênico que, aparentemente, representa as paredes luteinizadas colapsadas do folículo ovulado recentemente.

Além disso, sabe-se que o tecido fibrinoso é mais hiperecogênico em relação aos tecidos do parênquima dos órgãos, desta maneira, pode se pensar na hipótese da constatação mais tardia das



ovulações, onde se espera encontrar uma área maior de tecidos fibrinosos, como cordões fibrinosos onde as células da granulosa e teca iniciam a se proliferar e a luteinizar no decorrer do tempo, e o tecido fibrinoso passa a ceder espaço para este novo tipo de célula. Prosseguindo a análise, no D15, segundo Ginther (1986), provavelmente, ocorre uma diminuição da proporção de tecido fibroso e as células da granulosa e teca ainda estão em processo de adensamento e luteinização progressiva de forma que ainda o aspecto é menos hiperecogênico do que no D30.

Já no D30 com o avançar da luteinização e adensamento deste tecido, ele se torna mais hiperecogênico e no D60 a proliferação celular e a luteinização chegam a seu ápice.

No D90 do grupo controle como o grupo experimental observa-se uma tendência da diminuição do tecido hiperecogênico que corrobora com a progressiva perda da importância deste órgão para a manutenção da gestação em função de sua substituição pela produção de progesterógenos pela placenta.

No grupo experimental verifica-se a mesma tendência, uma vez que os folículos das éguas prenhes a partir do D40 começam a produzir os corpos lúteos acessórios, tornando-se hemorrágicos e posteriormente se luteinizando em função da proliferação das células da granulosa e teca sobre esta área fibrosada. Dessa forma, essa estrutura apresenta uma maior área hiperecogênica do que neste mesmo grupo no D90, onde já se constata uma retração dessa estrutura que se explica fisiologicamente em função de sua perda de função em manter a gestação, constatando-se que os dos corpos lúteos vão progressivamente perdendo sua importância, visto que a placenta começa a substituí-los a partir do D70. Como afirmam Silva et al., (2013), que a placenta torna-se, progressivamente, sendo responsável, então, pela manutenção da gestação e que, além disso, afirmam os pesquisadores que a interrupção do tratamento com progesterona no dia 70 da prenhez em éguas receptoras prenhes não cíclicas contribui com a compreensão da fisiologia da prenhez equina, sugerindo que a interrupção do tratamento com progesterona em éguas receptoras não cíclicas aos 70 dias de gestação mantenha a gestação quando presente corpo lúteo acessório no ovário destas receptoras acíclicas.

A diferença, assegurada estatisticamente no D90 entre os grupos controle e experimental foi fundamental para chegarmos à conclusão deste trabalho de pesquisa. Pois, não é possível observar, comparando as médias entre os tratamentos controle e experimental, no D60, variação do tamanho da área hiperecogênicos dos corpos lúteos estatisticamente significativos, uma vez que as médias seguidas por uma mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, e ambos os valores são seguidos pela letra “A”. Aos 60 dias, a área hiperecogênica dos corpos lúteos do grupo controle foi igual a 1.141,5 pixels. Já aos 60 dias, essa área correspondeu no grupo experimental a 1.016,4 pixels.

Já aos 90 dias, pode-se observar que a área hiperecogênica dos corpos lúteos do grupo controle, que foi igual a 933,2 pixels, corresponde a mais que o dobro da área do grupo experimental, que correspondeu a 409,3 pixels. Além disso, esse dado foi assegurado estatisticamente, verificando-se que



os valores das médias foram seguidos por letras diferentes. Esta constatação sugere que os corpos lúteos acessórios das éguas receptoras acíclicas envolvem mais rápido no lapso de tempo do D60 ao D90 de gestação do que os corpos lúteos de éguas receptoras cíclicas. Este evento de regressão mais rápido dos corpos lúteos entre os grupos analisados no intervalo de tempo do D60 ao D90 sugere que se tenha precaução na interrupção da aplicação de progesterona exógena nas éguas receptoras acíclicas a partir do D70.

Fonte financiadora da Bolsa: **CNPq**



## REFERÊNCIAS

- ALLEN, W.R., ROWSON, L.E.A.,. Surgical and non-surgical egg transfer in horses. J. Reprod. Fertil., v. 23, p. 525–530, 1975. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1060836/>, Acesso em: 23/04/2025.
- AURICH, C. Reproductive cycles of horses. Anim. Reprod. Sci., v. 24, p. 220–228, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432011000340>, Acesso em: 01/02/2025.
- BRINGEL, B.A., JACOB, J.C.F., ZIMMERMAN, M., ALVARENGA, M.A., DOUGLAS, R.H.. Biorelease progesterone LA 150 and its application to overcome effects of premature luteolysis on progesterone levels in mares. Rev. Bras. Rep. Anim, v. 27, p. 498–500, 2003. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/281509029\\_Biorelease\\_progesterone\\_LA\\_150\\_and\\_its\\_application\\_to\\_overcome\\_effects\\_of\\_premature\\_luteolysis\\_on\\_progesterone\\_levels\\_in\\_mares](https://www.researchgate.net/publication/281509029_Biorelease_progesterone_LA_150_and_its_application_to_overcome_effects_of_premature_luteolysis_on_progesterone_levels_in_mares), Acesso em: 22/03/2025.
- CAIADO JTC, FONSECA FA, SILVA JFS, FONTES RS. Hormonal treatment of recipient mares of the Mangalarga Marchador breed for embryo transfer on the second day post ovulation. Rev Bras Zootec, v. 36, p. 99-103, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/qwg6MYQcBS8grzpHhWGYFNm/>, Acesso em: 12/03/2025.
- CANESIN, H.S. Caracterização da hemodinâmica uterina de éguas durante o ciclo estral. Botucatu, 2013. 91p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/3f2ec904-3624-473e-879e-adb7219b1fa5/content>, Acesso em 24/03/2025.
- CARNEVALE EM, RAMIREZ RJ, SQUIRES EL, ALVARENGA MA, MCCUE PM. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. Theriogenology, v. 54, p. 965-79, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X00004052>, Acesso em: 18/03/2025.
- GONSALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal, São Paulo: Varela, 2002, p. 340. Disponível em: <https://www.amazon.com.br/Biot%C3%A9cnicas-Aplicadas-Reprodu%C3%A7%C3%A3o-Animal-Humana/dp/8527736659>, Acesso em: 23/02/2025.
- GRECO, G.M.; BURLAMAQUI, F.L.G.; PINNA, A.E.; QUEIROZ, F.J.R.; CUNHA, M.P.S.; BRANDAO, F.Z. Use of long acting progesterone to acyclic embryo recipient mares. Braz J Anim Sci, v. 41, p. 607-11, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/4qWmgL6FsLgvhq9VGS8NP8n/>, Acesso em: 12/03/2024.
- HARTMAN, D.L. Embryo transfer. In: MckINNON, A. O. et al. Equine reproduction. 2ª ed. Oxford, 2011, cap 303, p 2871-2879. Disponível em: [https://books.google.com.br/books/about/Equine\\_Reproduction.html?id=QPJQT6-g-YMC&redir\\_esc=y](https://books.google.com.br/books/about/Equine_Reproduction.html?id=QPJQT6-g-YMC&redir_esc=y), Acesso em: 24/08/2024.
- HINRICHS, K.; SERTICH, P.L.; KENNEY, R.M. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. Theriogenology, v. 26, p. 455-60 1986. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16726211/>, Acesso em: 28/03/2025.



HINRICHS, K.; SERTICH, P.L.; PALMER, E.; KENNEY, R.M. Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in ovariectomized mares treated with progesterone. *J. Reprod. Fert.*, v. 80, p. 395–401, 1987. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3116228/>, Acesso em: 26/03/2025.

IBGE <https://www.ibge.gov.br/explica/produção-agropecuária/equinos/br>, Fonte:PPM/IBGE, 2020, Elaboração: EquiAgro Consultoria, 2021.

KAERCHER, F.; KOZICKI, L.E.; CAMARGO, C.E.; WEISS, R.R.; SANTOS, I.W.; MURADAS, P.R.; BERTOL, M.A.F. Embryo transfer in anovulatory recipient mares treated with estradiol benzoate and long-acting progesterone. *J. Equi. Vet. Sci.*, v. 33, p. 205–209, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080612003292>, Acesso em: 07/03/2025.

LIRA, R.A.; PEIXOTO, G.C.X.; SILVA, A.R. Transferência de embrião em equinos: Revisão. *Acta Veterinária Brasília*, v.3, n.4, p.132-140, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/277150533\\_TRANSFERENCEIA\\_DE\\_EMBRIO\\_EM\\_EQUINOS\\_REVISAO](https://www.researchgate.net/publication/277150533_TRANSFERENCEIA_DE_EMBRIO_EM_EQUINOS_REVISAO), Acesso em: 14/03/2025.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; CARNEVALE, E.M.; HERMENET, M.J. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipient and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. *Theriogenology*, v. 29, p. 1055-63, 1988. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X88800293>, Acesso em: 25/02/2025.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L. Morphologic assessment of equine embryo. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 292, p. 401–406, 1988. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/192/3/javma.1988.192.03.401.xml>, Acesso em 12/12/2024.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA; Brasília, p. 7, 2016 Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/>, Acesso em: 12/02/2025.

PIMENTEL, G.F. Curso de Estatística Experimental. 3ª Ed. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, 404p, 1966.

SHOEMAKER, C.F.; SQUIRES, E.L.; SHIDELER, R.K. Safety of altrenogest in pregnant mares and on health development of offspring. *J. Equi. Vet. Sci.*, v. 9, p. 69–72, 1989. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080689800309>, Acesso em: 23/03/2025.

SILVA, E.S.M.; PUOLI FILHO, J.N.P.; MEIRA, C.; et al. Aspectos relacionados à formação, função e regressão dos corpos lúteos suplementares em éguas. *Veterinária e Zootecnia*, v. 19, n. 3, p. 283-293, 2012. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/083c898a-ecd0-461b-a7b1-fd445dfbe473/content>, Acesso em 07/03/2025.

SILVA, E.S.M.; IGNACIO, F.S.; PANTOJA, J.C.F.; PUOLI FILHO, J.N.P.; MEIRA C. Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of pregnancy in non-cyclic recipient mares. *Anim Reprod Sci*, v. 144, p. 122-8, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24380787/>, Acesso em: 02/03/2025.

SILVA, E.S.M.; PANTOJA, J.C.F.; PUOLI FILHO, J.N.P.; MEIRA, C. Ultrasonography of the conceptus development from days 15 to 60 of pregnancy in non-cyclic recipient mares. *Ciência Rural*, v. 45, p. 512-8, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/m7ksHQktWqShTVhsSPS9c7c/>, Acesso em 17/02/2025.



SILVA, E.S.M.; ROSER, J.F.; GOMES, A.R.C.; FRITSCH, S.C.; PANTOJA, J.C.F.; OLIVEIRA-FILHO, J.P.; et al. Comparison of different regimens of estradiol benzoate treatments followed by long-acting progesterone to prepare noncycling mares as embryo recipients. *Theriogenology*, v. 86, p. 1749-56, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16302424>, Acesso em: 12/03/2025.

SILVA, E.S.M.; SILVA, F.S.; IGNACIO, S.C.; FRITSCH, D.S.; ZANONI, J.C.F.; PANTOJA, J.P.; OLIVEIRA-FILHO, C. MEIRA. Administration of 2.5 mg of estradiol followed by 1,500 mg of progesterone to anovulatory mares promote similar uterine morphology, hormone concentrations and molecular dynamics to those observed in cyclic mares, *Theriogenology*, v. 97, p. 159-169, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/db6209c5-1f08-4d56-a4fd-b99d64a84b45/content>, Acesso em: 20/03/2025.

SQUIRES, E.L. Hormonal manipulation of the mare: A review. *J Eq Vet Sci*, v.28, p. 627-34, 2008. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/240502651\\_Hormonal\\_Manipulation\\_of\\_the\\_Mare\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/240502651_Hormonal_Manipulation_of_the_Mare_A_Review), Acesso em: 19/02/2025.

ROCHA, FILHO N.A.; PESSÔA, M.A.; GIOSO, M.M.; ALVARENGA, M.A. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. *Anim Reprod*, v. 1, p. 91-5, 2004. Disponível em: <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a608bf7783717068b4810>, Acesso em: 23/03/2025.

VANDERWALL, D.K.; MARQUARDT, J.L.; WOODS, G.L. Use of compounded long-acting progesterone formulation for equine pregnancy maintenance. *J. Equi. Vet. Sci.*, v. 27, p. 62–66, 2007. Disponível em: <https://betpharm.com/wp-content/uploads/2017/03/vanderwall-lap4-150.pdf>, Acesso em: 03/02/2025.

ZAVY, M.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. *J Reprod Fertil Suppl*, v. 27, p. 403-11, 1979. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/289817/>, Acesso em: 17/02/2025.

WIEPZ, G.J.; SQUIRES, E.L.; CHAPMAN, P.L. Effects of norgestomet, altrenogest, and/or estradiol on follicular and hormonal characteristics of late transitional mares. *Theriogenology*, v. 30, p. 182–193, 1988. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16726461/>, Acesso em: 15/03/2025