



LARISSA ALMEIDA OLIVEIRA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA ÁREA DE
REPRODUÇÃO EQUINA NO HARAS CR ALVES MONTE
BRANCO**

**LAVRAS - MG
2021**

LARISSA ALMEIDA OLIVEIRA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA ÁREA DE REPRODUÇÃO
EQUINA NO HARAS CR ALVES MONTE BRANCO**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à
Universidade Federal de Lavras como parte das
exigências finais para obtenção do título de bacharel
em Medicina Veterinária.

Profa. Dra. Ticiane Meireles Sousa
Orientadora

**LAVRAS - MG
2021**

LARISSA ALMEIDA OLIVEIRA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA ÁREA DE REPRODUÇÃO
EQUINA NO HARAS CR ALVES MONTE BRANCO**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à
Universidade Federal de Lavras como parte das
exigências finais para obtenção do título de bacharel
em Medicina Veterinária.

APROVADO em 05 de Fevereiro de 2021.
Profa. Dra. Ticiania Meireles Sousa - UFLA
Prof. Dr. Hugo Shisei Toma - UFLA
Me. Jorge Henrique Villela Botelho

Profa. Dra. Ticiania Meireles Sousa
Orientadora

**LAVRAS - MG
2021**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e Nossa Senhora Aparecida por escutarem minhas preces e me guiarem para o melhor caminho.

Agradeço à minha querida mãe Inês, pelo seu amor incondicional, por ter me dado a melhor criação, me ensinando princípios e valores que me permitiram me tornar a pessoa que sou. Por ter me proporcionado as melhores condições de estudo, apoio emocional e psicológico. Por me ensinar a ter um coração bom e a mente forte. À minha tia Ione por ser minha mãe de coração. Ao meu pai pelo apoio durante esses anos. Agradeço às minhas famílias Almeida e Oliveira por serem minha base!

Agradeço ao meu namorado Vítor, por toda paciência e compreensão durante esses anos, entendendo minhas ausências em prol do estudo. Por ser meu porto seguro onde posso confiar e buscar paz.

Agradeço à minha família de Lavras, Cristiele, Carol, Fernanda, Franciele, Jonas e Verônica por terem criado um ambiente que eu pude chamar de lar, onde encontrava apoio nos dias difíceis.

Agradeço às minhas meninas Isabella, Larissa e Sarah, que tive o prazer de conhecer na recepção de calouros e levar comigo por toda graduação. Obrigada por tornarem essa jornada inesquecível, compartilhando as conquistas, as dúvidas, as dores e as alegrias de ser uma estudante de medicina veterinária.

Agradeço aos professores e técnicos da Universidade Federal de Lavras por ensinarem com zelo e excelência, sempre incentivando nosso aprimoramento e crescimento. Em especial à Profa. Ticiania Meireles Sousa, por ser, além de extraordinária orientadora, minha inspiração profissional.

Agradeço ao professor Hugo e ao Jorge Henrique por aceitarem o convite de participar da banca e contribuir para este momento especial.

Agradeço a todos os lugares que estagiei, pois me permitiram obter vivência essencial para minha capacitação. Ao Núcleo de Estudos em Clínica e Cirurgia de Grandes Animais (NECCIGA) e a Liga Acadêmica de Medicina Equina e Ortopedia (HIPIATRAS), onde pude aprofundar meus conhecimentos e compartilhar da paixão pela área com os colegas.

Agradeço à Família CR Alves Monte Branco por ter me acolhido de braços abertos e me feito sentir parte dessa grande equipe, composta de pessoas extraordinárias que me proporcionaram momentos inesquecíveis. Agradecimento especial ao Dr. Reno Roldi de Araújo e à Aline Fontoura da Motta por terem sido mestres incríveis, compartilhando conhecimento e lições de vida. Por toda paciência em ensinar e pela confiança no meu trabalho.

Agradeço aos animais que me ensinaram tanto e foram minha maior motivação na graduação, para que pudesse me tornar uma profissional apta para proporcionar bem estar e qualidade de vida a esses seres de luz.

RESUMO

O presente documento tem por objetivo relatar a vivência do estágio supervisionado realizado na área de Reprodução Equina, sob a supervisão do médico veterinário Dr. Reno Roldi de Araújo, no Haras CR Alves Monte Branco, localizado em Caxambu - MG, durante o período de 15 de setembro de 2020 a 18 de dezembro de 2020, totalizando 536 horas. Durante o estágio, foi possível acompanhar e participar da rotina de reprodução, incluindo palpações e ultrassonografias transretais, uso de protocolos hormonais, inseminações artificiais, transferências de embriões, diagnósticos de gestação, citologias uterinas, esterilização de materiais, coleta de sêmen, manipulação e processamento de sêmen fresco e refrigerado, e congelamento de sêmen. O estágio também possibilitou a confecção de uma revisão de literatura e relato de caso sobre o uso da sulpirida no desenvolvimento folicular de égua em transição reprodutiva. O estágio supervisionado é de extrema importância na formação do médico veterinário possibilitando vivência prática e proximidade com a realidade do mercado de trabalho.

Palavras-chave: Reprodução de Equinos, Sulpirida, Desenvolvimento Folicular, Transição, Ovulação.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vista dos Currais de Espera.	12
Figura 2 - Pavilhão de baias.	12
Figura 3 - Pavilhão de baias de garanhões.....	13
Figura 4 - Lanchonete para animais, caixa móvel para transportar ultrassom.....	13
Figura 5 - Tronco de contenção de uso da reprodução.	14
Figura 6 - Ficha de acompanhamento animal.	15
Figura 7 - Aluna realizando palpação transretal.	16
Figura 8 - Aluna realizando ultrassonografia transretal.....	16
Figura 9 - Inseminação Artificial com Sêmen Congelado.	18
Figura 10 - Lavagem uterina para recuperação embrionária.	19
Figura 11 - Mesa preparada para manipulação do embrião.....	20
Figura 12 - Vagina Artificial modelo Botucatu preparada para coleta de sêmen de garanhão.....	21
Figura 13 - Manequim utilizado para coleta de sêmen de garanhões.....	22
Figura 14 - Sêmen preparado para envio refrigerado.	24
Figura 15 - Sonda de embrião estéril.	26
Figura 16 - Ponteira de inox estéril.	27
Figura 17 - Imagem de microscópio óptico de lâmina de citologia uterina de égua, evidenciando células endometriais.	28
Figura 18 - Frequência absoluta de palpações e ultrassonografias transretais realizadas pelos veterinários em éguas doadoras e receptoras durante o período de estágio.	29
Figura 19 - Frequência absoluta e relativa de inseminações artificiais com sêmen fresco/refrigerado e inseminações artificiais com sêmen congelado acompanhadas no período de estágio.	30
Figura 20 - Frequência absoluta e relativa de lavados de embrião negativos e positivos seguidos de transferência de embrião acompanhados no período do estágio.	30
Figura 21 - Frequência de lavados de embrião positivos e negativos de acordo com o sêmen utilizado na IA.	31
Figura 22 - Imagem ultrassonográfica do ovário polifolicular de uma égua em transição reprodutiva.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequência absoluta e relativa coletas de sêmen para uso fresco/refrigerado e para congelamento acompanhadas durante o estágio supervisionado.....	32
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

DG - Diagnóstico de Gestação

hCG - Gonadotrofina Coriônica Humana

FSH - Hormônio Folículo Estimulante

GnRH - Hormônio Liberador de Gonadotrofina

IA - Inseminação Artificial

LH - Hormônio Luteinizante

TE - Transferência de Embrião

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO GERAL	10
2 - HARAS CR ALVES MONTE BRANCO	11
2.1 Descrição do Local de Estágio.....	11
2.2 Atividades Desenvolvidas.....	14
2.2.1 Palpação e Ultrassonografia Transretal.....	14
2.2.2 Indução de Ovulação.....	17
2.2.3 Inseminação Artificial (IA)	17
2.2.4 Transferência de Embrião	18
2.2.5 Diagnóstico de Gestação	20
2.2.6 Coleta de Sêmen.....	21
2.2.7 Preparação de Sêmen Fresco e Refrigerado.....	22
2.2.8 Congelamento de Sêmen.....	24
2.2.9 Esterilização de Equipamentos.....	25
2.2.10 Citologia Uterina	27
2.3 Casuística	28
3 – RELATO DE CASO: USO DE SULPIRIDA NO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR DE ÉGUA EM TRANSIÇÃO.....	32
3.1 Revisão De Literatura	32
3.2 Relato de Caso	34
3.3 Discussão	36
3.4 Conclusões	38
4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS	39

1 - INTRODUÇÃO GERAL

O décimo módulo do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA) possui o Estágio Supervisionado. Este é composto por 408 horas de atividades práticas e 68 horas teóricas para o desenvolvimento do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). As atividades são conteúdos programáticos da Disciplina PRG107 - Estágio supervisionado, a qual formaliza e fornece diretrizes para a realização do estágio, totalizando 476 horas correspondentes a 28 créditos.

A realização do estágio é imprescindível para a formação profissional do médico veterinário. É um momento de colocar em prática o conhecimento adquirido ao longo da graduação e ampliar o aprendizado vivenciando uma nova realidade com novos profissionais, protocolos e desafios. Além de possibilitar conhecer de perto o mercado de trabalho, permitindo que agregue experiência necessária para conseguir se inserir.

Com orientação da Prof^a. Dr^a. Ticiania Meireles Sousa o presente relato tem o objetivo de abordar a vivência e atividades realizadas pela aluna durante o estágio supervisionado na área de Reprodução Equina no Haras CR Alves Monte Branco sob a supervisão do Médico Veterinário Dr. Reno Roldi de Araújo.

2 - HARAS CR ALVES MONTE BRANCO

2.1 Descrição do Local de Estágio

O Haras CR Alves Monte Branco localiza-se na BR 267, Km 301 Rod. Vital Brasil, Zona Rural de Caxambu - MG. O horário de funcionamento do Haras é de 7:00 às 16:00 de segunda a sexta-feira e de 07:00 às 11:00 aos sábados. O estágio foi realizado no período de 15 de setembro a 18 de dezembro de 2020. A carga horária total realizada foi de 536 horas, que foram divididas em 40 horas semanais, sendo o horário executado das 7 horas até as 16 horas, com intervalo para almoço de uma hora. O estágio foi realizado sob supervisão do médico veterinário responsável pela reprodução do haras, Dr. Reno Roldi de Araújo. Na área da reprodução também atuava a médica veterinária Aline Fontoura da Motta. Na área de clínica havia mais duas veterinárias atuando: Mariana Helena de Carvalho e Jéssica Laís Xavier Dutra.

O local cria equinos da raça Mangalarga Marchador. No haras encontram-se três currais de espera (Figura 1), trinta e quatro baias distribuídas em três pavilhões de baias (Figuras 2 e 3), clínica, laboratório de reprodução animal, lanchonete para animais (Figura 4), um tronco de contenção de uso da clínica, um tronco de contenção de uso da reprodução (Figura 5), pista de apresentação, redondel e doze piquetes. Há também um alojamento para estagiários, uma casa sede, quatro casas de funcionários e uma área *gourmet* para eventos. O laboratório de reprodução animal é composto por uma sala de montagem de vagina artificial, sala de transição para área limpa, sala de manipulação de sêmen e criopreservação, sala de manipulação de embriões e sala de esterilização. Até a data de finalização do estágio, o haras contava com 37 éguas doadoras, 138 receptoras e sete garanhões. Estes números variavam durante o período de estágio com a entrada e saída de animais do haras.

Figura 1 - Vista dos Currais de Espera.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 2 - Pavilhão de baias.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 3 - Pavilhão de baias de garanhões.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 4 - Lanchonete para animais, caixa móvel para transportar ultrassom.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 5 - Tronco de contenção de uso da reprodução.



Fonte: Da autora (2020).

2.2 Atividades Desenvolvidas

2.2.1 Palpação e Ultrassonografia Transretal

Diariamente era realizada a avaliação transretal de éguas doadoras e receptoras. O número de éguas a serem palpadas por dia variava de acordo com a situação uterina e desenvolvimento folicular de cada uma. Cada égua tinha uma ficha de acompanhamento (Figura 6) com anotações das palpações, procedimentos e medicações realizadas. Com base nessas fichas era montada uma lista com as éguas que teriam a necessidade de serem avaliadas no dia. Através da palpação os veterinários avaliavam tônus e contratilidade uterina e tamanho/flutuação folicular. Pela ultrassonografia era possível avaliar edema uterino, desenvolvimento folicular, corpo lúteo e presença de líquido intrauterino. Os estagiários tinham a oportunidade de realizar a palpação e o exame de ultrassonografia transretal para acompanhamento folicular

Figura 7 - Aluna realizando palpação transretal.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 8 - Aluna realizando ultrassonografia transretal.



Fonte: Da autora (2020).

2.2.2 Indução de Ovulação

A indução da ovulação em éguas doadoras era realizada para prever com maior precisão o momento da ovulação e otimizar a inseminação, principalmente com o uso de sêmen congelado. Quando a égua doadora tinha folículo maior que 35 mm e edema uterino era realizada a indução. A classificação do edema era feita da seguinte forma: grau 1: sem edema; grau 2: edema leve; grau 3: edema moderado e grau 4: edema forte. Esta era realizada com um combo de 2000 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG) e 1 mg de deslorelina, análogo sintético ao hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). Dessa forma, era esperado que a ovulação ocorresse 36 horas após a aplicação dos hormônios. A indução era feita às 20 horas. Após 12, 24 e 36 horas eram realizadas palpações e ultrassonografias transretais para avaliar a resposta do folículo e do útero. Caso, as imagens ultrassonográficas indicassem sinais de proximidade com a ovulação, diminuía-se o intervalo entre as avaliações. No caso de receptoras, o indutor era utilizado a fim de sincronizar o ciclo com a doadora. Com a indução, adiantava-se a ovulação da receptora para ser possível usá-la mais precocemente.

2.2.3 Inseminação Artificial (IA)

O sêmen utilizado podia ser fresco, refrigerado ou congelado. A IA com sêmen fresco era realizada aproximadamente 48 horas antes da ovulação e com sêmen refrigerado aproximadamente 24 horas pré-ovulação. A IA com sêmen congelada era realizada logo após a ovulação. A égua era colocada no tronco de contenção e tinha a região perineal higienizada. No caso de sêmen fresco ou refrigerado era introduzida uma pipeta de inseminação rígida através da vagina até o corpo do útero. Na outra extremidade era acoplado o recipiente contendo o sêmen e realizada a inseminação. No caso de sêmen congelado, eram utilizadas pipetas flexíveis de 75 cm introduzidas até o útero (Figura 9). Através da manipulação retal do útero a pipeta era direcionada até o corno ipsilateral à ovulação. As palhetas de sêmen, previamente descongeladas à 37°C por 30 segundos no descongelador de palhetas, eram introduzidas uma a uma na pipeta e com o mandril era realizada a inseminação. Algumas éguas sofriam reação uterina à inseminação com sêmen congelado produzindo líquido, possível de visualizar na ultrassonografia retal. Essas éguas nas próximas inseminações passavam a receber 50 mg de dexametasona via intravenosa com o objetivo de diminuir a reação inflamatória uterina.

Figura 9 - Inseminação Artificial com Sêmen Congelado.



Fonte: Da autora (2020).

2.2.4 Transferência de Embrião

Entre 7 e 9 dias após a IA a égua doadora tinha o útero lavado para recuperação do embrião. A égua era colocada no tronco de contenção e era realizada a higienização da região perineal. Então, introduzia-se uma sonda uterina para coleta de embrião Minitube® estéril no útero. Ao final da sonda havia um cuff que era inflado após estar posicionado corretamente no útero, para que a sonda não saísse antes do final do processo. Na outra extremidade da sonda era acoplada uma ponteira de inox estéril conectada a uma bolsa de ringer lactato. As bolsas de ringer lactato eram previamente aquecidas até 36°C. O conteúdo da bolsa era completamente infundido no útero e então a sonda era conectada ao filtro coletor de embrião para lavagem (Figura 10). Se o embrião não fosse visualizado no filtro, o procedimento de lavagem era realizado mais duas vezes totalizando até três litros de ringer lactato. Finalizada a lavagem, o cuff era desinflado e a sonda retirada suavemente. A égua recebia 1,5 ml de dinoprost

trometamina (Lutalyse®) via intramuscular com objetivo de realizar a lise do corpo lúteo, com objetivo de adiantar o próximo ciclo.

Figura 10 - Lavagem uterina para recuperação embrionária.



Fonte: Da autora (2020).

O filtro era levado até a sala de manipulação de embriões que era previamente higienizada e preparada para otimizar o processo (Figura 11). O conteúdo do filtro era colocado em uma placa de petri, previamente riscada em sua parte inferior com seis linhas paralelas para facilitar a busca. Quando o embrião não era visualizado no filtro, o conteúdo era colocado na placa que era levada até a lupa onde realizava-se a pesquisa do embrião. Uma vez recuperado, o embrião passava por etapas de lavagem em uma solução de meio específico (Holding Plus 0,4%) e era colocado em uma palheta plástica e bainha para realizar a TE na receptora.

No caso da égua receptora ter apresentado ciclo estral natural, esta deveria estar entre 4 a 7 dias após ovulação para ser considerada candidata para receber o embrião. Na ausência de éguas em ciclo natural eram preparadas éguas artificialmente para receber o embrião. Para tanto, eram aplicados 20 mg de 17 β estradiol e 3 mg de benzoato de estradiol via intramuscular em

uma receptora em anestro e 48 horas depois era colocado implante intravaginal de liberação lenta de progesterona, que era trocado no dia da TE. O dia da colocação do implante era considerado o dia 0, entre o dia 4 e dia 7 era possível usá-la para receber o embrião. No momento de escolher a égua receptora, eram avaliados tônus uterino, edema e a cérvix que deveria estar fechada. A égua receptora selecionada era higienizada e o embrião depositado no corpo uterino. Na égua que recebeu o embrião era aplicado 1 ml de altrenogest (Altrenogest®) via intramuscular, 10 ml de flunixin meglumine (Banamine®) e 10 ml de enrofloxacin (Chemitril®).

Figura 11 - Mesa preparada para manipulação do embrião.



Fonte: Da autora (2020).

2.2.5 Diagnóstico de Gestação

O DG era realizado através de ultrassonografia transretal. No D15 era realizado o primeiro ultrassom a fim de visualizar o embrião. Sendo negativo a égua era preparada novamente para receber outro embrião. O diagnóstico definitivo de prenhez era feito aos 60 dias. Uma vez por mês era realizado ultrassonografia em todas as éguas gestantes para acompanhar a evolução da gestação.

2.2.6 Coleta de Sêmen

Nas segundas, quartas e sextas-feiras eram realizadas coletas de sêmen dos garanhões para envio de dose ou congelamento. A coleta era realizada através de vagina artificial própria para a espécie modelo Botucatu (Figura 12). Colocava-se uma mucosa artificial de plástico no interior da vagina artificial e prendia com fita no lado onde seria introduzido o pênis do garanhão. No lado oposto era acoplado o copo coletor, que continha saco plástico coletor e filtro de papel descartável. A água para preencher a vagina artificial era aquecida com ebulidor até a temperatura ideal, que variava de acordo com a preferência de cada garanhão, variando de 53° a 58°C. Uma égua no cio era colocada no tronco de contenção, e então o garanhão era conduzido através de cabresto para realizar a rufiação. Após a exposição do pênis, este era higienizado com água morna. A égua era movida para frente do manequim e amarrada em uma argola de ferro presa à parede. O garanhão era direcionado até o manequim de coleta (Figura 13), onde montava e seu pênis era introduzido na vagina artificial para que ejaculasse.

Figura 12 - Vagina Artificial modelo Botucatu preparada para coleta de sêmen de garanhão.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 13 - Manequim utilizado para coleta de sêmen de garanhões.



Fonte: Da autora (2020).

2.2.7 Preparação de Sêmen Fresco e Refrigerado

O sêmen fresco era utilizado para IA no haras, realizada imediatamente após a coleta. O sêmen era analisado no microscópio após a coleta, e se estivesse com qualidade adequada para uso era colocado em uma seringa para realizar a IA.

O sêmen coletado no haras para ser enviado para outras propriedades passava pelo processo de refrigeração. Após a coleta, o sêmen era transferido do copo coletor para uma proveta onde o volume era medido. Uma amostra era retirada, colocada em uma cubeta e no fotômetro que media a concentração de espermatozoides por ml. Era adicionado diluente na proporção 1:1 ao sêmen e este fracionado em tubos falcons de 50 ml levados até uma centrífuga. Para centrifugação era adicionado 1 ml de Red Cushion® em cada tubo falcon, com objetivo de amortecer o impacto sobre os espermatozoides e diminuir as perdas. Em alguns casos,

considerando as características do sêmen, a concentração de espermatozoides e o número de doses que seriam enviadas, não era realizada a centrifugação. Uma amostra de sêmen na diluição 1:1 era retirada para ser analisada. Uma gota desta amostra era colocada em lâmina, coberta com uma lamínula e levada ao microscópio que contava com uma câmera acoplada. Era gravado um vídeo da lâmina através do software Mace Sperm Tracker®, que fazia análise do sêmen e fornecia valores de motilidade total, motilidade progressiva, vigor, porcentagem de células viáveis, entre outros parâmetros. Esses dados eram imprimidos em uma etiqueta que era colada ao recipiente onde o sêmen seria enviado. Os diluentes usados eram BotuSêmen®, BotuSêmen Special® ou BotuSêmen Gold®, a escolha dependia do conhecimento do sêmen de cada garanhão, com qual diluente o sêmen se adaptava melhor. Após a centrifugação o sobrenadante era retirado através de um aspirador e então era feita nova diluição. O sêmen era homogeneizado utilizando uma pipeta de pasteur e depois despejado em um béquer. O volume do diluente adicionado dependia do número de doses que seriam enviadas e da concentração total de espermatozoides. Era preconizado que cada dose de sêmen refrigerado tivesse a concentração entre 30 e 50 milhões de espermatozoides por ml e no mínimo 1 bilhão de espermatozoides viáveis por dose.

As doses eram colocadas em recipientes para transporte de sêmen refrigerado contendo a etiqueta com os dados. Estes tubos eram colocados em saquinhos plásticos, onde retirava-se o ar e vedava com abraçadeira de nylon (Figura 14). A dose de sêmen era colocada em uma caixa de isopor Botuflex® com dois gelos artificiais. Se fosse apenas uma dose por caixa, era necessário por um tubo com água para balancear. A caixa era fechada com fita adesiva e identificada externamente para ser enviada.

Figura 14 - Sêmen preparado para envio refrigerado.



Fonte: Da autora (2020).

2.2.8 Congelamento de Sêmen

Após a coleta do sêmen, este era colocado em uma proveta para medir o volume. Era feita uma análise do sêmen no microscópio para verificar se ele estava apto para o processo de congelamento considerando motilidade total, motilidade progressiva e vigor.

Eram pipetados 950 microlitros de água e 50 microlitros de sêmen e colocados em um eppendorf. Esta amostra era homogeneizada e fazia uma preparação da Câmara de Neubauer para realizar a contagem de espermatozoides. O resultado obtido diz respeito à concentração de espermatozoides por ml. Para fazer a concentração total este valor era multiplicado pelo volume total de sêmen coletado.

Então o sêmen era distribuído em tubos falcons onde se adicionava diluente na proporção de 1:1. Os tubos eram levados até a centrífuga. Finalizada a centrifugação, o sobrenadante era removido através de aspirador. O pellet de sêmen era ressuscitado em diluente extensor BotuCrio® na proporção de 1:1. Uma amostra era retirada para realizar nova

contagem de espermatozoides na Câmara de Neubauer. Dessa forma era possível analisar a perda de espermatozoides com a centrifugação.

A concentração desejada era de 200 a 300 milhões de espermatozoides por ml. O volume de BotuCrio® necessário era calculado com base nessa concentração e na quantidade de palhetas desejadas. O sêmen era então envasado em palhetas de 0,5 ml, posteriormente seladas. As palhetas eram levadas até o congelador automático CRYOGEN HSE Neovet® para ser realizado o processo de congelamento. Finalizado o congelamento, era retirada uma palheta para descongelamento e análise do sêmen. Se a qualidade do sêmen fosse considerada adequada para uso em IA, o sêmen era colocado em raques ou globets para ser armazenado em botijão de sêmen com nitrogênio.

2.2.9 Esterilização de Equipamentos

As sondas de lavagem uterina e as ponteiras de inox eram higienizadas e esterilizadas no local. Primeiramente, era realizada higienização da pia de inox na sala de esterilização com detergente neutro. Para serem lavadas as sondas eram desacopladas em duas partes. Na primeira etapa, cada parte da sonda era esfregada com esponja, por toda sua extensão utilizando detergente, o mesmo era feito com as ponteiras. Feito isto, um cabo com esponja na extremidade era embebido em detergente e água e introduzido dentro da sonda para realizar higienização da parte interna. Em seguida, as sondas e as ponteiras eram enxaguadas em água corrente da torneira até que todo detergente fosse removido. Um recipiente era preenchido com água quente e duas medidas de detergente Extran e as sondas e ponteiras colocadas de molho por trinta minutos. Após esse tempo as duas partes da sonda eram acopladas e enxaguadas em água corrente e posteriormente passado água quente, o mesmo era feito com as ponteiras. Então eram passados cinco litros de água destilada em cada sonda e uma quantidade menor para as ponteiras. As sondas e ponteiras eram embaladas em papel cirúrgico (Figuras 15 e 16) e levadas à autoclave. Finalizado o processo de esterilização na autoclave, eram colocadas em estufa por 48 horas. As sondas e as ponteiras de inox tinham a embalagem numerada para ser realizado controle do número destas.

Béqueres e provetas também eram esterilizados no local. Primeiramente eram higienizados com detergente e enxaguados em água corrente. Em seguida, eram passados alguns litros de água destilada. Posteriormente, tinham a sua abertura coberta com papel pardo

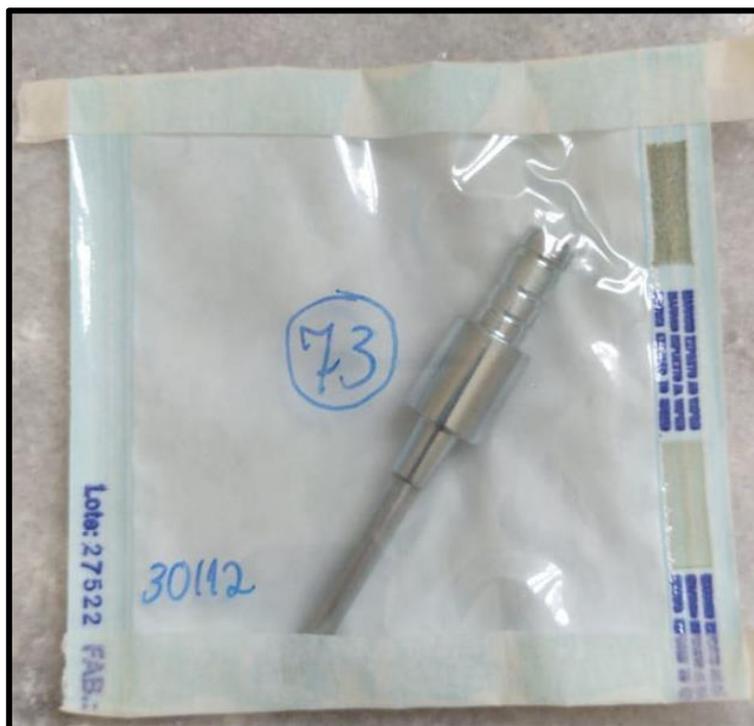
e fita adesiva, e eram levados à autoclave para esterilização. Após o processo, ficavam durante 48 horas na estufa.

Figura 15 - Sonda de embrião estéril.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 16 - Ponteira de inox estéril.



Fonte: Da autora (2020).

2.2.10 Citologia Uterina

O exame de citologia uterina era realizado em éguas com suspeita de endometrite. A égua tinha a região perineal higienizada e era introduzida uma pipeta de citologia uterina para colher o material. A pipeta tinha uma escova na extremidade que era protegida, quando se chegava ao útero a escova era exposta e fazia-se a coleta de material por contato. Antes de retirar do útero a escova era recolhida novamente para que não fosse contaminada fora do útero. Então, a escova era esfregada em duas lâminas de microscopia e feita a coloração com Panótico Rápido. As lâminas eram analisadas no microscópio óptico (Figura 17), onde se realizava a contagem de 200 células, entre células endometriais e inflamatórias. Em seguida era calculada a porcentagem de células inflamatórias sobre o total de células para classificar o grau de endometrite. Era realizada a média entre o valor das duas lâminas. Acima de 3% era considerado endometrite e instituído tratamento de acordo com o caso.

Figura 17 - Imagem de microscópio óptico de lâmina de citologia uterina de égua, evidenciando células endometriais.

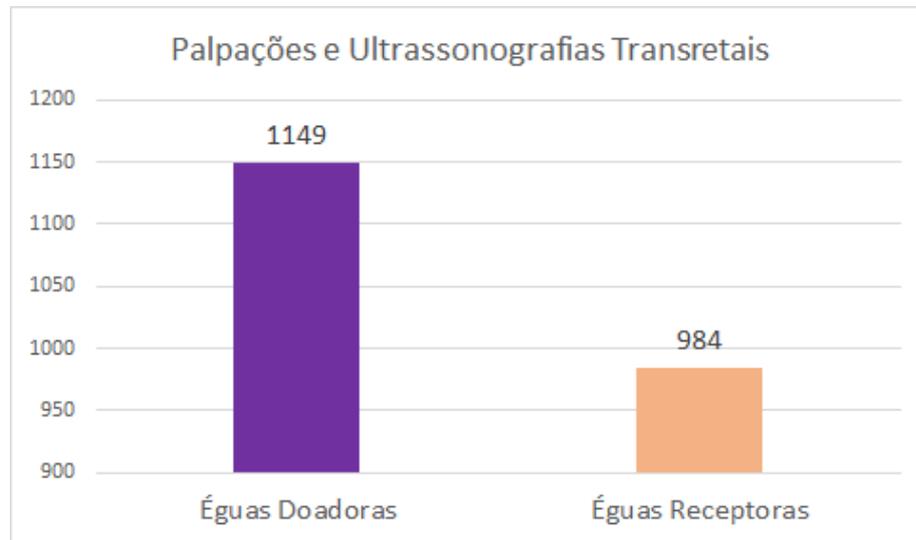


Fonte: Da autora (2020).

2.3 Casuística

Durante o período de 15 de setembro a 18 de dezembro de 2020 foram acompanhados diversos procedimentos relacionados à reprodução no haras. Durante o estágio foi possível acompanhar várias palpções e ultrassonografias transretais realizadas pelos veterinários, totalizando o número de 2133 avaliações entre éguas doadoras (1149) e receptoras (984) demonstradas Figura 18.

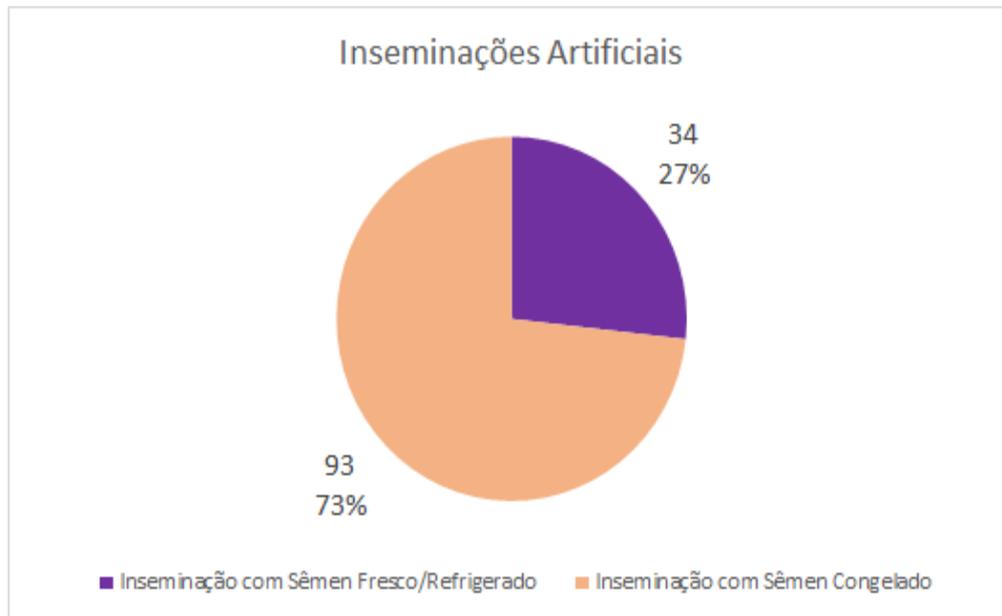
Figura 18 - Frequência absoluta de palpações e ultrassonografias transretais realizadas pelos veterinários em éguas doadoras e receptoras durante o período de estágio.



Fonte: Dados da autora (2020).

Acompanhou-se os procedimentos de inseminação artificial em éguas, que incluía inseminações com sêmen fresco/refrigerado e inseminações com sêmen congelado, as frequências estão demonstradas na Figura 19.

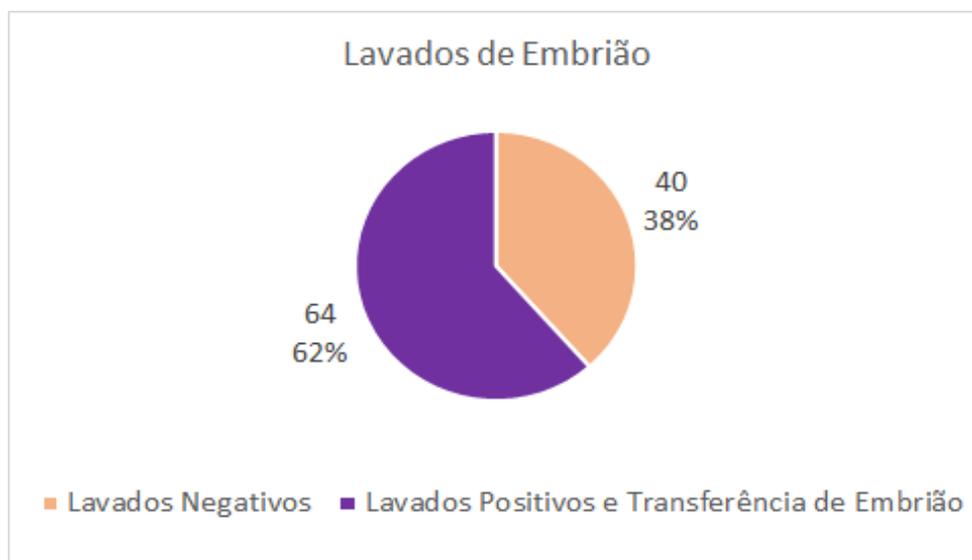
Figura 19 - Frequência absoluta e relativa de inseminações artificiais com sêmen fresco/refrigerado e inseminações artificiais com sêmen congelado acompanhadas no período de estágio.



Fonte: Dados da autora (2020).

Foram acompanhados cento e quatro lavados de embrião, destes quarenta foram lavados negativos e sessenta e quatro foram positivos com conseqüente transferência de embrião para a égua receptora, como vistos na Figura 20.

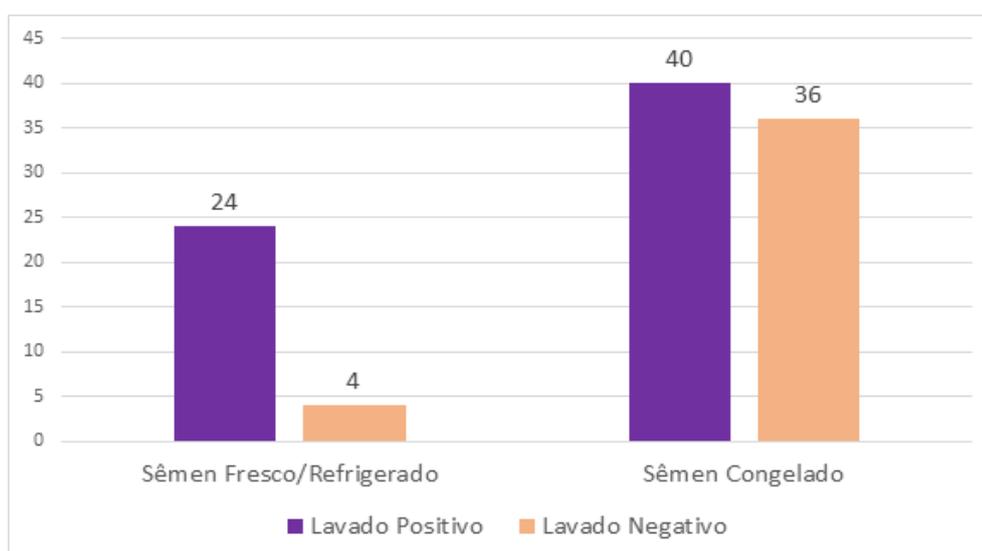
Figura 20 - Frequência absoluta e relativa de lavados de embrião negativos e positivos seguidos de transferência de embrião acompanhados no período do estágio.



Fonte: Dados da autora (2020).

Fazendo-se um comparativo, é possível visualizar na Figura 21 que entre os lavados provenientes de IA com sêmen fresco/refrigerado a maioria dos lavados foi positivo. Enquanto nos lavados provenientes de IA com sêmen congelado o número de lavados negativos é bem próximo do número de lavados positivos.

Figura 21 - Frequência de lavados de embrião positivos e negativos de acordo com o sêmen utilizado na IA.



Fonte: Dados da autora (2020).

Quanto aos diagnósticos de gestação, foram realizadas quarenta e duas confirmações de prenhez com sessenta dias durante o período do estágio. Sobre os procedimentos de citologias uterinas, foram realizados no total vinte e quatro.

Durante o estágio, foi possível assistir um total de sessenta e seis coletas de sêmen, em cinquenta e sete destas o destino do sêmen foi o uso a fresco ou refrigerado e em nove o sêmen foi para o congelamento, os dados estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Frequência absoluta e relativa coletas de sêmen para uso fresco/refrigerado e para congelamento acompanhadas durante o estágio supervisionado.

Coletas de Sêmen		
	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)
Uso fresco ou refrigerado	57	86,36
Congelamento	9	13,64
Total	66	100

Fonte: Dados da autora (2020).

3 – RELATO DE CASO: USO DE SULPIRIDA NO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR DE ÉGUA EM TRANSIÇÃO

3.1 Revisão De Literatura

O mercado do cavalo destaca-se por sua relevância social e econômica. Este ramo é responsável por uma movimentação de cerca de R\$16,15 bilhões por ano e por empregar aproximadamente 607 mil pessoas diretamente e cerca de 2,4 milhões indiretamente. Com o grau de profissionalismo na atividade aumentando, está havendo uma melhoria dos principais indicadores de desempenho em geral e da qualidade genética das principais raças do plantel brasileiro (LIMA; CINTRA, 2016).

A transferência de embriões (TE) é uma biotécnica da reprodução que consiste na coleta de um embrião de uma fêmea doadora e a transferência deste embrião para uma fêmea receptora que se encarregará de levar a gestação a termo. Dentre as vantagens de seu emprego, pode-se

destacar o aumento da produtividade de embriões de éguas com mérito genético, a obtenção de potros de éguas incapazes de conduzir a gestação a termo por problemas adquiridos e a possibilidade de manter éguas de performance em atividade esportiva ao longo do ano (ENGLAND, 2005).

O sucesso de um programa de TE está relacionado à taxa de recuperação embrionária a partir das éguas doadoras. A taxa média de recuperação é por volta de 70% em éguas Mangalarga Marchador. Diversos fatores influenciam diretamente na taxa de gestação em um programa TE, dentre os mais importantes estão aqueles relacionados com a receptora (manejo e seleção), a qualidade do embrião, dia de inovulação e o fator técnico (LOPES et al., 2013). Esses índices, associados ao curto período de tempo em que as fêmeas equinas ciclam durante uma estação de monta, contribuem para baixa obtenção de produtos por ano e conseqüentemente uma lenta seleção genética em relação a outras espécies (CRUZ, 2014).

A espécie equina é poliéstrica sazonal, sendo que a época reprodutiva ocorre em fotoperíodo crescente. Esse período se inicia próximo da primavera e tem seu auge no verão. A maior síntese de melatonina na época de outono/inverno diminui a produção de GnRH e do hormônio luteinizante (LH) correspondendo a um período de anestro, onde os ovários apresentam folículos de no máximo 10-15 mm. Com o aumento das horas de luz e diminuição da melatonina, ocorre aumento da produção de GnRH e conseqüentemente de LH, estrógenos e inibina. Então, começam a surgir folículos de maiores tamanhos 20-30 mm, mas que ainda são anovulatórios. O ovário fica com aspecto de “cacho de uva” no ultrassom, caracterizando o período de transição (BETTENCOURT et al., 2018). Quando um folículo dominante se desenvolve, atingindo pelo menos 35 mm de diâmetro e produzindo quantidades significativas de estrógeno, em conjunto com um pico de liberação de LH, culmina com a ocorrência de ovulação. Uma vez que a égua ovula e forma corpo lúteo, ciclos estrais se seguem (BRINSKO et al., 2011).

O padrão de reprodução sazonal, resulta em uma estreita faixa de tempo para produzir a maioria da prole equina. Portanto, tem-se tornado uma prática comum a indução precoce do período de transição, usando regimes de iluminação, ou o encurtamento da duração do período de transição, usando por exemplo progestágenos, combinados ou não com GnRH ou antagonistas de dopamina (ENGLAND, 2005).

A dopamina exerce papel na inibição da atividade reprodutiva durante a estação anovulatória. A sulpirida é um antagonista dos receptores de dopamina D2, acredita-se que atue removendo a inibição da secreção de prolactina (REED; BAYLY; SELLON, 2017). O conseqüente aumento da secreção de prolactina pode estimular a expressão no ovário de

receptores de gonadotrofina. Os antagonistas do receptor D2 além de serem usados para promover o adiantamento da estação ovulatória em éguas, têm sido utilizados no tratamento de algumas formas de agalactia (BRINSKO et al., 2011).

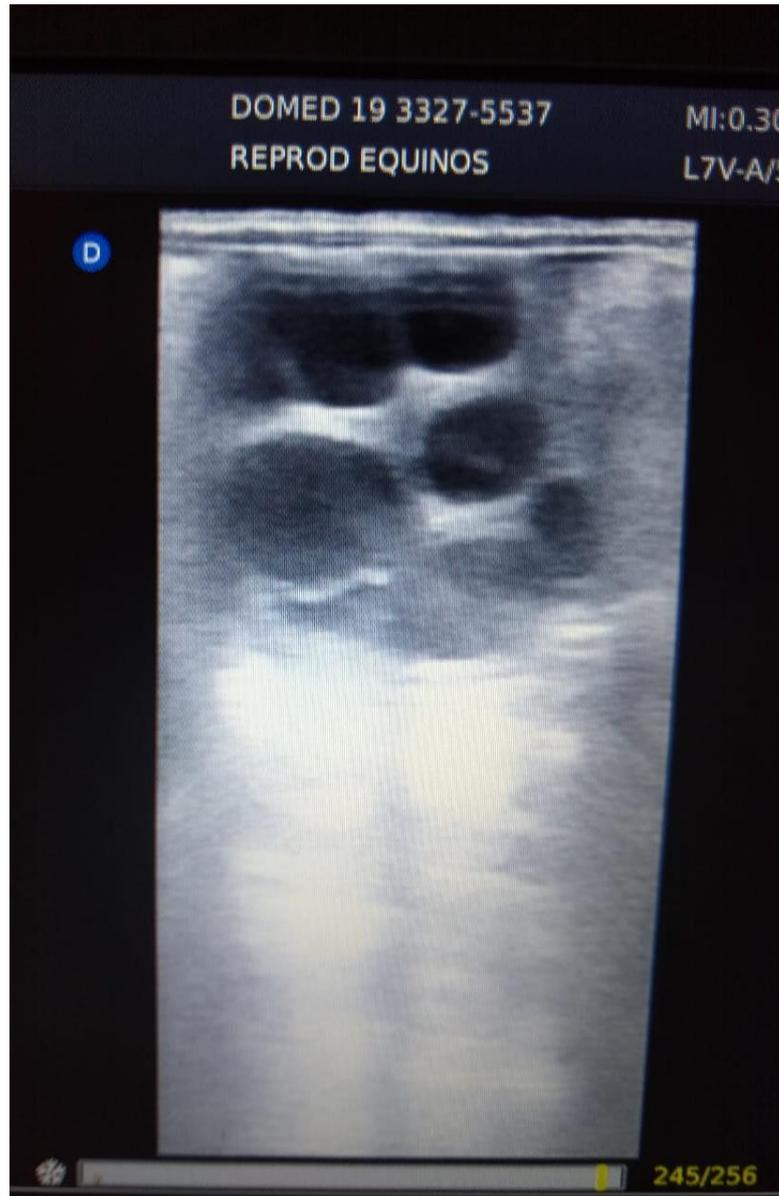
Este trabalho tem o objetivo de relatar um caso do uso da sulpirida para estimular desenvolvimento folicular de égua em transição.

3.2 Relato de Caso

Uma égua, Mangalarga Marchador, pelagem castanha, quatro anos de idade, escore corporal 3, entrou no programa reprodutivo do haras para produção de embrião. Já havia pedidos de clientes para adquirir um embrião de origem dela.

No início da estação de monta em setembro, a égua ainda se apresentava em transição. Isto foi constatado através da ultrassonografia transretal, onde visualizava-se nos dois ovários vários folículos de no máximo 25 mm (Figura 22), ausência de edema uterino, útero flácido e cérvix fechada. A égua foi acompanhada por quinze dias e a situação uterina e ovariana continuava a mesma.

Figura 22 - Imagem ultrassonográfica do ovário polifolicular de uma égua em transição reprodutiva.



Fonte: Da autora (2020).

Então, optou-se por fazer uso de implante intravaginal de liberação lenta de progesterona afim de estimulá-la a ciclar. A égua teve região perineal higienizada e implante borrifado com cloridrato de oxitetraciclina e hidrocortisona (Terra-Cortril® spray) colocado na vagina. Quinze dias depois, o implante foi retirado e a égua avaliada. Os folículos continuavam a alcançar tamanhos de no máximo 25 mm. Foi realizado acompanhamento por mais oito dias e a situação se manteve.

Realizou-se a aplicação de 20 mg de 17 Beta estradiol e iniciou-se o tratamento com sulpirida, administrando 400 mg via oral, uma vez ao dia, durante quinze dias. Após esse

tratamento, realizou-se nova avaliação ultrassonográfica transretal da égua e constatou-se ambos ovários polifoliculares com folículos menores que 25 mm, ausência de edema e cérvix fechada.

Então, foi instituída a administração de 800 mg de sulpirida, via oral, uma vez ao dia. Após quatro dias, através avaliação transretal constatou-se um folículo de 37 mm no ovário esquerdo, ovário direito polifolicular, edema 3 /4 e cérvix aberta.

Optou-se por fazer a indução da ovulação com 2000 UI hCG via intravenosa e 1 mg de deslorelina via intramuscular. Foram realizadas ultrassonografias doze, vinte e quatro e trinta e seis horas depois. Após trinta e seis horas ocorreu a ovulação e a égua foi inseminada com quatro palhetas de sêmen congelado. Após a IA recebeu 50 mg de dexametasona via intravenosa. Oito dias depois da IA foi realizada lavagem de embrião da égua, sendo o lavado positivo. Administrou-se 1,5 ml de dinoprost trometamina (Lutalyse®) via intramuscular.

3.3 Discussão

O uso de progesterona exógena tem sido empregado em protocolos em éguas nos períodos de anestro e transição, antecedendo a estação reprodutiva. A aplicação de dispositivos intravaginais de progesterona fundamenta-se no pressuposto que as variações dos níveis deste hormônio estimulem a produção e liberação de GnRH e, conseqüentemente, a liberação do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) que tem ação de estimular o crescimento folicular e do LH, que tem função de realizar a maturação folicular, ovulação e a produção do corpo lúteo. A égua deve estar em transição, éguas em anestro não respondem bem ao implante. O intuito do uso do spray de terramicina e hidrocortisona (Terra-Cortril Spray®) é prevenir uma possível vaginite (SCHUTZER, 2012). A égua do relato de caso mesmo estando em período de transição não respondeu bem ao uso do implante. Oliveira Filho et al. (2012) verificaram uma eficácia de 80% do implante intravaginal de progesterona sobre a ciclicidade das éguas.

A prolactina, secretada pela ação de antagonistas dopaminérgicos como a sulpirida, estimula o crescimento folicular em éguas. Receptores de prolactina foram encontrados em células foliculares e células luteais, acredita-se que a prolactina estimula o crescimento folicular em éguas se ligando a esses receptores (OBERHAUS et al., 2018). Éguas tratadas com sulpirida têm diâmetro folicular médio maior, condição associada ao adiantamento do período de transição e do maior número de ovulações do que em éguas não tratadas (MARI et al., 2009), esta resposta também foi observada no presente relato.

Entre os fatores mais importantes que contribuem para o retorno de uma égua a ciclicidade pode-se destacar o restabelecimento da secreção de LH e o aumento da prolactina plasmática que estimula os receptores de LH. Os folículos ovulatórios induzidos com sulpirida conseguem responder ao LH igualmente aos folículos que ocorrem naturalmente em ciclos posteriores. Além disso, são competentes na produção de esteróides, produzindo nas mesmas proporções que um folículo não induzido (OBERHAUS et al., 2018), tal fato também foi observado no presente relato que conseguiu induzir o crescimento folicular, ovulação e embrião em égua no período de transição reprodutiva.

O uso da sulpirida quando os folículos têm pelo menos 25 mm de diâmetro acelera a primeira ovulação do ano. Para este fim é usada na dose 1 mg/Kg (PANZANI et al., 2011; GIORGI et al., 2013; DONADEU; THOMPSON, 2002) via intravenosa, intramuscular ou oral (GIORGI et al., 2013). A dose inicialmente usada no caso relatado de 400 mg fica bem próxima de 1 mg/Kg, mas não foi observado resposta. Donadeu e Thompson (2002) obtiveram eficácia no tratamento usando a dose de 500 mg por dia.

O uso de sulpirida 1,5 mg / kg, via intramuscular, a cada doze horas até o momento da ovulação foi eficiente para aumentar as concentrações plasmáticas de prolactina em éguas (MARTÍNEZ et al., 2014). A absorção da sulpirida via oral em equinos é considerada relativamente baixa, em torno de 20% (GIORGI et al., 2013). Este fato levou a estudos com a dose escolhida maior que a de 1 mg/Kg comumente utilizada. Migdal et al. (2017) demonstraram a eficácia da sulpirida em elevar os níveis séricos de prolactina após a administração de 2mg/Kg, via oral, em éguas pós-parto. No caso apresentado, a égua respondeu bem a dose de 800 mg, que corresponde a aproximadamente 2 mg/Kg, tendo crescimento folicular significativo após o aumento da dose.

Em relação ao uso do estradiol, sua associação com o antagonista de dopamina torna o tratamento para desenvolvimento folicular muito mais eficiente. O estradiol aumenta significativamente as concentrações de prolactina e LH, potencializando o efeito da sulpirida (KELLEY et al., 2006), como realizado e observado no presente estudo.

O uso de indutores de ovulação em éguas em estro tem o objetivo de estimular a ovulação dentro de um período determinado, para facilitar o manejo reprodutivo de éguas para inseminações. Para que eles sejam eficientes, o folículo deve ter mais de 35 mm de diâmetro e o útero deve apresentar edema. O hCG age se ligando a receptores de LH no ovário, exercendo um efeito semelhante ao do LH causando maturação e ovulação do folículo de éguas em estro. A deslorelina, que é um agonista de GnRH, estimula a liberação de LH e FSH endógeno. O aumento induzido de LH estimula a maturação do folículo e a ovulação (MCCUE; MAGEE;

GEE, 2007). O GnRH é eficiente na dose de 1 mg para induzir a ovulação entre 24 e 48 horas após a aplicação (JACQUES et al., 2020). O uso do hCG na dose de 1500 Ui a 5000 Ui têm mostrado eficácia na indução de ovulação, com média de resposta de 36 horas após a aplicação (SAMPER et al., 2002). A associação dos dois busca aumentar as chances de resposta da égua no tempo esperado, que no presente relato foi de 36 horas.

Quanto à administração de dexametasona, Bucca et al. (2008) demonstraram que uma dose única de 50 mg via intravenosa logo após a IA reduz significativamente a turbidez do líquido intra-uterino acumulado, parâmetro que é associado à ocorrência de endometrites induzidas.

A prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e seus análogos são os hormônios mais utilizados na reprodução equina. É utilizada para indução de cio em éguas cíclicas em apoio ao uso de biotécnicas como a inseminação artificial e a transferência de embriões. A PGF_{2α} é um agente luteolítico, pois controla a lise do CL. Pode ser usada em dose única quando o CL está maduro entre 8 e 10 dias após ovulação (HUGHES; STABENFELDT; EVANS, 1972). Como era desejado produzir mais embriões de origem da égua em questão, foi utilizada a prostaglandina para evitar uma possível gestação e adiantar o início do próximo ciclo estral.

3.4 Conclusões

A reprodução equina é de extrema importância para a melhora da genética e para a lucratividade de um haras. Diminuindo o tempo anovulatório de uma égua, aumenta-se o número de embriões produzidos por estação. Por isso, a sulpirida se torna uma importante ferramenta no manejo reprodutivo das éguas estimulando o desenvolvimento folicular. Por ser acessível e de baixo custo, podendo ser usada facilmente no manejo reprodutivo de qualquer propriedade.

4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio supervisionado, respaldado na Disciplina PRG-107 foi de extrema importância para formação profissional, visto que a vivência obtida proporcionou a associação dos aprendizados teóricos obtidos na graduação com as práticas realizadas na área de reprodução equina.

O estágio no Haras CR Alves Monte Branco permitiu o contato com novos protocolos e procedimentos, o conhecimento do uso de recursos e tecnologias avançadas na área da

reprodução e a construção de uma visão mais ampla da atuação de um médico veterinário como prestador de serviços. Possibilitou também o contato com médicos veterinários referência na área e com criadores de equinos, permitindo desenvolver uma rede de contatos e entender melhor o funcionamento do mercado de trabalho.

Foi possível adquirir grande experiência com os casos vividos no estágio, pelo desafio em pensar, pesquisar e opinar com equipe sobre as condutas e diagnósticos. Destaca-se também o crescimento e o amadurecimento pessoal e profissional adquirido por ter a oportunidade de fazer parte de uma equipe muito competente.

REFERÊNCIAS

BETTENCOURT, E. M. V., ANTUNES, L., GONÇALVES, A. R., BRANCO, S., & ROCHA, A. Reprodução em equinos: Manual Prático, p. 57-59, 2018.

BRINSKO, S. P., BLANCHARD, T. L., VARNER, D. D., SCHUMACHER, J., & LOVE, C. C. Manual of Equine Reproduction. Elsevier Health Sciences, 3. ed, p 16-20, 2011.

BUCCA, S., CARLI, A., BUCKLEY, T., DOLCI, G., & FOGARTY, U. (2008). The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. *Theriogenology*, v. 70, n. 7, p. 1093–1100.

CRUZ, F.D.S.M. Efeito da administração da sulpirida no desenvolvimento folicular em éguas. 2014.

DE OLIVEIRA FILHO, L. R., DANEZE, E. R., & DE CASTRO SCHUTZER, C. G. Efeito do implante intravaginal de progesterona sobre a ciclicidade de éguas em anestro da raça quarto de milha. *Nucleus Animalium*, v. 4, n. 2, 2012.

DONADEU, F. X.; THOMPSON JR, D. L. Administration of sulpiride to anovulatory mares in winter: effects on prolactin and gonadotropin concentrations, ovarian activity, ovulation and hair shedding. *Theriogenology*, v. 57, n. 2, p. 963-976, 2002.

ENGLAND, Gary CW. Fertility and Obstetrics in the Horse. Blackwell, p 43-47, 2005.

GIORGI, M., OZDEMIR, M., CAMILLO, F., & PANZANI, D. Pharmacokinetics of Sulpiride After Intravenous, Intramuscular, and Oral Single-Dose Administration in Nurse Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 33, n. 7, 533–538, 2013.

HUGHES, J.P.; STABENFELDT, G.H.; EVANS, J.W. Clinical and endocrine aspects of the estrous cycle of the mare. In: *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners*. p. 119-152, 1972.

JACQUES, H. L., DONADEL, G., BOSCARATO, A. G., JUNIOR, R. P., PINC, M. M., OTENIO, J. K., ... & LOURENÇO, E. L. B. Influência de diferentes doses de acetato de deslorrelina no processo de ovulação em equinos. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 8, p. 55287-55296, 2020.

KELLEY, K. K., THOMPSON, D. L., STORER, W. A., MITCHAM, P. B., GILLEY, R. M., & BURNS, P. J. Estradiol interactions with dopamine antagonists in mares: Prolactin secretion and reproductive traits. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 26, n. 11, 517–528, 2006.

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

LOPES E.P., PINHO R.O., SIQUEIRA J.B., ROCHA N.A., PEREIRA J.V.T.N., MARTINS L.F., FREITAS B.W., GUIMARÃES J.D. Correlação dos fatores que interferem na eficiência reprodutiva de éguas Mangalarga marchador em programas de transferência de embriões. *Rev Bras Med Vet*, v. 35, n. 1, p 69-75, 2013.

MARI, G., MORGANTI, M., MERLO, B., CASTAGNETTI, C., PARMEGGIANI, F., GOVONI, N., ... TAMANINI, C. Administration of sulpiride or domperidone for advancing the first ovulation in deep anestrous mares. *Theriogenology*, v. 71, n. 6, p. 959–965, 2009.

MARTÍNEZ-BOVÍ, R., ZAGRAJCZUK, A., DOMINGO-ORTIZ, R., & CUERVO-ARANGO, J. The Effect of Sulpiride Treatment During the Perioovulatory Period on Prolactin Concentration and Ovulation in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.34, n. 10, p. 1170–1174, 2014.

MCCUE, P. M., MAGEE, C., & GEE, E. K. Comparison of Compounded Deslorelin and hCG for Induction of Ovulation in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 27, n. 2, p. 58–61, 2007.

MIGDAL, A., MIGDAL, L., ZAGRAJCZUK, A., KOCHAN, J., NOWAK, A., & OKÓLSKI, A. Influence of sulpiride treatment on the level of prolactin and immunoglobulins in the peripheral blood of mares during the postpartum period. *Acta Veterinaria Hungarica*, v. 65, n. 3, p. 417–428, 2017.

OBERHAUS, E. L., THOMPSON, D. L., FOSTER, B. A., & PINTO, C. R. Effects of Combined Estradiol-Sulpiride Treatment and Follicle Ablation on Vernal Transition in Mares: Evaluation of Plasma and Follicular Fluid Hormones and Luteinizing Hormone Receptor Gene Expression. *Journal of Equine Veterinary Science*, 64, p. 69–76, 2018.

PANZANI, D., ZICCHINO, I., TARAS, A., MARMORINI, P., CRISCI, A., ROTA, A., & CAMILLO, F. Clinical use of dopamine antagonist sulpiride to advance first ovulation in transitional mares. *Theriogenology*, v. 75, n. 1, p. 138–143, 2011.

REED, S.M.; BAYLY, W.M.; SELTON, Debra C. *Equine Internal Medicine*. Elsevier Health Sciences, p. 1258-1262, 2017.

SAMPER, J. C., JENSEN, S., SERGEANT, J., & ESTRADA, A. Timing of induction of ovulation in mares treated with Ovuplant or Chorulon. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 22, n. 7, p. 320–323, 2002.

SCHUTZER, C. G. de C. Utilização do implante de progesterona intra-vaginal e acetato de deslorelina em éguas acíclicas associados ou não a luz artificial para o controle da sazonalidade reprodutiva. Botucatu, 75f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Curso de Pós-graduação em Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2012.