



**BRUNA GISCHEWSKI VILELA**

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO HARAS DO  
HENRIQUE- CENTRO DE REPRODUÇÃO E MEDICINA  
EQUINA DO SUL DE MINAS**

**LAVRAS-MG  
2022**

**BRUNA GISCHEWSKI VILELA**

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO HARAS DO HENRIQUE-  
CENTRO DE REPRODUÇÃO E MEDICINA EQUINA DO SUL DE MINAS**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à  
Universidade Federal de Lavras, como parte das  
exigências para o Curso de Medicina Veterinária,  
para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Miller Pereira Palhão  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2022**

**BRUNA GISCHEWSKI VILELA**

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO HARAS DO HENRIQUE-  
CENTRO DE REPRODUÇÃO E MEDICINA EQUINA DO SUL DE MINAS**

**SUPERVISED INTERNSHIP CARRIED OUT AT HARAS DO HENRIQUE-  
REPRODUCTION AND EQUINE MEDICINE CENTER OF SOUTH MINAS**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências para o Curso de Medicina Veterinária, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 25 de abril de 2022.

Prof. Dr. Miller Pereira Palhão

Msc. Jorge Henrique Villela Botelho

Profa. Dra. Bárbara Azevedo Pereira Torres

Prof. Dr. Miller Pereira Palhão  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, São Francisco de Assis e ao meu espírito protetor, por sempre me guiarem ao melhor caminho e me abençoarem sempre.

Agradeço aos meus pais, Ginna e Gustavo, pelo apoio desde o início, por nunca medirem esforços para me ajudar, me dando forças a cada momento de desespero e por serem minha inspiração.

Agradeço aos meus avós, Douglas, Helena e Sonilza, por tanto amor, por acreditarem em mim e entenderem, muitas vezes, o motivo da minha ausência.

Agradeço ao meu namorado, João Pedro, por ser meu companheiro para todos os momentos e me incentivar a ser uma pessoa melhor para conquistar nossos sonhos. A toda sua família, por tanto carinho e por me tornarem parte dela.

Agradeço a madrinha Daniela, madrinha Gisele, tio Henry Lander, Higor, João Fabiano, padrinho Rodrigo e Tunico, pelo amor e atenção comigo durante toda minha trajetória. A toda minha família que esteve ao meu lado, torcendo pelo meu sucesso.

Agradeço a todos meus amigos, que mesmo de longe tornaram o caminho mais leve. Em especial a Ana, que se tornou uma irmã para mim, estando sempre comigo, e a Layra, minha dupla da faculdade que levarei para o resto da vida.

Agradeço ao NECCIGA, todos seus membros e professor Norberto, por terem feito grande parte da minha trajetória pela UFLA, me ensinando tanto e me tornando uma pessoa mais responsável e capaz. A equipe do Hospital Veterinário de Grandes Animais e todos os residentes pelos ensinamentos e companheirismo durante esses 5 anos.

Agradeço ao médico veterinário Jorge Henrique, grande amigo e profissional, e toda sua família, por tanto me ensinarem sobre a profissão e a vida, e por me acolherem com tanto carinho.

Agradeço ao professor Miller por compartilhar seu conhecimento e experiências comigo durante esse período e me auxiliar a concluir esta etapa tão importante. A professora Bárbara por aceitar meu pedido de banca.

Agradeço a todos os animais que já cruzaram meu caminho, em especial a Magali e ao Havaí, por terem me proporcionado tantos momentos de alegria e me darem ainda mais certeza de que nasci para a veterinária.

Muito obrigada!

*“Comece fazendo o que é necessário, depois o  
que é possível, e de repente você estará fazendo o  
impossível.”*

*(São Francisco de Assis)*

## RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo relatar, de forma detalhada, o estágio supervisionado, realizado no período de 29 de janeiro a 11 de abril de 2022, totalizando as 408 horas práticas da disciplina PRG – 107, do curso de Medicina Veterinária, descrevendo o local e as principais atividades desenvolvidas e acompanhadas na área da reprodução equina. O estágio foi orientado pelo Prof. Dr. Miller Pereira Palhão (DMV-UFLA) e realizado no Haras do Henrique - Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, situado em Nepomuceno, Minas Gerais, sob a supervisão do Médico Veterinário Jorge Henrique Villela Botelho. As atividades envolviam o manejo sanitário dos animais e a rotina diária do manejo reprodutivo, incluindo a ultrassonografia endometrial para controle da dinâmica folicular de doadoras e receptoras e diagnóstico de gestação, protocolos hormonais, inseminação artificial, transferência de embriões, coleta e análise de sêmen em garanhões. Além disso, é relatada a utilização de éguas acíclicas como receptoras de embriões. Durante este período foi possível vivenciar diferentes situações dentro da área, agregando crescimento profissional e pessoal, além de muita experiência prática.

**Palavras-chave:** Equino. Transferência de embriões. Receptoras acíclicas. Protocolos hormonais.

## ABSTRACT

The present academic work aims to report in detail the supervised internship carried out from January 29<sup>th</sup> to April 11<sup>th</sup>, 2022, totaling 408 practical hours of the discipline PRG – 107, of the Veterinary Medicine course, describing the place and the main activities developed and accompanied in the área of equine reproduction. The internship was guided by Mr. Miller Pereira Palhão and held at Haras do Henrique – Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, located in Nepomuceno, Minas Gerais, under the supervision of Veterinarian Jorge Henrique Villela Botelho. The activities involved the sanitary management of the animals and the daily routine of reproductive management, including transrectal ultrasound to control the follicular dynamics of donors and recipients and pregnancy diagnosis, hormonal protocols, artificial insemination, embryo transfer, collection and analysis of semen in stallions. In addition, the use of acyclic mares as embryo recipients is reported. During this period it was possible to experience different situations within the area, adding professional and personal growth, as well a lot of practical experience.

**Keywords:** Equine. Embryo transfer. Acyclic recipient mares. Hormonal protocols.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Entrada do galpão do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. .....	13
Figura 2 – Escritório do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	14
Figura 3 – Laboratório do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	14
Figura 4 – Farmácia do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. .....	15
Figura 5 – Depósito do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	16
Figura 6 – Tronco de contenção do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. .....	16
Figura 7 – Lanchonetes do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	17
Figura 8 – Cochos de alimentação e água nas lanchonetes do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	17
Figura 9 – Piquetes do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	18
Figura 10 – Pista de treinamento do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. .....	18
Figura 11 – Baias principais do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. .....	19
Ficha 12 – Folículos pré-ovulatórios. ....	21
Figura 13 – Edema uterino. ....	21
Figura 14 – Ficha de controle reprodutivo do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	22
Figura 15 – Introdução da pipeta de inseminação na vagina da égua. ....	27
Figura 16 – Visualização de vesícula embrionária de 13 dias através da ultrassonografia. ....	29
Figura 17 – Momento do preenchimento por água da vagina artificial devidamente preparada. .....	30
Figura 18 – Coleta de sêmen em garanhão. ....	31
Figura 19 – Lavagem dos embriões D9 em meio de manutenção EquiHold®. ....	33
Figura 20 – Visualização de embriões D9 através da lupa. ....	33
Figura 21 – Fluidos recuperados após a lavagem uterina de égua com endometrite, utilizando solução de ringer com lactato, no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. .....	35

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Número absoluto e frequência relativa (%) dos hormônios aplicados nas éguas do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022. ....	23
Gráfico 2 – Número absoluto e frequência relativa (%) das IA com sêmen fresco/resfriado e das IA com sêmen congelado do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022. ....	26
Gráfico 3 – Número absoluto e frequência relativa (%) das receptoras cíclicas e receptoras protocoladas utilizadas no programa de transferência de embriões do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022. ....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número absoluto (n) e frequência relativa (%) das atividades desenvolvidas no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022. ....	20
Tabela 2 – Número absoluto (n) e eficiência (%) da indução de ovulação em éguas utilizando histrelina e a associação de histrelina e hCG, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022 no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	24
Tabela 3 – Número absoluto de lavados uterinos, número de embriões recuperados e inovulados (n+), taxa de recuperação embrionária (%), gestações confirmadas (DG+) e taxa de concepção (%) durante o período de 29/01/2022 a 11/04/2022, no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. ....	34
Tabela 4 – Número absoluto de receptoras cíclicas e protocoladas utilizadas (n), número absoluto de gestações confirmadas (DG+) e taxa de concepção (%) destas no programa de transferência de embriões do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022. ....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CL – Corpo lúteo

D0 – Dia da ovulação

f – Frequência relativa

FSH – Hormônio folículo estimulante

GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofina

HHG – Hipotálamo- hipófise- gonadal

h – Hora

IA – Inseminação artificial

L – Litro

LH – Hormônio luteinizante

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm- Milímetros

n – Número absoluto

P4 – Progesterona

PGF2 $\alpha$  – Prostaglandina F2 $\alpha$

TCC – Trabalho de Conclusão de Curso

TE – Transferência de embriões

UI – Unidade internacional

°C – Graus Celsius

$\mu$ g – Micrograma

® – Registro de marca

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO .....	12
2.1	Estrutura.....	13
2.1.1	<i>Escritório</i> .....	13
2.1.2	<i>Laboratório</i> .....	14
2.1.3	<i>Farmácia</i> .....	15
2.1.4	<i>Depósito</i> .....	15
2.1.5	<i>Tronco de contenção</i> .....	16
2.1.6	<i>Lanchonetes</i> .....	16
2.1.7	<i>Área externa</i> .....	17
2.1.8	<i>Baias</i> .....	18
3	DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS E ROTINA .....	19
3.1	Avaliação ovariana e uterina .....	20
3.2	Protocolos hormonais .....	22
3.2.1	<i>Dinoprost trometamina</i> .....	23
3.2.2	<i>Histrelina e hCG</i> .....	24
3.2.3	<i>Ocitocina</i> .....	24
3.2.4	<i>Progesterona e estradiol</i> .....	25
3.3	Inseminação artificial .....	25
3.3.1	<i>Inseminação artificial com semên fresco e resfriado</i> .....	26
3.3.2	<i>Inseminação artificial com sêmen congelado</i> .....	27
3.4	Diagnóstico de gestação .....	28
3.5	Coleta e análise de sêmen .....	29
3.6	Transferência de embriões .....	32
3.7	Lavagem uterina terapêutica .....	34
4	UTILIZAÇÃO DE ÉGUAS ACÍCLICAS COMO RECEPTORAS DE EMBRIÃO - RELATO DE CASO.....	35
4.1	Introdução .....	35
4.2	Descrição.....	37
4.3	Discussão.....	38
4.4	Conclusão.....	39
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	40
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41

## **1 INTRODUÇÃO**

O curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, tendo 10 semestres em período integral, possui em seu último módulo a disciplina PRG - 107, na qual os alunos devem realizar o estágio supervisionado. A disciplina é composta por uma carga horária de 408 horas práticas, que podem ser realizadas em instituições de ensino ou empresas e, 68 horas de atividades teóricas, que devem ser dedicadas à elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), resultando em 476 horas ou 28 créditos no período.

A escolha do local de realização do estágio supervisionado se baseia na área de atuação de interesse do discente. Para a realização do estágio optou-se pelo Haras do Henrique - Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, situado na cidade de Nepomuceno, estado de Minas Gerais. O centro é referência na região, possui infraestrutura adequada, profissionais qualificados e uma rotina de manejo reprodutivo na raça Mangalarga Marchador durante a estação de monta. Essas condições possibilitaram a interação com as atividades práticas relacionadas às principais biotecnologias reprodutivas em equinos e, conseqüentemente, o aperfeiçoamento profissional do graduando.

O estágio supervisionado realizado na área de reprodução equina, no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29 de janeiro a 11 de abril de 2022, totalizando 408 horas, ocorreu sob supervisão do Médico Veterinário Jorge Henrique Villela Botelho e orientação do Prof. Dr. Miller Pereira Palhão. Desta forma, o presente trabalho objetivou descrever as atividades desenvolvidas no estágio supervisionado realizado, relatando a estrutura do local, a rotina do manejo reprodutivo, as biotecnologias e os tratamentos hormonais, além de relatar a utilização de éguas acíclicas como receptoras de embrião.

## **2 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO**

O Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas foi criado no ano de 2009 pelo médico veterinário responsável Jorge Henrique Villela Botelho, CRMV-MG 10263, tendo sua sede no Haras do Henrique, criatório tradicional de cavalos da raça Mangalarga Marchador, com 27 anos de existência. Localizado na Rodovia Fernão Dias km 708,5 Sul, cidade de Nepomuceno, estado de Minas Gerais, atualmente possui 200 animais em seu plantel, contando com matrizes, garanhões, potros e receptoras, os quais são criados de forma semi-intensiva.

A equipe veterinária do centro é formada pelo responsável, Jorge Henrique, e pela médica veterinária Gabriela Oliveira Pessoa. O manejo é realizado todos os dias da semana,

incluindo finais de semana e feriados, e os serviços reprodutivos oferecidos incluem controle folicular, diagnóstico de gestação, inseminação artificial, transferência de embriões, coleta e congelamento de sêmen, além de ofertarem os cuidados neonatais. Outro serviço prestado pelo centro é a produção e comercialização de plasma e soro extraídos do sangue equino, os quais são indicados, respectivamente, no tratamento de neonatos debilitados em situações de falha na transferência de imunidade passiva ou para suporte de pacientes equinos críticos e, para tratamento de afecções oculares.

O local foi escolhido devido a sua importância no mercado equino da região, sendo referência na rotina de biotecnologias aplicadas a reprodução equina.

## **2.1 Estrutura**

A sede do Centro possui uma estrutura que contempla o escritório, laboratório para manipulação de embriões e de sêmen, farmácia, depósito, tronco de contenção, 50 lanchonetes, pista, redondel, 15 baias e 20 piquetes.

### **2.1.1 Escritório**

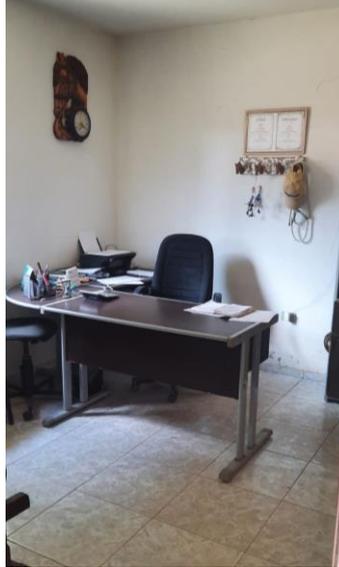
O escritório está situado no mesmo galpão utilizado para o manejo dos animais (FIGURA 1). Possui uma mesa, onde são colocadas as fichas e anotações dos animais, com cadeiras e bancos, além de um armário onde ficam os livros utilizados para consulta (FIGURA 2).

Figura 1 – Entrada do galpão do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

Figura 2 – Escritório do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Foto cedida por Jorge Henrique Villela Botelho (2022).

### 2.1.2 *Laboratório*

O laboratório utilizado para manipulação de embriões e sêmen possui três geladeiras para armazenamento de plasma, soro e medicamentos, botijões criogênicos para armazenamento de sêmen congelado, uma pia e bancada com mesa aquecedora, banho-maria, microscópio, lupa, centrífuga, estufa de esterilização, máquina de congelamento de sêmen, balança e homogeneizador (FIGURA 3). Nos armários se encontravam pipetas para inseminação, placas de petri, diluentes e paletas de sêmen, entre outros materiais utilizados na rotina.

Figura 3 – Laboratório do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Foto cedida por Jorge Henrique Villela Botelho (2022).

### 2.1.3 *Farmácia*

Na farmácia há um armário, onde ficavam alguns materiais relacionados ao manejo reprodutivo, como a vagina artificial, as mucosas plásticas, o copo coletor de sêmen e filtro. além desses materiais há nesse ambiente uma pia com ebulidor, balde, becker e funil, gavetas com seringas, agulhas e cateteres. Os medicamentos, como hormônios, antiinflamatórios, cirurgia, antibióticos, vitaminas, vermífugos, e materiais para curativos, tal qual algodão, pomadas, esparadrapos, ataduras e bandagens, eram organizados em grupos nas prateleiras. (FIGURA 4).

Figura 4 – Farmácia no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Foto cedida por Jorge Henrique Villela Botelho (2022).

### 2.1.4 *Depósito*

No depósito ficam armazenadas as caixas de soro, os suplementos vitamínicos e minerais e o estoque de medicamentos (FIGURA 5).

Figura 5 – Depósito do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Foto cedida por Jorge Henrique Villela Botelho (2022).

### 2.1.5 *Tronco de contenção*

O tronco de contenção de metal é coberto e próximo a torneira com mangueira e ralos para escoamento de água, onde são realizados os procedimentos de inseminação artificial, transferência de embriões, dentre outros que necessitam de contenção efetiva do animal (FIGURA 6).

Figura 6 – Tronco de contenção do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

### 2.1.6 *Lanchonetes*

As 50 lanchonetes são cobertas e utilizadas para a contenção das éguas durante o manejo reprodutivo, principalmente para a passagem de ultrassonografia endometrial (FIGURA 7). Cada

uma das contenções individuais da lanchonete possui cocho para alimentação e fornecimento de água, possibilitando também o oferecimento de sal mineral para as éguas (FIGURA 8).

Figura 7 – Lanchonetes do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

Figura 8 – Cochos de alimentação e água nas lanchonetes do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

### 2.1.7 Área externa

A área externa do Centro conta com 20 piquetes, sendo 10 de Tifton 85 (*Cynodon* spp.) e 10 de capim-mombaça (*Panicum maximum*), nos quais são alocadas as doadoras, receptoras e potros (FIGURA 9). Além disso, a estrutura também conta com uma pista de treinamento e um redondel (FIGURA 10).

Figura 9 – Piquetes do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Legenda: piquete de Tifton 85 (A) e de capim-mombaça (B).

Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

Figura 10 – Pista de treinamento do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

### 2.1.8 *Baias*

O Centro possui 15 baias, todas com cama de maravalha, um cocho para trato, um para água e um para sal mineral, onde eram alocados os garanhões e éguas em treinamento para competições (FIGURA 11).

Figura 11 –Principais baias do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

### **3 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS E ROTINA**

Durante o período do estágio, realizado do dia 29 de janeiro até 11 de abril de 2022, foi possível acompanhar toda a rotina do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas. Dentre as diversas atividades desempenhadas, pode-se citar a ultrassonografia endometrial para controle da dinâmica folicular, exame uterino e diagnóstico de gestação, inseminação artificial, transferência de embriões, administração de hormônios, coleta e manipulação de sêmen, cuidados neonatais, além do manejo sanitário das éguas e potros.

A rotina se iniciava às 07:00h, horário no qual o médico veterinário responsável passava todas as instruções sobre o que estava previamente programado para o dia. Inicialmente, os lotes de éguas que se encontravam em serviço reprodutivo eram levados até a lanchonete para se realizar o controle da atividade ovariana e observação do aspecto uterino através de ultrassonografia endometrial, o que direcionava os serviços a serem realizados posteriormente. Dentre esses serviços poderia direcioná-las a inseminação artificial com sêmen fresco, refrigerado ou congelado, o lavado uterino, a coleta de sêmen e aos diagnósticos de gestação. Todas as atividades desenvolvidas durante o estágio estão divididas na Tabela 1 e posteriormente descritas.

Tabela 1 – Número absoluto (n) e frequência relativa (%) das atividades desenvolvidas no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022

<b>ATIVIDADES DESENVOLVIDAS</b>	<b>N</b>	<b>f (%)</b>
<b>Avaliação ovariana e uterina</b>	631	51,72
<b>Protocolos hormonais</b>	370	30,33
<b>Inseminação artificial</b>	62	5,08
<b>Diagnóstico de gestação</b>	55	4,51
<b>Coleta e análise de sêmen</b>	42	3,44
<b>Transferência de embriões</b>	33	2,71
<b>Lavagem uterina</b>	27	2,21
<b>TOTAL</b>	1220	100,00

Fonte: Dados cedidos pelo Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

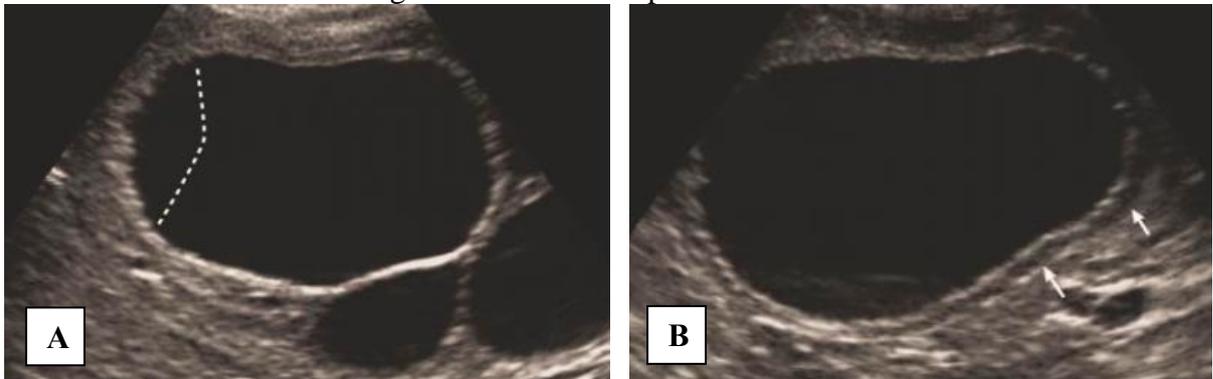
### **3.1 Avaliação ovariana e uterina**

A avaliação da dinâmica folicular e do aspecto uterino era realizada diariamente através da ultrassonografia endoretal em 80 éguas, divididas entre 38 doadoras e 42 receptoras. A dinâmica ovariana consistia em avaliar o desenvolvimento folicular ou luteal, através da mensuração dos folículos ou presença de corpo lúteo. Para avaliação do tamanho folicular realizava-se a média das duas medidas de diâmetros deste, a fim de prever o momento da ovulação e, conseqüentemente, direcionar e planejar as biotecnologias que serão aplicadas à égua. Quando os folículos se encontravam com diâmetro menor que 30mm as éguas eram avaliadas, em média, a cada dois dias, enquanto as éguas com folículos de diâmetro maiores que 30mm de diâmetro eram avaliadas diariamente, até que o folículo dominante atingisse 35mm de diâmetro ou mais e apresentasse as características pré-ovulatórias, o que permitia a indução farmacológica da ovulação. Além disso, era avaliado também o aspecto uterino, em relação ao edema ou presença de líquido no interior do útero.

As características do folículo pré-ovulatório avaliadas eram a flutuação elevada, serrilhamento da camada granulosa, presença da banca anecoica, perda da forma esférica, presença de área apical e manchas ecoicas flutuando pelo antro (FIGURA 12). Associada a elas, a presença de edema uterino, que é diretamente relacionada a ação estrogênica, também é um indicativo de proximidade de ovulação (GURGEL et al., 2008). A união de tais aspectos indicavam que o folículo já possuía receptores de LH suficientes para responder aos protocolos de indução de ovulação, que estimulam o crescimento deste e fazem com que a ovulação ocorra dentro de 36 a 48 horas após a administração de gonadotrofina coriônica humana ou hormônio

análogo ao GnRH (GASTAL; GASTAL, 2011). Após o período de 36 a 48 horas novo exame ultrassonográfico era realizado para verificar a formação do corpo lúteo (CL).

Figura 12 – Folículos pré-ovulatórios.

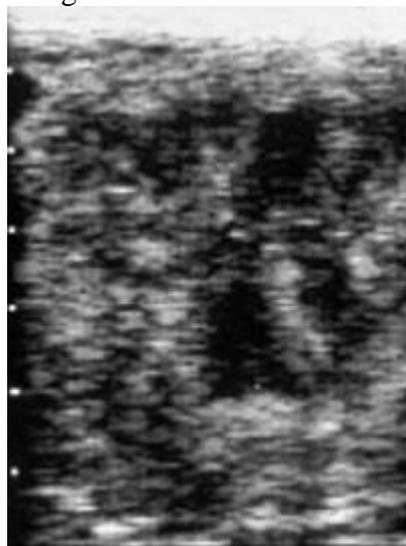


Legenda: Folículos pré-ovulatórios com formato alongado e presença de serrilhamento da camada granulosa (A) e de banda anecoica (B).

Fonte: GASTAL; GASTAL, 2011.

O edema uterino é visualizado durante o estro devido a ação estrogênica e é caracterizado pela presença de ecotextura heterogênea via imagem ultrassonográfica, apresentando forma de estrela, com alternância de partes hipoeóicas (secreção endometrial) e tabiques hipereóicos (pregas endometriais edematizadas), como representado na Figura 13. Ele torna-se mais evidente com o desenvolvimento da fase estral e diminui entre 48 a 24 horas antes da ovulação. Para sua avaliação, utilizou-se de método subjetivo com avaliação de 0 a 5, no qual 0 indicava um útero sem edema, 1 com edema leve, 2 com edema moderado, 3 com edema elevado (ideal para o momento da indução da ovulação), 4 com edema máximo e presença de líquido intrauterino e 5 representava um útero com edema anormal e ecotextura irregular.

Figura 13 – Edema uterino.



Fonte: BRINSKO et al., 2011.

Com o intuito de facilitar o manejo reprodutivo diário, como as coletas de sêmen, as inseminações artificiais, a realização de protocolos hormonais e a sincronização de doadoras e receptoras, o Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas contava com a utilização de fichas de controle, representadas pela Figura 14. As fichas eram compostas por uma linha superior que indicava os dias do mês e pela primeira coluna à esquerda que indicava os nomes das éguas avaliadas. Na união entre linha e coluna eram anotados os manejos realizados em cada égua, como a mensuração dos folículos, a presença de CL, edema ou líquido ou aplicação de hormônios.

Figura 14 – Ficha de controle reprodutivo do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.

	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
P4																				
Vitane 22/3			P4							P4							P4			
10 9/4			P4							P4							P4			
07 25/05			P4							P4							P4			
R. Landes																				
Lobana																				
27																	33	38.5		⊙
55																	PF			⊙
11																	CL			
31 P. Magis			⊙																	
Vuxa																				
377																				
AIA			⊙																	

Fonte: Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

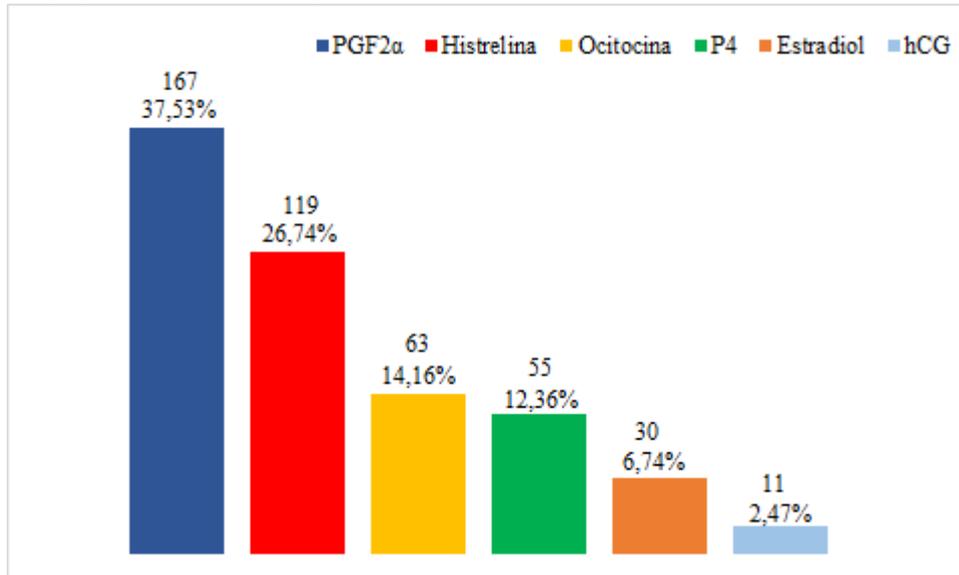
### 3.2 Protocolos hormonais

A hormonioterapia aplicada a reprodução equina é importante para intensificar ou programar os manejos reprodutivos, permitindo o controle do ciclo estral. Os hormônios podem ser utilizados para encurtar o ciclo estral, aumentar o número de ovulações, prolongar o período de ciclicidade e auxiliar no tratamento de infecções uterinas. Deste modo, a utilização de hormônios serve de suporte para a realização das biotecnologias reprodutivas, como inseminação artificial e transferência de embriões (FARIA; GRADELA, 2010).

Os hormônios mais utilizados durante este período de estágio foram dinoprost trometamina (Lutalyse®), histrelina (Strelin®), progesterona (P4-300®, Progestar®),

gonadotrofina coriônica humana (Fertcor 5000 UI®), ocitocina (Ocitopec®) e estradiol (17 Beta®). Dentre os hormônios utilizados, o dinoprost trometamina foi o que apresentou maior frequência de aplicação (37,53%), conforme o gráfico a seguir (GRÁFICO 1).

Gráfico 1 – Número absoluto e frequência relativa (%) dos hormônios aplicados nas éguas do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022.



Legenda: PGF2α – Prostaglandina F2α (dinoprost trometamina); P4 – Progesterona; hCG – Gonadotrofina coriônica humana.

Fonte: Dados cedidos pelo Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

### 3.2.1 *Dinoprost trometamina*

O dinoprost trometamina é um análogo natural da prostaglandina F2α e tem como principal função induzir a lise do CL e, desta forma, promover um retorno precoce da égua ao estro. A PGF2α atua como um agente luteolítico, através da lise das células luteais do CL, entretanto, este só é efetivamente responsivo aos efeitos da prostaglandina após 4 dias de sua formação (NOVAES FILHO, 2014). A aplicação deste hormônio era feita, em maior parte, após a lavagem do útero para coleta de embrião nas éguas doadoras, com o intuito de que retornassem ao estro mais rápido, em torno de 2 a 4 dias depois da sua administração. Do mesmo modo, era realizada a aplicação nas éguas receptoras que se encontravam a partir de D9 do ciclo (9 dias após a ovulação) e não foram inovuladas, ou aquelas com diagnóstico negativo após receber o embrião, também com o objetivo de reduzir o tempo de retorno ao estro.

Durante o período de estágio, foram feitas 167 aplicações de Lutalyse®, na dose de 7,5 mg por animal, equivalente a 1,5 mL, pela via intramuscular. Dessas aplicações, 27 foram administradas quando as éguas não apresentaram cio após a primeira dose do hormônio, sendo necessária nova aplicação. Nas demais, as éguas retornaram ao cio entre 2 a 8 dias após a

aplicação, de acordo com o tamanho dos folículos de cada égua, concentrando as ovulações entre 6 a 12 dias.

### 3.2.2 *Histrelina e hCG*

A histrelina possui ação semelhante a deslorelina, ou seja, atua como agonista do GnRH, o qual induz a hipófise a liberar LH e FSH, aumentando as suas concentrações. Deste modo, seu principal uso era na indução da ovulação em éguas que apresentavam folículos com características pré-ovulatórias e acima de 35 mm de diâmetro, quando já estão aptos a receber o estímulo do FSH e LH para ovular. Nessas condições, as éguas normalmente ovulam entre 36 a 48 horas após a administração do hormônio. Durante o período de estágio, foram feitas 119 induções de ovulação com histrelina, na dose de 250 µg (1 mL de Strelin®), intramuscular. Desse total, somente 6 éguas não ovularam em até 48 horas após a administração (TABELA 2).

A hCG tem ação similar ao LH e também é utilizada na indução de ovulação, porém, possui efeito potencializado, já que não necessita de outro hormônio estimular a liberação do LH, fazendo ele mesmo sua função. Seu uso otimiza os resultados da IA com sêmen refrigerado ou congelado, da TE e amplia a ocorrência de duplas ovulações em éguas com mais de um folículo pré-ovulatório, além de potencializar a luteinização (FARIA; GRADELA, 2010; FLEURY et al., 2007). Entre janeiro e março foram realizadas 11 induções de ovulação com a associação de 250 µg (1 mL) de Strelin, IM, e 1250 UI de hCG (1mL de Fertcor 5000 UI®), via intravenosa. A associação foi utilizada principalmente em éguas com baixo escore corporal, para reduzir as chances de ocorrer falhas de ovulação, devido a proximidade do período de transição primaveril, e todas as éguas ovularam em até 48 horas (TABELA 2).

Tabela 2 – Número absoluto (n) e eficiência (%) da indução de ovulação em éguas utilizando histrelina e a associação de histrelina e hCG, no período 29/01/2022 a 11/04/2022 no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas

<b>PROTOCOLO DE INDUÇÃO</b>	<b>n</b>	<b>OVULAÇÕES</b>	<b>e (%)</b>
<b>Histrelina</b>	119	113	94,96
<b>Histrelina + hCG</b>	11	11	100,00
<b>TOTAL</b>	130	124	95,38

Fonte: Dados cedidos pelo Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

### 3.2.3 *Ocitocina*

A ocitocina é responsável por estimular a contração da musculatura lisa do útero e, desta forma, auxilia na limpeza do útero, em situações de endometrite pós-coital ou inseminação

artificial. A introdução de espermatozoides na genitália da fêmea produz uma resposta inflamatória aguda, através do aporte de neutrófilos que realizam a fagocitose de bactérias presentes no sêmen e no pênis do garanhão, de espermatozoides mortos ou com anormalidades morfológicas e de outros agentes contaminantes, com o intuito de limpar o útero (HURTGEN, 2006).

Éguas reprodutivamente normais respondem a cobertura e a inseminação artificial com uma resposta inflamatória transitória. As éguas que não são reprodutivamente normais, principalmente quando se diz respeito a disfunção na contratilidade uterina, falha no relaxamento cervical e alterações na conformação uterina, tendem a acumular maior volume de fluido no lúmen uterino durante o estro. Além disso, essas éguas têm tendência de reter sêmen e bactérias dentro do útero, gerando uma resposta inflamatória persistente e a necessidade de auxílio na limpeza uterina (BRINSKO et al., 2011).

Desta forma, utilizava-se a ocitocina quando, pela ultrassonografia endorectal, era possível identificar líquido no útero, caracterizado por uma região anecoica no lúmen uterino. Durante o período de estágio foram realizadas 63 aplicações de ocitocina (Ocitopec®), na dose de 10 UI, pela via intramuscular. Destas, todas as primeiras doses foram aplicadas 24 horas após a inseminação artificial, seguidas por lavado uterino. Em alguns casos, este protocolo foi repetido por até 3 dias, até que a égua apresentasse o útero limpo.

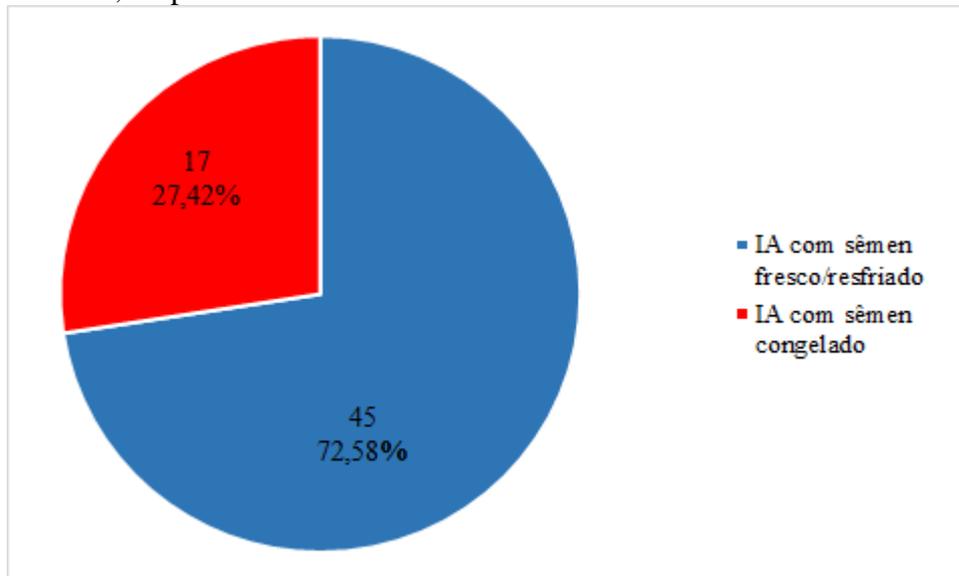
#### **3.2.4 Progesterona e estradiol**

A progesterona (P4) e o estradiol representam os principais hormônios esteroides de origem ovariana e foram utilizados em associação para preparar éguas acíclicas para serem receptoras de embrião. A aplicação deste protocolo será relatada posteriormente.

### **3.3 Inseminação artificial**

Durante o período de janeiro a março foram realizadas 62 inseminações artificiais (IA), divididas entre IA com sêmen fresco ou resfriado e IA com sêmen congelado (GRÁFICO 2).

Gráfico 2 – Número absoluto e frequência relativa (%) das IA com sêmen fresco/resfriado e das IA com sêmen congelado do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022.



Fonte: Dados cedidos pelo Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

### 3.3.1 Inseminação artificial com sêmen fresco e resfriado

A partir do controle folicular das doadoras e 24 horas após a indução da ovulação, realizava-se a inseminação artificial com sêmen fresco ou resfriado. Para a realização da inseminação a égua era contida no tronco, seu rabo era envolvido pelo protetor de cauda e, em seguida, amarrado na corda fixada na parte superior do tronco. Após a adequada contenção, era realizada a limpeza do reto e higienização da região perivulvar com detergente neutro e água, e secagem com papel toalha. Posteriormente, acoplava-se o frasco de inseminação na pipeta e o inseminador calçava uma luva de palpação virando-a do avesso, para estar o mais estéril possível, e introduzia o braço juntamente com a pipeta de inseminação na vagina da égua (FIGURA 15). Na vagina, o inseminador deve encontrar a abertura da cérvix, introduzindo o dedo indicador para auxiliar na passagem da pipeta. Uma vez na cérvix, retirava-se o braço da vagina e o lubrificava para introduzi-lo no reto com intuito de posicionar a pipeta adequadamente no útero. Desta forma, o sêmen poderia ser depositado no corpo do útero ou a pipeta poderia ser direcionada para o ápice do corno que apresentava o ovário com o folículo pré-ovulatório.

Figura 15 – Introdução da pipeta de inseminação na vagina da égua.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

A IA com sêmen fresco era utilizada quando havia mais de uma égua apta para cobertura de um mesmo garanhão da propriedade no dia e, conseqüentemente, necessitava de mais de uma dose inseminante deste. Esta também era realizada em éguas que possuíam defeitos anatômicos da cérvix, o que impossibilitava a chegada do sêmen no útero através da monta natural. Já a IA com sêmen resfriado era realizada quando o sêmen era recebido de outras propriedades.

As inseminações com sêmen fresco e resfriado eram realizadas utilizando, em média, de 500 a 1000x10<sup>6</sup> espermatozoides viáveis (PAPA et al., 2014).

### **3.3.2 Inseminação artificial com sêmen congelado**

A IA com sêmen congelado necessitava de maior cuidado em relação ao horário da inseminação, a qual deveria ser realizada o mais próximo possível da ovulação. Isso se deve aos espermatozoides criopreservados sofrerem estresse associado ao congelamento, descongelamento e inseminação, o que pode torná-los inviáveis ou com tempo de vida encurtado no trato reprodutivo da égua (BRINSKO et al., 2011).

Deste modo, ficou preconizada a sua realização a partir de 36 horas da indução da ovulação, sendo que após este período a avaliação ultrassonográfica endoretal era feita a cada 2 horas. O momento da inseminação baseava-se na queda do edema uterino, na alteração da

forma do folículo, que assume um formato mais alongado, e na presença de uma área anecogênica expandida dentro da parede do folículo devido ao aumento da vascularização (GURGEL et al., 2008).

Inicialmente, as paletas recebidas eram descongeladas em banho-maria a 46°C por 20 segundos, e posteriormente, a égua era contida e realizava-se a limpeza do reto e higienização da região perivulvar, conforme descrito para a IA com sêmen fresco ou resfriado. Em seguida, introduzia-se o braço com uma pipeta flexível na vagina da égua e após passar a pipeta pela cérvix retirava-se o braço para introduzi-lo no reto, de modo a posicionar a pipeta em direção ao ápice do corno correspondente a localização da ovulação. Quando devidamente posicionada, o sêmen era depositado palheta a palheta com o auxílio de pipeta flexível e mandril Minitube®.

A IA com sêmen congelado era utilizada nos casos em que o garanhão a ser utilizado estava em uma propriedade muito distante ou quando o garanhão já havia falecido.

O número de palhetas que compõem uma dose de inseminação variava de acordo com o garanhão e a qualidade do sêmen. Em média, uma dose inseminante consistia em 4 a 8 palhetas, com uma média de 400 milhões de espermatozoides viáveis. Cada palheta possuía em torno de 100 milhões de espermatozoides viáveis (PAPA et al., 2014; BRINSKO et al., 2011).

### **3.4 Diagnóstico de gestação**

O diagnóstico de gestação era realizado através do exame ultrassonográfico, o qual permitia a confirmação ou não da prenhez de maneira precoce, ou seja, antes que ela seja perceptível na palpação retal. Na propriedade, o diagnóstico de gestação era realizado no décimo terceiro dia após a confirmação da ovulação, e, desta forma, ao se realizar a varredura do útero pela ultrassonografia, era possível visualizar uma vesícula esférica, representada na Figura 16, e móvel no corno uterino, caso a fêmea estivesse gestante.

Figura 16 – Visualização de vesícula embrionária de 13 dias através da ultrassonografia.



Fonte: Foto cedida por Jorge Henrique Villela Botelho (2022).

### 3.5 Coleta e análise de sêmen

A coleta de sêmen na propriedade era realizada de acordo com a demanda da central, a qual ocorria, normalmente, 24 horas após a indução da ovulação na égua, de modo a realizar a inseminação artificial e permitir a presença de espermatozoides viáveis na tuba uterina no momento da fecundação do ovócito.

A coleta era realizada com auxílio de vagina artificial modelo Botucatu e uma égua em cio que deveria estar devidamente contida com cabresto e peia nos pés. A vagina artificial era constituída por um tubo rígido e uma mucosa sintética de látex que era coberta no lúmen da vagina por uma mucosa plástica, afim de evitar o contato do sêmen de garanhões coletados com o equipamento. A mucosa plástica era fixada na extremidade em que o pênis era inserido por uma fita de borracha, e na extremidade oposta era acoplado o copo coletor, que possuía em seu interior um filtro e um saco plástico pequeno para coletar o sêmen. Antes da coleta, a vagina era preenchida por água a 55°C e um pouco de ar, com intuito de atingir uma temperatura final entre 42 e 45°C e uma boa pressão em seu interior para garantir o estímulo sensorial do pênis do garanhão (FIGURA 17).

Figura 17 – Momento do preenchimento por água da vagina artificial devidamente preparada.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

Após a preparação da vagina artificial e a contenção da égua, o garanhão era conduzido até o local da coleta e o manipulador permanecia à direita dos animais. Ao montar na égua, o pênis do garanhão era desviado e introduzido na vagina artificial pelo manipulador, o qual deveria estar atento aos sinais demonstrados pelo garanhão no momento da ejaculação, como o movimento de cauda para cima e para baixo (“cauda em bandeira”), sapateio, pulsar da uretra, contração dos músculos perianais e relaxamento do animal (PAPA et al., 2014). Neste momento, o manipulador abria o registro da vagina artificial para liberar a água e, em seguida, retirar o pênis do animal (FIGURA 18).

Figura 18 – Coleta de sêmen em garanhão.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

Antes de se iniciar a análise do sêmen, a fração gel era separada da fração rica em espermatozoides, através da retirada do filtro e, logo após, iniciava-se pela avaliação macroscópica do ejaculado, observando o volume, cor, densidade e odor. Em seguida era realizada a diluição do sêmen com diluente BotuSêmen® ou BotuTurbo®, na proporção de 1:1 ou 2:1, ou seja, uma parte de diluente para uma parte de sêmen ou duas partes de diluente para uma parte de sêmen. A partir disso, colocava-se uma amostra do sêmen diluído entre lâmina e lamínula (aquecidas a 37°C na mesa aquecedora) para análise de motilidade e vigor no microscópio. A motilidade era mensurada entre 0 a 100% de acordo com a quantidade de espermatozóides móveis totais, e o vigor era avaliado em relação a velocidade que o espermatozóide se movimentava através de uma escala de 0 a 5 (PAPA et al., 2014). Além disso, utilizava-se o fotômetro- Minitube®, para se avaliar a concentração espermática.

O volume do ejaculado pode variar de 20 a 100 mL, a cor de branco acinzentado a branco leitoso e o odor deve ser “sui-generis”. A concentração espermática média de um garanhão adulto coletado através de vagina artificial é de 100 a 200 milhões de espermatozoides por mL. A motilidade e o vigor ideais são iguais ou acima de, respectivamente, 70% e 3 (PAPA et al., 2014).

### 3.6 Transferência de embriões

O programa de transferência de embriões da central se iniciava com o acompanhamento ovariano e uterino das éguas e com a escolha e sincronização das receptoras. Para a escolha das receptoras eram avaliados quesitos como bom escore de condição corporal, aspecto bem delimitado do corpo lúteo, ausência de edema uterino, bom tônus uterino, morfoecogenicidade uterina homogênea e que estejam entre o 4º e o 9º dia de ovulação (D4-D9), período no qual o CL já se encontra bem desenvolvido e secretando progesterona em quantidades suficientes para manter a gestação. Em média, eram separadas de duas a três éguas receptoras para cada doadora, as quais eram induzidas, em relação a ovulação, de 24 a 48 horas após a inseminação da doadora. A lavagem uterina para recuperação dos embriões das doadoras era realizada do 7º ao 9º dia de ovulação (D7-D9). Quando não haviam éguas receptoras cíclicas em momento compatível para sincronizar com a doadora, usava-se o protocolo de progesterona e estradiol em éguas acíclicas, o qual será descrito posteriormente.

Para a coleta embrionária realizava-se a contenção da égua e da cauda, a limpeza do reto e a higienização da região perivulvar, assim como foi descrito para a IA. Em seguida, era inserida uma sonda de silicone estéril, número 28, pela cérvix da égua até chegar ao corpo do útero, e neste momento o kuff deveria ser inflado para a fixação da sonda. Através desta, era infundido em torno de três litros de solução de ringer com lactato a 36°C, avaliando-se o filtro a procura do embrião após cada litro infundido. Após a identificação do embrião no filtro, este era levado para o laboratório, onde se realizava 10 lavagens consecutivas do embrião em gotas do meio de manutenção EquiHold® a 36°C para retirada de impurezas, conforme demonstrado na Figura 19, além da visualização do embrião através da lupa e manutenção do embrião na placa de petri (FIGURA 20). Em seguida o embrião era colocado na pipeta para inovulação e a receptora era preparada (contenção, limpeza e higienização) para ser posteriormente inovulada. Após o procedimento, era administrada uma dose de 7,5 mg de Lutalyse® na doadora, com intuito de promover o retorno precoce ao estro.

Figura 19 –Lavagem dos embriões D9 em meio de manutenção EquiHold®.



Fonte: Foto cedida por Jorge Henrique Villela Botelho (2022).

Figura 20 – Visualização de embriões D9 através da lupa.



Fonte: Foto cedida por Jorge Henrique Villela Botelho (2022).

As relações da quantidade de lavagens de útero, número de embriões recuperados, inovulados e da quantidade de receptoras que confirmaram prenhez durante os meses de janeiro, março e abril estão representadas na tabela a seguir (TABELA 3).

Tabela 3 – Número absoluto de lavados uterinos, número de embriões recuperados e inovulados (n+), taxa de recuperação embrionária (%), gestações confirmadas (DG+) e taxa de concepção (%) durante os meses de janeiro, fevereiro e março de 2022, no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas

	<b>Lavados uterinos</b>	<b>n+</b>	<b>Taxa de recuperação embrionária %</b>	<b>DG+</b>	<b>Taxa de concepção %</b>
<b>Janeiro</b>	16	13	81,2	11	84,6
<b>Fevereiro</b>	8	5	62,5	4	80,0
<b>Março</b>	9	9	100,0	6	66,7
<b>TOTAL</b>	33	27	81,8	21	77,8

Fonte: Dados cedidos pelo Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

### 3.7 Lavagem uterina terapêutica

A lavagem uterina terapêutica era utilizada quando se identificava a presença de líquido no lúmen uterino através da ultrassonografia endometrial, caracterizada por uma região anecoica neste lúmen. Previamente ao lavado, a égua e sua cauda eram contidas e era realizada a higienização da região perivulvar. Em seguida, inseria-se a sonda de silicone estéril pela cérvix da égua e ao atingir o corpo do útero o kuff era inflado, o que permitia a fixação da sonda no local. Desta forma, passava-se solução de ringer com lactato, associada a massagem do útero pela palpação endometrial, até que o fluido do frasco recuperado por fluxo gravitacional seja translúcido (FIGURA 21). Normalmente, esta terapêutica era associada a aplicação de ocitocina para auxiliar na contração e limpeza uterina, e o útero era novamente avaliado após 24 horas para garantir que o acúmulo de líquido foi resolvido, caso contrário o procedimento era repetido.

Figura 21 – Fluidos recuperados após a lavagem uterina de égua com endometrite, utilizando solução de ringer com lactato, no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas.



Legenda: À esquerda – fluido recuperado do primeiro frasco administrado, turvo, o que indica a presença de alta celularidade e contaminação; à direita – fluido recuperado do último frasco administrado, translúcido.

Fonte: Arquivo pessoal da autora (2022).

Com base nas informações de Brinsko et al. (2011) e Hurtgen (2006), a lavagem uterina é uma importante terapêutica para o tratamento de infecções uterinas, pois o útero de éguas geralmente é ineficaz na eliminação de microrganismos. Além de remover bactérias, células de defesa mortas e outras substâncias, ela estimula a contratilidade uterina e o recrutamento de células de defesa para combater agentes infecciosos e favorecer a depuração física do útero.

## **4 UTILIZAÇÃO DE ÉGUAS ACÍCLICAS COMO RECEPTORAS DE EMBRIÃO - RELATO DE CASO**

### **4.1 Introdução**

As éguas são animais poliéstricos sazonais de dias longos, ou seja, demonstram maior atividade reprodutiva nas estações de maior luminosidade, representadas pela primavera e verão. Elas dependem do estímulo luminoso para interromper a produção de melatonina pela glândula pineal e, deste modo, ativar o sistema neuroendócrino através do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HHG) e aumentar a frequência dos pulsos de GnRH e LH. Isso acontece porque a melatonina, produzida pela pineal durante os períodos escuros, tem efeito inibitório

neste eixo e a alta produção deste faz com que as éguas entrem em anestro (BORTOT; ZAPPA, 2013; BRINSKO et al., 2011).

O ciclo estral é definido como o intervalo entre o dia de uma ovulação (D0) e a ovulação subsequente, tendo duração média de 21 dias no caso das éguas e dividido em estro e diestro. O estro, período que a fêmea apresenta comportamento de cio, dura entre 5 a 7 dias e é caracterizado pelo predomínio da ação estrogênica, aumento da concentração de LH, presença de folículos com mais de 30 mm de diâmetro, relaxamento da cérvix e a ocorrência da ovulação. Enquanto o diestro tem duração média de 15 dias e compreende o período em que a fêmea não se encontra receptiva ao macho, devido ao predomínio da ação progesterônica pela presença de CL e do aumento da concentração de FSH e do tônus uterino (BORTOT; ZAPPA, 2013).

O anestro é representado pelo período em que as éguas não estão ciclando, o que é resultado da redução da concentração de GnRH e LH, apresentando ovários pequenos e inativos e poucos folículos menores que 10 mm, ou seja, não há produção suficiente de estrógeno para que a égua entre em estro (BRINSKO et al., 2011).

Durante os períodos de transição de verão para outono e de inverno para primavera, ou seja, períodos de transição entre anestro e a estação de monta, a atividade do eixo HHG não se encontra efetiva. As éguas apresentam muitos folículos pequenos que são incapazes de atingir a dominância e posteriormente ovularem, uma vez que estes folículos não liberam quantidade suficiente de estrógeno para estimular o pico de LH necessário para o folículo atingir a dominância e ovular (BORTOT; ZAPPA, 2013; BRINSKO et al., 2011).

Alterações climáticas durante a estação de monta, relacionadas a temperatura, umidade e luminosidade, podem provocar cios irregulares, baixa taxa de recuperação embrionária e, em casos extremos, anestro. Desta forma, inúmeros tratamentos hormonais são utilizados para permitir a sincronização de doadoras e receptoras de embriões, de modo a obter ganhos na eficiência reprodutiva e maximizar o uso de éguas receptoras, principalmente no que se refere as acíclicas (OLIVEIRA NETO et al., 2018; BORTOT; ZAPPA, 2013; NOGUEIRA et al., 2011).

Segundo Botelho et al. (2015), entre os protocolos empregados na transferência de embriões em equinos, a utilização de progesterona de longa ação associada ao estradiol é uma alternativa viável a ser aplicada em éguas anovulatórias com o objetivo de serem utilizadas como receptoras de embriões quando há escassez de éguas receptoras. Este protocolo é utilizado com o intuito de simular a dinâmica destes esteroides ovarianos durante o ciclo estral, sendo que o estrógeno é aplicado durante três dias consecutivos, de modo a assemelhar-se a sua

produção em quantidades crescentes, mimetizando o desenvolvimento folicular ao longo do estro. A progesterona é aplicada de modo a assemelhar ao D0, no qual há o aumento de sua concentração devido a luteogênese, e é mantida até os 120 dias de gestação, momento no qual a placenta assume sua produção para que ocorra a manutenção da gestação (OLIVEIRA NETO et al., 2018; VIEIRA; LAGE; VIEIRA, 2017).

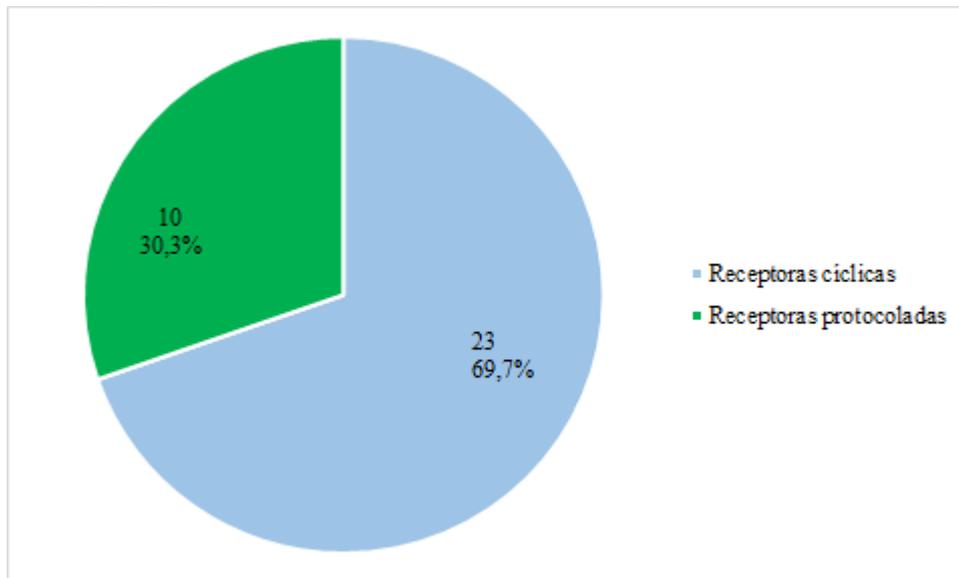
#### **4.2 Descrição**

A partir do mês de janeiro de 2022, o clima foi marcado por altos índices pluviométricos, o céu ficava a maior parte do dia encoberto por nuvens e, com isso, a luminosidade e a temperatura ficaram reduzidas. A proporção de éguas cíclicas diminuiu, assim como o volume de embriões lavados e, conseqüentemente, a necessidade da utilização de éguas acíclicas como receptoras de embriões aumentou.

Sempre que não estavam disponíveis éguas cíclicas para sincronização com a doadora, selecionava-se éguas acíclicas para serem protocoladas com a associação de progesterona de longa ação e 17-beta-estradiol e utilizadas como receptoras. No D0 da doadora iniciava-se o protocolo na receptora, aplicando 17 Beta® por três dias consecutivos, no volume 1 mL (10 mg) – 2 mL (20 mg) – 1 mL (10 mg), via intramuscular. No dia seguinte, verificava-se a presença de edema uterino e colocava o implante de progesterona (Progestar®). Entre quatro a seis dias depois retirava-se o implante, inovulava o embrião na receptora escolhida e substituía o implante por um novo. No dia do diagnóstico de gestação, quando o embrião estava com 13 dias, se confirmada a sua presença, era realizada a administração da P4 injetável (P4-300®), no volume de 5 mL (1500 mg), via intramuscular, a qual era repetida a cada sete dias, uma vez que a égua não estava ciclando, ou seja, não havia presença de CL no ovário. As aplicações eram realizadas nessa frequência até 120 dias de gestação, quando a placenta assumia a produção de progesterona necessária para manter a gestação. Na segunda aplicação de P4 injetável o implante era retirado.

Seguindo o protocolo descrito acima, durante o estágio foram preparadas 10 éguas acíclicas como receptoras, enquanto as demais receptoras utilizadas estavam ciclando (GRÁFICO 3). Com relação a eficácia do protocolo, após as aplicações do 17 Beta® todas as éguas protocoladas apresentaram características uterinas de estro e, apresentaram também, no dia da inovulação do embrião, características favoráveis para recebê-lo, como tônus uterino e morfoecogenicidade homogênea na imagem ultrassonográfica do útero. Além disso, 80% das receptoras protocoladas tiveram prenhez confirmada.

Gráfico 3 – Número absoluto e frequência relativa (%) das receptoras cíclicas e receptoras protocoladas utilizadas no programa de transferência de embriões do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022.



Fonte: Dados cedidos pelo Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

### 4.3 Discussão

O protocolo para utilização de receptoras acíclicas através da associação de P4 de longa ação (P4-300®, Progestar®) e 17-beta-estradiol (17 Beta®) tem como objetivo simular a dinâmica desses hormônios durante o ciclo estral da égua (OLIVEIRA NETO et al., 2018).

As três administrações sucessivas de 17 Beta® na receptora, iniciadas no D0 da doadora, são responsáveis por produzir as ações deste hormônio como se a égua se encontrasse em período de estro. O estradiol estimula o aumento do edema uterino, da codificação de estrógeno através de genes presentes no endométrio e dos receptores de progesterona no trato reprodutivo, além de estimular a produção de LH (OLIVEIRA NETO et al., 2018; GINTHER et al., 2004). Segundo Oliveira Neto (2018), não há diferença na transcrição de receptores endometriais de progesterona e estrógeno entre as éguas cíclicas e as éguas tratadas com 17-beta-estradiol exógeno.

A primeira colocação do implante de P4 (Progestar®) tem como objetivo simular o dia da ovulação, momento no qual ocorre o aumento nas concentrações de progesterona devido a sua produção pelo CL, além de auxiliar no preparo do útero para receber o embrião através da melhoria do tônus uterino pela inibição do edema uterino e estro (OLIVEIRA NETO et al., 2018; BOTELHO et al., 2015). As demais aplicações semanais de P4 até os 120 dias de gestação tem como objetivo a manutenção da gestação, uma vez que, como a égua não estava ciclando, não houve a formação de CL. Portanto, esta fêmea é totalmente dependente da aplicação de

progesterona exógena até cerca dos 120 dias de gestação, momento no qual a placenta assume esta função (OLIVEIRA NETO et al., 2018; BOTELHO et al., 2015). Segundo Botelho et al. (2015), o protocolo descrito é eficiente para estabelecer e manter a prenhez em éguas receptoras cíclicas.

Entre as 10 éguas acíclicas que foram protocoladas para serem utilizadas como receptoras de embriões, todas obtiveram resultados positivos na palpação e ultrassonografia endorectal após as aplicações de 17 Beta®, apresentando, no quarto dia de protocolo, edema uterino e relaxamento da cérvix, semelhante ao que é encontrado em éguas que se encontram no período de estro e próximas da ovulação. A partir dessas condições, o implante Progestar® foi colocado nas 10 éguas nesse momento do protocolo, sendo que após 4 a 6 dias da colocação do implante todas apresentaram, através da palpação e ultrassonografia endorectal, aumento da tonicidade uterina e homogeneidade da morfoecogenicidade do útero, características similares às que são encontradas em éguas na presença de CL.

Na realização do diagnóstico de gestação, cinco dias após a inovulação do embrião, 80% das receptoras protocoladas tiveram prenhez confirmada, o que representou uma boa eficácia, principalmente quando comparada ao resultado das receptoras cíclicas utilizadas durante o período de estágio (TABELA 4). Esse resultado se deve a ocorrência de uma estação reprodutiva atípica, marcada por alterações climáticas e, conseqüentemente, pela presença de ciclos reprodutivos irregulares ou até de anestro. Logo, as éguas tratadas com hormônios exógenos levaram vantagem em relação as que sofriam diretamente com as influências do clima.

Tabela 4 – Número absoluto de receptoras cíclicas e protocoladas utilizadas (n), número absoluto de gestações confirmadas (DG+) e eficiência (%) destas no programa de transferência de embriões do Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, no período de 29/01/2022 a 11/04/2022

	<b>N</b>	<b>DG+</b>	<b>e%</b>
<b>Receptoras cíclicas</b>	23	13	56,5
<b>Receptoras protocoladas</b>	10	8	80,0
<b>TOTAL</b>	33	21	63,6

Fonte: Dados cedidos pelo Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas (2022).

#### **4.4 Conclusão**

A utilização de receptoras acíclicas em programas de transferência de embriões através do protocolo de associação da progesterona de longa ação e do 17-beta-estradiol representa uma

alternativa eficaz para aumentar a eficiência reprodutiva da central, bem como potencializar o uso de receptoras, principalmente em épocas que estas estão escassas.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estágio supervisionado, correspondente à disciplina PRG – 107, realizado no Centro de Reprodução e Medicina Equina do Sul de Minas, possibilitou agregar mais ao conhecimento teórico adquirido durante o curso e, principalmente, colocá-los em prática, pois diversas foram as oportunidades de se realizar os procedimentos da área de reprodução equina. Além disso, foi proporcionado grande aprendizado em relação ao contexto de vida pessoal, o que ampliou a confiança na realização de tarefas e na tomada de decisões fora da faculdade. O local possui profissionais excelentes, ótima estrutura e casuística, o que foi indispensável para a formação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORTOT, D. C.; ZAPPA, V. Aspectos da reprodução equina: inseminação artificial e transferência de embrião: revisão de literatura. **Revista eletrônica de medicina veterinária**, n. 1, p. 1-23, 2013.
- BOTELHO, J. H. V. et al. Hormone supplementation protocol using estradiol benzoate and long-acting progesterone is efficient in maintaining pregnancy of anovulatory recipient mares during autumn transitional phase. **Animal Reproduction Science**, v. 153, p. 39-43, 2015.
- BRINSKO, S. P. et al. **Manual of equine reproduction**. 3 rd. Maryland Heights: Mosby Elsevier, 2011. 332 p.
- FARIA, D. R.; GRADELA, A. Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 34, n. 2, p. 114-122, 2010.
- FLEURY, P. D. C. et al. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões equinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 31, n. 1, p. 27-31, 2007.
- GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O. Equine preovulatory follicle: blood flow changes, prediction of ovulation and fertility. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 35, n. 2, p. 239-252, 2011.
- GINTHER, O. J. et al. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reprod.**, v. 1, n. 1, p. 31-44, 2004.
- GURGEL, J. R. C. et al. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 32, n. 2, p. 122-132, 2008.
- HURTGEN, J. P. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. **Theriogenology**, v. 66, p. 560-566, 2006.
- NOGUEIRA, I. V. et al. Influência do clima na recuperação embrionária em éguas da raça Mangalarga Marchador no município de Vassouras- RJ. **Revista de Saúde**, Vassouras, v. 2, n. 1, p. 27-34, 2011.
- NOVAES FILHO, L. F. **Resposta luteal à PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (dinoprost trometamina) durante as fases de luteogênese e manutenção do corpo lúteo e éguas**. 2014, 79 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.
- OLIVEIRA NETO, I. V. et al. Synchronization of cyclic and acyclic embryo recipient mares with donor mares. **Animal Reproduction Science**, v. 190, p. 1-9, 2018.
- PAPA, F. O. et al. **Manual de andrologia e manipulação de sêmen equino**. Botucatu: fmvz-unesp, 2014. 60 p.

VIEIRA, C. A. M.; LAGE, D. M. F.; VIEIRA, T. M. Eficiência do protocolo de transferência de embriões para éguas receptoras anovulatórias. **Rev. Acad. Ciênc. Anim.**, v. 15, p. 267-268, 2017.