

REPRODUÇÃO DE FOLÍDEOS

# Associação de hCG e análogo do GnRH para antecipar a ovulação em éguas não altera a função luteal nem os resultados de prenhez em receptoras de embrião

Mariana Polesso Mazzuchini\*, Lorenzo Segabinazzi, Eunice Oba, Marco Alvarenga

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

\*Correspondência: mp.mazzuchini@unesp.br

A antecipação da ovulação de éguas utilizando análogos do GnRH ou hCG é uma pratica comum nos programas reprodutivos. Sugere-se que os hormônios apresentem uma ação luteotrópica, sendo o hCG capaz de acelerar o desenvolvimento do corpo-lúteo (CL), além de aumentar o fluxo sanguíneo e concentração de progesterona, e o GnRH capaz de aumentar a expressão de receptores de LH no folículo, que estão correlacionados à liberação de progesterona. Com isso, efeitos sinérgicos entre o hCG e análogos do GnRH têm sido sugeridos a fim de otimizar a antecipação da ovulação em éguas. Este estudo tem como objetivo avaliar a associação de hCG e acetato de deslorelina para antecipação da ovulação quanto à concentração de progesterona, diâmetro do corpo-lúteo, fluxo sanguíneo e índices gestacionais em éguas receptoras após a transferência de embrião (TE). Foram utilizadas 17 éguas, em sistema crossover, as quais tiveram acompanhamento do crescimento folicular e ovulação induzida com o folículo ≥ 35 mm e edema ≥ 2. Os tratamentos realizados foram: controle (1ml de solução de NaCl 0,9%); GnRH (1 mg de acetato de deslorelina); hCG (1500 UI de hCG); hCG + GnRH (1mg de acetado de deslorelina + 1500 UI de hCG). Trinta horas após a utilização de algum dos tratamentos, as équas começavam a ser monitoradas a cada 6 horas até a observação de características pré-ovulatórias; a partir deste momento, iniciava-se o monitoramento a cada 2 horas até a ovulação. O diâmetro e fluxo sanguíneo folicular e a concentração de progesterona sérica foram mensurados desde a indução da ovulação até 16 dias após a ovulação. Além disso, dados de 194 TE foram analisados de forma retrospectiva, sendo observados os índices gestacionais cinco dias após TE e perda gestacional até os 60 dias em receptoras com ovulação natural (controle, n = 37), ovulação induzida com hCG (hCG, n = 25) ou acetato de deslorelina (GnRH, n = 46) ou associação entre estes hormônios (hCG + GnRH, n = 86), como descrito anteriormente. As análises estatísticas foram realizadas com o Software GraphPad Prism 8.0.1, sendo a distribuição dos dados avaliados pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. A concentração de P4 foi comparada utilizando o teste de Turkey e ANOVA, e o intervalo entre a administração do agente indutor e a ovulação, diâmetro folicular e fluxo sanguíneo do CL foram avaliados com o teste Kruskal-Wallis, seguido por teste de Dunn. O teste de qui-quadrado foi utilizado para observar os índices de manutenção e perda gestacionais, sendo considerada a significância de  $p \le 0,05$ . Assim, a associação do hCG e do acetato de deslorelina não foram capazes de alterar o desenvolvimento luteal, concentração de progesterona ou resultados de prenhez em éguas receptoras após a TE, demonstrando-se eficiente na antecipação da ovulação nestas fêmeas.

Palavras-chave: Progesterona. Corpolúteo. Equino.

### Avaliação do acetato de histrelina como agente indutor da ovulação em éguas

Paloma Beatriz Joanol Dallmann<sup>\*</sup>, Isadora Paz Oliveira dos Santos, Eliza Moreira Piemolini, Marcos Eduardo Neto, Rafaela Pinto de Souza, Mariana Andrade Mousquer, Gabriela Castro da Silva, Carlos Eduardo Wayne Nogueira, Bruna da Rosa Curcio

Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), Pelotas, RS, Brasil

\*Correspondência: dallmannpaloma@gmail.com

O uso de indutores da ovulação é uma importante chave para melhorar o desempenho reprodutivo de equinos, uma vez que permite estimar o momento da ovulação em um intervalo de tempo específico. Existem vários análogos do GnRH (hormônio liberador de gonadotropina) já testados e disponíveis para indução da ovulação, no entanto, é necessário escolher o agente preferível para utilização de acordo com sua eficácia. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a utilização do acetato de histrelina como agente da ovulação em éguas Crioulas e mestiças Crioulas no Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (HCV-UFPel). Foram avaliados 47 ciclos estrais de um total de 23 éguas (10 mestiças Crioulas e 13 da raça Crioula), com idade entre 4 e 20 anos, oriundas do HCV-UFPel. Durante os ciclos estrais, os exames de monitoramento da atividade ovariana eram realizados três vezes por semana, através de palpação transretal e avaliação por ultrassonografia, com uma probe linear transretal na frequência de 5 MHz. Quando identificado um folículo dominante e edema uterino, os exames passaram a ser realizados a cada 12h até o momento da ovulação. Em 22 ciclos estrais, éguas que apresentavam um folículo dominante com diâmetro ≥ 35mm, edema uterino 3 e que iniciaram a redução do edema foram submetidas à administração de acetato de histrelina (Strelin®, Botupharma, Brasil) na dose de 250µg (1ml) por via intramuscular, conforme indicado pelo fabricante. Foram considerados controle os 25 ciclos estrais restantes das éguas que não receberam o indutor de ovulação. Essas éguas seguiram o acompanhamento ultrassonográfico entre 12 e 24h após a identificação das características foliculares e edema uterino similar ao descrito nas éguas em que foi induzida a ovulação. Após 12 ou 24h da administração do indutor, as éguas eram submetidas à inseminação artificial (IA), com a utilização de sêmen fresco, garantindo uma dose de 500 x 106 espermatozóides móveis por inseminação. Os dados quantitativos foram analisados pelo two sample t-test e a comparação dos índices pelo teste de qui-quadrado, ao nível de significância de 5%. Observou-se redução no intervalo de tempo entre a indução da ovulação e o momento da ovulação nos ciclos em que foi utilizado o indutor (21,8 ± 10; min 12h e max 36h) em comparação aos ciclos do grupo controle (33,1  $\pm$  12; min 12h e max 48h). O número de inseminações por ciclo foi menor quando o indutor foi utilizado, sendo que em 95,5% (n = 21/22) dos ciclos foi realizada somente uma IA e em 4,5% foram realizadas duas IA. Nos ciclos sem a utilização do indutor foi realizada IA uma única vez em 68% (n = 17/25), duas vezes em 28% (n = 7/25) e três vezes em 4% (n = 1/25). Diante dos resultados, conclui-se que o uso do indutor se mostrou eficiente, uma vez que reduziu o período até a ovulação e possibilitou um menor número de inseminações por ciclo.

Palavras-chave: Inseminação. Ciclo. Folículo.

**Agradecimentos:** Botupharma Biotecnologia Animal, pela doação dos fármacos indutores de

ovulação utilizados neste trabalho.

Comissão de Ética: CEEA - UFPel, 5810.

## Avaliação morfológica de embriões equinos acondicionados em temperatura ambiente ou refrigerados por 24 horas

Giovana Siqueira Camargo<sup>1\*</sup>, Fernanda Saules Ignácio<sup>2</sup>, Cezinande de Meira<sup>1</sup>

\*Correspondência: giovana.camargo@unesp.br

Nos programas de transferência de embriões o transporte de embriões equinos é rotineiramente utilizado por viabilizar o uso de bancos de receptoras, porém, ainda necessita-se de estudos que avaliem a melhor forma de realização do transporte considerando as condições disponíveis a campo, como meio disponível e temperatura de transporte. O objetivo deste trabalho foi simular o transporte de embriões acondicionados em temperatura ambiente ou refrigerados a 5 °C por 24h. Foram coletados 10 embriões por lavagem uterina com solução de ringer com lactato de D7 (D0 = dia da ovulação) a D9. Após recuperação, identificação e lavagem em meio TQC Holding (Vitrocell Embriolife®), os embriões foram classificados quanto ao grau de desenvolvimento, qualidade (G1 a G5; Universidade do Colorado, 2015) e tamanho. Os embriões foram depositados em criotubos de 2ml de meio e armazenados em caixas isotérmicas BotuFlex®, separados em Grupo I (n = 5), acondicionados à temperatura ambiente, e Grupo II (n = 10), refrigerados a 5 °C. Para a refrigeração, seguiu-se as recomendações descritas para caixa comercial. Após o período de 24h, as avaliações embrionárias foram repetidas. Todos os embriões recuperados estavam na fase de blastocistos expandidos. Para o Grupo I, os embriões apresentaram média de 800µm (600 a 1100 µm) e apenas um embrião apresentava característica de G3 (extrusão de pequena quantidade de blastômeros, leves irregularidades no formato e moderada contração do trofoblasto, destacando-se consideravelmente da cápsula embrionária), enquanto os demais apresentavam característica de G1 (nenhuma anormalidade observada: esféricos, células uniformes e tamanho compatível com o estágio de desenvolvimento e idade pós-ovulação). Após 24h de armazenamento, a avaliação mostrou que 80% (4/5) dos embriões cresceram (média de 300 µm de crescimento), sendo a média de crescimento para o grupo de 240 μm (0 a 400 μm). Todos os embriões desse grupo apresentavam características de G1 após 24h de armazenamento, o que demonstra que foi possível a recuperação do único embrião de qualidade G3 pré-armazenamento. Para o Grupo II, os embriões apresentaram média de 1220 µm (800 a 2300 μm) e todos com qualidade G1 pré-refrigeração. Após 24h de refrigeração a 5 °C, 40% (2/5) dos embriões cresceram (média de 150 µm) e 60% reduziram de tamanho (média de -150 µm de crescimento), sendo a média de crescimento para o grupo de -30 µm. Após a refrigeração, 60% (3/5) dos embriões mantiveram as características de qualidade G1, porém 40% (2/5) apresentaram perda de qualidade, sendo eles classificados como G2 (poucas imperfeições: irregularidades leves, alterações de coloração de blastômeros) e G3 (moderadas imperfeições: moderada porcentagem de blastômeros degenerados); ambos reduziram de tamanho. Conclui-se que embriões armazenados em temperatura ambiente mostraram viabilidade dos embriões, enquanto embriões refrigerados a 5 °C apresentaram frequência de 60% de redução do tamanho dos embriões e 40% de queda na qualidade embrionária.

Palavras-chave: Embrião. Transporte. Refrigeração.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Faculdade Eduvale de Avaré, Avaré, SP, Brasil

### Colesterol carreado pela ciclodextrina melhora a refrigeração e fertilidade do sêmen asinino

Verônica Flores da Cunha Scheeren<sup>1\*</sup>, Lorenzo Segabinazzi<sup>1</sup>, Mariana Luiza Mezzena Gobato<sup>1</sup>, Camila Freitas Dell Aqua<sup>1</sup>, José Antônio Dellaqua Junior<sup>1</sup>, Frederico Ozanan Papa<sup>1</sup>, Marco Alvarenga<sup>1</sup>, Igor Frederico Canisso<sup>2</sup>

\*Correspondência: veronica\_fcs@hotmail.com

A indústria de asininos e mulas está em constante crescimento, onde a comercialização de sêmen resfriado é cada vez mais expressiva. Os diluentes à base de leite desnatado, acrescidos ou não de colesterol, são os tipos mais usados para refrigerar e transportar sêmen equino, porém o sêmen asinino não tolera a refrigeração com extensores deste tipo. O objetivo deste estudo foi comparar os parâmetros e a fertilidade do sêmen asinino refrigerado diluído em extensor comercial à base de leite desnatado e o mesmo acrescido de colesterol. No Exp 1, 35 ejaculados de sete jumentos foram divididos em G-BS (BotuSemen, Botupharma) e G-BSS (BotuSpecial, Botupharma) e então ressuspendidos a 50 x 106 de espermatozoides/ml, armazenados em recipiente de refrigeração de sêmen passivo (BotuFlex, Botupharma) a 5 °C por 48h. Motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e porcentagem de espermatozoides com motilidade rápida (RAP) foram avaliados com CASA (IVOS 12, Hamilton Thorne, Beverly, MA). A integridade da membrana plasmática (IMP) e o potencial de membrana mitocondrial (PMM) foram avaliados com a combinação de Yo-Pro® e MitoStatusRed com citometria de fluxo (LSR-Fortessa, Becton Dickinson, Mountain View,CA). O sêmen foi avaliado antes (0) e 24 e 48 h após a refrigeração. No Exp 2, dois ciclos estrais de 15 éguas foram usados para a avaliação da fertilidade. As éguas foram examinadas em dias alternados por ultrassonografia transretal 5 MHz (SonoScape A6®, China). Uma vez que um folículo pré-ovulatório foi detectado (≥ 35mm e edema endometrial > 1, 0 ausente - 3 max), as équas tiveram a ovulação induzida com 250 µg de acetato de histrelina. No momento da indução, o sêmen do jumento foi coletado (n = 28), diluído e dividido em G-BS e G-BSS, e refrigerado por 24 h como no Exp 1. As éguas foram aleatoriamente designadas para reprodução e inseminadas 24 horas após a indução da ovulação, sendo examinadas diariamente para detectar o acúmulo de fluido intrauterino e a ovulação. As éguas receberam 20 U.I. de ocitocina para prevenir o acúmulo de fluido intrauterino. O diagnóstico de prenhez foi realizado 15 dias após a ovulação e as éguas receberam dinoprost (5mg, i.m.) para retornar ao estro. Os dados foram analisados com GraphPad Pris 8.0.1. A significância foi fixada em  $p \le 0.05$ . Não houve diferença nos parâmetros para o sêmen diluído em ambos os diluentes imediatamente antes da refrigeração (p > 0,05). Houve uma redução na MT, MP, RAP, IMP e PMM entre os grupos ao longo do tempo de refrigeração (p < 0,05); entretanto, o sêmen diluído no G-BSS apresentou valores superiores para MT, MP, RAP, IMP e PMM em comparação ao sêmen estendido em G-BS às 24 e 48h pós-refrigeração (p < 0,05). Éguas inseminadas com o G-BS tiveram uma taxa de concepção significativamente menor (13%, 2/15 ciclos) do que éguas inseminadas com G-BSS (47%, 7/15 ciclos; p < 0,05). Conclui-se que a utilização de diluentes acrescidos de colesterol melhoram os parâmetros seminais e a fertilidade do sêmen asinino refrigerado.

Palavras-chave: Sêmen. Jumento. Colesterol.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> University of Illinois Urbana-Champaign (UIUC), Urbana, IL, Estados Unidos

### Correlação entre taxa de prenhez e características seminais em garanhões

Verônica La Cruz Bueno\*, Henrique Boll de Araujo Bastos, Gustavo Rupp Larentis, Frederico Schmitt, Rodrigo Costa Mattos, Sandra Mara da Encarnação Fiala

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

\*Correspondência: veronicalacruzbueno@hotmail.com

A avaliação do sêmen do garanhão com o intuito de predizer a fertilidade é de extrema importância na indústria equina. O baixo desempenho reprodutivo resulta em aumento dos custos de produção de potros. Nosso objetivo foi avaliar a correlação entre a taxa de prenhez (TP) e parâmetros seminais de garanhões da raça Crioula. Foram utilizados 64 garanhões em atividade sexual (um ejaculado de cada garanhão foi coletado com vagina artificial Hannover), com idade entre 4 e 20 anos, alojados nas proximidades de Porto Alegre (30°S, 51°W), RS, Brasil. A concentração espermática (CE) foi avaliada em câmara de Neubauer. As avaliações da motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), imóveis (IM), motilidade circular (MC), velocidade curvilinear (VCL), velocidade da trajetória média (VAP), velocidade em linha reta (VSL) e frequência de batimento do flagelo (BCF) foram realizadas através do sistema CASA (Computer Assisted Sperm Analysis, AndroVision®, Minitube). A análise da integridade física da membrana foi realizada utilizando sondas fluorescentes (CFDA/PI) e a funcionalidade da membrana através de teste hiposmótico (HOST). A fertilidade foi avaliada através da prenhez no 16° dia, sendo que cada garanhão foi utilizado para inseminação de no mínimo 30 éguas. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo 1 (TP ≥ a 51%) e Grupo 2 (TP ≤ a 50%). Para análise estatística foi utilizada correlação de Pearson, sendo o nível de significância p < 0,05. Os valores médios e desvios padrão das variáveis observados nos Grupos 1 e 2 foram respectivamente: CE (206 x 10<sup>6</sup>/mL ± 115 e  $229 \times 10^{6}$ /mL  $\pm 147$ ); TP (72 %  $\pm 13$  e 37%  $\pm 9$ ); CFDA/PI (63 %  $\pm 14$  e 40 %  $\pm 21$ ); HOST (60 %  $\pm 14$  e 39 %  $\pm$  20); MT (71%  $\pm$  11  $\pm$  41%  $\pm$  20); MP (45%  $\pm$  19%  $\pm$  17); IM (27%  $\pm$  12  $\pm$  51%  $\pm$  21); MC (7%  $\pm$  6  $\pm$  8  $\pm$  9  $\pm$  10  $2\% \pm 3$ ); VCL (109  $\mu$ m/s  $\pm 44$  e 78  $\mu$ m/s  $\pm 40$ ); VAP (54  $\mu$ m/s  $\pm 20$  e 36  $\mu$ m/s  $\pm 18$ ), VSL (43 $\mu$ m/s  $\pm 16$  e 28 μm/s ± 14), BCF (7μm/s ± 6 e 4 μm/s ± 4). Foi encontrada correlação positiva entre a TP com MT (r = 0.728/p < 0.001), MP (r = 0.593/p < 0.001), HOST (0.564/p < 0.001), CFDA/PI (r = 0.519/p < 0.001), VCL(r = 0.390/p = 0.004), MC(r = 0.384/p < 0.001), VSL(r = 0.382/p < 0.005), VAP(r = 0.381/p < 0.005), VAP(r = 0.0BCF (r = 0.319/p = 0.02) e correlação negativa com IM (r = -0.544/p < 0.001). A qualidade do sêmen depende da integridade e função de todas as estruturas que compõem a célula espermática, que nem sempre correspondem à capacidade fecundante do espermatozoide. A membrana exerce papel vital na sobrevivência dos espermatozoides. O CASA tem mostrado ser uma ferramenta útil na avaliação da cinética dos espermatozoides, mostrando potencial para predizer a fertilidade. Em equinos e bubalinos já foi observada correlação entre fertilidade e cinética espermática. O CASA oferece objetividade e repetitividade nas avaliações, o que possibilita detalhar melhor a qualidade do sêmen analisado. Desta forma, torna-se imprescindível o desenvolvimento de estratégias para a caracterização e compreensão de características de interesse e sua correlação com a taxa de prenhez.

Palavras-chave: Fertilidade. Equino. Sêmen.

#### Efeito antimicrobiano in vitro do Botukiller® contra microrganismos causadores de endometrite em éguas

Fernando Paixão Lisboa\*, Mariana Polesso Mazzuchini, Lorenzo Segabinazzi, Marco Alvarenga, José Antônio Dellaqua Junior

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

\*Correspondência: pxlisboa@gmail.com

O tratamento da endometrite infecciosa é multifatorial, sendo determinado conforme a etiologia da infecção endometrial. Estão descritos diversos tratamentos na literatura, entre eles alguns utilizando formulações comerciais. O Botukiller® (Botupharma, Botucatu/SP) é um sanitizante uterino recomendado para administração durante o estro em éguas com histórico de subfertilidade e endometrite. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito antimicrobiano in vitro do Botukiller (BK) contra os principais microrganismos causadores de endometrite em équas. Os microrganismos foram isolados do útero de éguas com histórico ou sinais de subfertilidade com o auxílio de coletor intrauterino (Provar®). As amostras coletadas foram submetidas à cultura e identificação pelo método de espectrometria de massa MALDI-TOF. Foram selecionados os seguintes microrganismos: Streptococcus equi subsp. zooepidemicus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae e Candida albicans. Para a avaliação do efeito antimicrobiano e estabelecimento da concentração inibitória mínima (CIM), optou-se pela técnica de microdiluição seriada em caldo Mueller-Hinton (MH), conforme descrita no CLSI 2020, utilizando-se placa de 96 poços, seguida de incubação com rezasurina. Foram testadas as seguintes concentrações de BK diluído em MH: 50%; 25%; 12,5%; 6,2%; 3,1%; 1,6%; 0,8%. O experimento foi realizado em triplicata, utilizandose um controle positivo contendo caldo MH e bactéria, um controle negativo contendo BK e MH e um controle negativo somente com MH, a fim de verificar contaminações nos meios e garantir que os microrganismos tivessem substrato suficiente para o crescimento. As amostras foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Após a incubação, adicionou-se 10 µL de resazurina sódica (1 mg/ml) em cada poço a fim de se observar a viabilidade dos microrganismos. As placas foram novamente incubadas a 37°C durante 1 hora, e então classificadas em relação ao crescimento microbiano, sendo rosa, presente, e azul, ausente. Dentre os microrganismos testados, cinco tiveram seu crescimento inibido pelo Botukiller®, sendo a CIM para Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae e Candida albicans de 25%, E. coli de 12,5%, e Pseudomonas aeruginosa de 50%. O Streptococcus não teve seu crescimento totalmente inibido nas concentrações testadas, entretanto, quando comparado ao controle positivo, o crescimento bacteriano na maior concentração foi 56% menor do que o controle positivo, sugerindo que maiores concentrações de BK são capazes de inibir o crescimento deste microrganismo. Estes resultados demonstram que o Botukiller é um bom adjuvante ao tratamento da endometrite infecciosa em éguas, uma vez que o produto demonstrou ser eficiente em inibir o crescimento dos principais microrganismos causadores desta enfermidade. Outros estudos serão conduzidos para determinar se aplicações repetidas, como recomenda o fabricante, assim como novas doses, apresentam efeitos superiores.

Palavras-chave: Égua. Endometrite. Botukiller.

## Efeito da infusão direta de gás ozônio uterino em éguas no perfil inflamatório da endometrite - Resultados parciais

Ana Caroline Araújo Ávila<sup>1</sup>, Maria Manoela Barata de Castro Chaves<sup>2</sup>, Marco Antônio de Oliveira Viu<sup>3</sup>, Rodrigo Arruda de Oliveira<sup>1\*</sup>

- <sup>1</sup> Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil
- <sup>2</sup> Veterinária autônoma
- <sup>3</sup> Universidade Federal de Goiás (UFG), Jataí, GO, Brasil

\*Correspondência: rodrigoarruda@unb.br

Objetivou-se avaliar se a infusão direta de gás ozônio intrauterino reduz o perfil inflamatório de éguas com endometrite persistente pós-cobertura, avaliado por meio de citologia uterina (escova ginecológica) antes e após o tratamento. Dezesseis animais com histórico reprodutivo conhecido foram divididos em dois grupos, levando em consideração a idade, o histórico de subfertilidade e a inflamação uterina. A inflamação uterina foi previamente avaliada por meio de citologia para observação de polimorfonucleares. As éguas foram acompanhadas por dois ciclos consecutivos e agrupadas aleatoriamente em dois tratamentos: Grupo controle (G1, n = 7) - lavagem uterina com solução ringer lactato (até recuperar um lavado límpido + 20 UI de ocitocina, IM; e Grupo 2 (G2, n = 9) - após a lavagem uterina com solução ringer lactato (até recuperar um lavado límpido), realizou-se a infusão direta do gás ozônio no útero (corpo e bifurcação uterina) na concentração de 40 mcg com duração de 10 minutos. A infusão do gás foi realizada com o auxílio de uma pipeta de inseminação para equinos e de um equipo. Esse procedimento foi repetido por dois dias consecutivos, e com uma posterior aplicação via intramuscular de 20 UI de ocitocina no segundo dia. Os tratamentos foram iniciados quando se identificava no útero edema de classificação 2, de acordo com a escala de 0 a 5. A citologia foi realizada durante o estro das éguas com a utilização de um coletor estéril descartável para equinos, com escova ginecológica em sistema de dupla proteção. Após a colheita do material e retirada do coletor do trato reprodutivo da égua, realizou-se a confecção da lâmina através de movimentos de rolamento com a escova citológica para deposição do material uterino colhido e fixado em álcool 70°. Após a secagem, as lâminas foram coradas com panótico rápido. Na citologia uterina foi obtida uma média de neutrófilos/campo no G1 (controle) de 9,14 ± 3,02 (pré-tratamento) para 7,71 ± 3,59 (pós-tratamento) e no G2 (ozônio) de  $10,67 \pm 3,84$  (pré-tratamento) para  $2,89 \pm 3,59$  (póstratamento). Houve diferença entre os grupos na citologia após tratamento (p < 0,05). A infusão direta de gás ozônio intrauterino se mostrou eficaz na modelação do processo inflamatório em endometrite em éguas, com redução do número de neutrófilos.

Palavras-chave: Equino. Inflamação uterina. Endometrite.

## Efeito de diferentes tipos de estrógeno e regimes de tratamento sobre o edema endometrial em éguas em anestro

Leonardo de Mendonça Siqueira\*, Pedro Sanches Oquendo Júnior, Leticia Sayuri Setoguchi, Elisa Santanna Monteiro da Silva

Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil

\*Correspondência: Imsiqueira.98@gmail.com

Éguas acíclicas estacionais vêm sendo amplamente utilizadas como receptoras nos programas de transferência de embriões (TE). Para tal, diversos protocolos hormonais são utilizados a campo para o preparo dessas receptoras, apresentando diversas variações, principalmente quanto ao regime e tipo de estrógeno empregado. Os diferentes ésteres de estradiol disponíveis no mercado apresentam tempos de meia-vida distintos. O cipionato de estradiol possui maior tempo de meia-vida que o benzoato de estradiol, que por sua vez apresenta maior tempo de meia-vida que o 17ß estradiol. Embora o uso destes diferentes estrógenos já tenha sido bem estudado em vacas, tais informações ainda não estão disponíveis para éguas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes regimes de tratamento com estrógenos, comparando cipionato de estradiol, benzoato de estradiol e  $17\beta$  estradiol sobre a intensidade e duração do edema endometrial em éguas acíclicas. Doze éguas em anestro, pesando entre 300 e 400 kg, foram divididas aleatoriamente em três grupos (n = 4) e tratadas com diferentes tipos de estrógeno durante três dias. Éguas dos grupos CE e BE receberam doses de 10 mg, 6 mg e 4 mg de cipionato de estradiol (E.C.P.®, Zoetis) e benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ouro Fino), respectivamente. Já os animais do grupo 17βE receberam doses de 10 mg, 20 mg e 10 mg de 17β estradiol, de acordo com as recomendações do fabricante específicas para equinos (17 Beta®, Botupharma). Foram realizadas palpações e ultrassonografias retais diariamente, por um único profissional, começando no dia da primeira aplicação hormonal (D0) e se estendendo até 10 dias ou até o desaparecimento do edema. A intensidade ou grau do edema foi classificada nos escores de 0 a 4, sendo 0: edema ausente, 1: mínimo, 2: moderado, 3: alto e 4: exagerado. As avaliações foram realizadas às cegas. Calculou-se a mediana dos escores nos diferentes dias, a qual foi comparada entre os grupos. Um dia após a primeira aplicação de estrógeno, edema escore 3 foi observado nos grupos CE e BE. Já o grupo 17βE exibiu edema 3 dois dias após a primeira aplicação. No D5, os grupos CE e BE já apresentaram edemas de escore 2,5, à medida que no grupo 17βE o edema se manteve em 3 até o D7. No nono dia após o início da aplicação de estrógeno, o grupo 17βE ainda apresentou edema 2, enquanto os grupos CE e BE edemas 1,5 e 1,25, respectivamente. Em suma, os animais dos grupos BE e CE apresentaram edemas endometriais de intensidade e duração semelhantes, enquanto as éguas do grupo 17βE apresentaram edema mais intenso por mais tempo. Embora o tempo de meia-vida do  $17\beta$  estradiol seja menor, a maior dose administrada pode ter levado à maior intensidade e duração do edema. Ademais, análises futuras serão realizadas para quantificar a concentração plasmática do estradiol, assim como avaliar a intensidade e duração do edema provocado pelos três tipos de estrógeno após administração de progesterona.

Palavras-chave: Éguas. Estrógeno. Edema.

### Effect of ozone on vascular dynamics and uterine cytology of mares

Victoria Kanadani Campos Poltronieri<sup>1\*</sup>, Jurandy Mauro Penitente-Filho<sup>1</sup>, Rachel de Andrade Tavares<sup>1</sup>, Karla Cindy Cavalcante dos Santos<sup>1</sup>, Iara Magalhães Ribeiro<sup>1</sup>, Ytalo Galinari Henriques Schuartz<sup>1</sup>, Elaine Gomes Vieira<sup>2</sup>, Bruna Waddington de Freitas<sup>2</sup>

\*Correspondência: victoria.poltronieri@ufv.br

Endometritis is known to be responsible for the greatest economic losses within the equine reproductive market due to its negative impact on reproductive capacity, with consequent reduction of fertility in mares. In order to provide tools for the treatment of such condition, new therapies have been recently studied. In integrative medicine, ozone therapy has been widely used due to its lower cost and easier applicability compared to traditional treatments. The high antimicrobial potential attributed to the oxidative capacity of ozone is beneficial in the resolution of endometritis; however, its impact on endometrial tissue is still controversial. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of uterine insufflation of healthy mares with ozone gas (O<sub>3</sub>) on the uterine vascularization through power Doppler evaluation. In addition, to compare the effects of insufflation on the endometrium through the evaluation of uterine cytology. For this purpose, four non-pregnant mares aged 6 to 18 years were used. Samples from the uterus were collected from each animal during the estrus and/or diestrus period. Throughout the experimental period, mares were evaluated by rectal palpation, B mode transrectal ultrasound and power Doppler (Z50 Mindray®, equipped with a 5 MHz transducer). Intrauterine gas mixture treatment was performed at a concentration of 44 µg/L of O<sub>3</sub>, with an insufflation rate of ¼ liter per minute (ZVET 220V®, OzoneBras). Data collection was performed prior to treatment (M1), immediately after (M2), and after 12h (M3), 24h (M4), and 48h (M5). Thirty-second videos of uterine body and horn regions with the greatest vascularization were obtained and stored in a flash memory. The pixel area obtained in the uterine layers were then analyzed using the ImageJ 1.46r® program (NIH Image). After 48 hours of O₃ application, samples were collected through low-volume uterine flush for cytological exam. The data was evaluated by using MIXED procedure with autoregressive covariance structures. Variables were analysed by Tukey's test for mean comparison. Significant level adopted was 5%. None of the mares was able to eliminate the uterine inflammation generated by the treatment employed within 48 hours, and all individuals presented positive cytology. When performed during the diestrus period, insufflation was associated with the observation of pathological edema in 66.67% of the animals. Visually, larger areas of pixels were observed in M2, M3, M4 and M5, however no statistical difference was found. Although the inflammatory effect is expected after application of the technique, further studies are needed to determine whether it is beneficial or not. In addition, O<sub>3</sub> applications should preferably be performed in the presence of estrus, given the greater inflammation linked to insufflation when it is performed in diestrus.

**Keywords:** Doppler. Endometritis. Equine.

**Acknowledgments:** CAPES, CNPq, and FAPEMIG for the financial support.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brazil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Centro Universitário de Vicosa (UNIVICOSA), Vicosa, MG, Brazil

REPRODUÇÃO DE EQUÍDEOS

#### Escore de Apgar e parâmetros comportamentais em potros recém-nascidos da raça Mangalarga Marchador - Resultados parciais

Filipe Ferreira Pedroso, Tami Seixas de Carvalho, Anna Beatriz Veltri, Rodrigo Arruda de Oliveira\*

Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

\*Correspondência: rodrigoarruda@unb.br

Em potros neonatos, o periparto é um período de adaptação ao ambiente extrauterino com o fim da circulação materno-fetal e início da respiração pulmonar. Este período se torna um grande desafio, pois podem ocorrer falhas nessa transição. Com base na escala de Apgar, adpatada de humanos, que consiste na avaliação das frequências cardíaca e respiratória (FC e FR), tônus muscular e resposta postural, estímulo nasal e cor da mucosas, pode-se estimar a vitalidade neonatal. É possível obter uma pontuação de 0 a 10 com essa escala, onde 0 = morto, 1-4 = deprimido, 4-6 = moderadamente deprimido e 7-10 = vigoroso. Foram acompanhado 25 partos de éguas da raça Mangalarga Marchador no Distrito Federal, na estação de monta de 2020/2021. Os potros foram avaliados e a pontuação atribuída em três momentos: no nascimento (T1), 5 (T2) e 10 (T3) minutos depois da expulsão. A utilização dessa metodologia investiga o risco de potros desenvolverem a síndrome de asfixia perinatal, o que torna importante estabelecer intervalos de referência normais para medições de gases no sangue umbilical de potros saudáveis para posterior diagnóstico de anormalidades rápido e eficaz. O escore Apgar foi de  $8,44 \pm 1,16$ ;  $9,04 \pm 0,28$ ; e  $9,2 \pm 0,71$  para T1, T2 e T3, respectivamente. Não houve diferença entre os tempos (p > 0,05). A duração média da gestação foi de 330,52  $\pm$  8,95 dias. A média de peso dos potros foi de  $38,83 \pm 4,96$  kg. Os potros demoraram  $3,6 \pm 1,61$  minutos para estabeleceram o decúbito esternal, ficaram em estação em 52,84 ± 20,36 minutos e mamaram 101,6 ± 40,59 minutos após a expulsão fetal. O escore Apgar é aplicável a campo e permite intervir, caso necessário, o mais precocemente possível na assistência aos potros neonatos.

Palavras-chave: Neonatologia. Parto. Marchador.

#### Failure of ovulation induction in mares with buserelin acetate

Tamara Anabel Rosales Correa, Roberto Claudio Bustillos Huilca, Elena Carolina Serrano Recalde\*

Universidad Nacional de Loja (UNL), Loja, Ecuador

\*Correspondência: caritos1000@gmail.com

The mare is considered a seasonally polyestrous breeder, which means they need longer daylight length for reproductive activity. Photoperiod effect on reproductive seasonality is more evident the farther from the Equator the animals are. However, even in latitudes relatively close to the Equator, the weather may interfere on the ovulation process in some specific regions. Therefore, hormonal therapy with hCG, GnRH, PGF2 $\alpha$  and others are often necessary to reduce the weather effect. There are controversial findings about the use of buserelin acetate, a GnRH analogue, in hastening ovulation in estrus mares. Hence, the aim of this study was to evaluate the effectiveness of buserelin acetate on ovulation and the time when it occurs in mares of regions where the weather is mostly cloudy. The investigation was performed in Loja, Ecuador, from August 2020 to April 2021. The mean local temperature was 16.1 °C, relative humidity 76.7%, precipitation 0.07 mm and cloud cover 70%. Eight mixed race mares of 4 - 15 years old, with body condition between 2 - 4 were used. All the animals went through the four treatments randomly. Ultrasonography was used to monitor follicular development. In the presence of a follicle ≥35 mm and endometrial edema of 2 to 3, one of the following treatments was applied: control - without hormonal application; hCG - 2,500 IU of hCG intravenously (IV); AB - 42 µg of buserelin acetate intramuscularly (IM); or a combination of hCG + AB. Subsequently, ovulation was verified at 36, 42, 48 hours after induction or later every 12 hours until ovulation. Five days after ovulation or upon confirmation of the presence of a corpus luteum, 0.263 mg of cloprostenol sodium was administered, with the aim of shortening the estrous cycle for a subsequent follicular evaluation. Using Fischer''s exact test, statistical difference was observed (p = 0.00026) on ovulation percentage between the different experimental groups, where hCG and the combination of hCG + AB presented 100% of ovulations, while the control group and AB obtained 37.5% and 25%, respectively. Through the Kruskal-Wallis test, the treatment effect on ovulation time was compared. According to the analysis, both hCG and hCG + AB presented an average of 39 hours from induction to ovulation, a shorter time (p = 0.029) than the control group, which presented an average of 99.43 hours, and than the AB group, with 115.71 hours to ovulation. Both groups, control and AB, had a mare that presented hemorrhagic anovulatory follicle (HAF). We can conclude that buserelin acetate in a single dose of 42 µg IM is not efficient to induce ovulation in mares of regions with mostly cloudy weather. Buserelin acetate does not promote the ovulation process, taking more than 96h to occur, turning it difficult to predict ovulation moment, different than the use of hCG and the combination of hCG + AB, which showed 100% ovulations within 48h after induction.

Keywords: Follicle. GnRH. HAF. Cloudy.

## Fator de necrose tumoral alfa e ativador plasminogênio: expressão gênica em ovários de égua

Henrique Boll de Araujo Bastos\*, Vanessa Jegan, Verônica La Cruz Bueno, Sandra Mara da Encarnação Fiala, Nelson Alexandre Kretzmann Filho, Rodrigo Costa Mattos

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

\*Correspondência: henriquebastosvet@gmail.com

Citocinas e proteases são fatores reconhecidos como parte importante durante a foliculogênese em diferentes espécies de mamíferos domésticos. O fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) pode estar envolvido no controle da remodelação tecidual e prevenir a ruptura folicular prematura durante a proliferação e diferenciação das células da granulosa. O ativador plasminogênio tipo-uroquinase (uPA) é importante na degradação da matriz extracelular durante a proliferação e migração que acompanha o crescimento folicular. O objetivo do presente estudo foi analisar a expressão gênica do TNF- $\alpha$  e do receptor do ativador plasminogênio tipo-urokinase (uPAR) em ovários de éguas durante a foliculogênese. Foram coletados ovários de 12 éguas sem raça definida em abatedouro localizado na cidade de São Gabriel, RS, Brasil. Somente ovários de éguas cíclicas foram selecionados. Baseando-se no diâmetro folicular, os animais foram divididos em dois grupos: grupo desenvolvimento (DEV) e grupo dominância (DOM). O grupo DEV foi formado por seis animais (12 ovários) com folículos < 28mm de diâmetro (folículos em desenvolvimento) e o grupo DOM por seis animais, os quais possuíam folículos ≥ 28 mm de diâmetro (folículos dominantes). O grupo DOM foi dividido em dois subgrupos: ovários com a presença do folículo dominante (DOM-D) e ovários contralaterais (DOM-C). Cada ovário foi seccionado longitudinalmente e dois fragmentos foram retirados de um hemiovário para realização da técnica de reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR). Um dos fragmentos foi removido da região da fossa de ovulação e o outro foi removido da porção central do ovário (estroma). Nos hemiovários com folículos, o fragmento central foi removido junto com uma porção do maior folículo. Para o qPCR foram utilizados primers para equinos específicos para o TNF-α e uPAR. A quantificação relativa foi realizada e os níveis de RNAm dos genes-alvos foram normalizados contra os níveis de RNAm do gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH). O método comparativo "cycle threshold" (CT)  $(2-\Delta\Delta CT)$  foi utilizado para calcular a expressão relativa do RNAm. A expressão gênica do TNF-α foi maior no estroma do grupo DEV do que no estroma do grupo DOM-C e fossa do DOM-D. No grupo DEV, a expressão do uPAR foi maior no estroma do que na fossa. A expressão de uPAR no estroma tendeu a ser maior no grupo DEV do que no grupo DOM-C. A maior expressão TNF-α no grupo DEV sugere um importante papel para o folículo em desenvolvimento e sua redução de expressão no grupo DOM pode sugerir que esta citocina tenha um papel constitutivo nos estágios finais do crescimento folicular. Os resultados da expressão do uPAR são similares aos do TNF- $\alpha$ , com maior expressão no estroma do grupo DEV. Concluímos que a expressão do TNF- $\alpha$  e do uPAR no ovário da égua podem ter uma ação de remodelamento tecidual e de sinalização importante na fase de desenvolvimento folicular.

Palavras-chave: Citocina. Protease. Folículo.

### Fatores que não influenciam na produção in vitro de embriões equinos através da ICSI

Juliana Schleich Fonte<sup>1\*</sup>, Perla Dagher Cassoli Fleury<sup>1</sup>, Claudia Barbosa Fernandes<sup>2</sup>, Maria Augusta Alonso<sup>2</sup>, Marc Peter Maserati Jr<sup>1</sup>, Marcos Antonio Gonçalves<sup>1</sup>

\*Correspondência: juliana@invitroequinos.com.br

A técnica de ICSI (Injeção intracitoplasmática de espermatozoide) em equinos está se tornando cada vez mais popular no Brasil por possuir diversas vantagens em relação às técnicas convencionais, desde a reprodução de animais com subfertilidade adquirida à otimização do uso de sêmen, maior eficiência na criopreservação dos embriões produzidos, otimização no uso de éguas receptoras, entre outros. Atualmente temos conhecimento de algumas das variáveis que podem interferir na técnica, mas quais são as variáveis que não interferem nos resultados, desde a taxa de recuperação oocitária até a produção final de embrião? Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar fatores das éguas doadoras de oócitos que não interferiram na produção de embriões equinos in vitro através da ICSI durante o período de agosto de 2019 a agosto de 2020. Para tanto, foram avaliadas 2235 sessões de aspiração folicular, totalizando 838 éguas e sêmen congelado de 120 garanhões. Os oócitos para a realização da ICSI foram enviados ao laboratório comercial In Vitro Equinos, localizado em Mogi Mirim, no estado de São Paulo. As éguas doadoras de oócitos foram classificadas de acordo com a idade (2 a 31 anos), raça (Brasileiro de Hipismo, BH, e Quarto de Milha, QM), fase do ciclo estral no dia da aspiração folicular (estro sem folículo dominante, estro com folículo dominante e diestro) e estação do ano (primavera, verão, outono e inverno). A taxa de recuperação oocitária não foi afetada pela idade (p = 0.13) ou raça (p = 0.94), sendo que éguas de 2 a 31 anos, das raças BH e QM, não mostraram diferença estatística significativa para este fator. Em relação às etapas de produção laboratorial, a raça não afetou a maturação dos oócitos (p = 0.06), clivagem (p = 0.46) e produção de embrião/oócito (p = 0,61), assim como a fase do ciclo estral não afetou a maturação (p = 0,12), clivagem (p = 0,86) e embrião/oócito (p = 0.95). Além disso, a estação do ano (p = 0.41) e fase do ciclo estral (p = 0.68) também não influenciaram a produção final de embrião por sessão de aspiração. Concluiu-se que apesar de diversas variáveis como idade, raça, fase do ciclo da égua doadora e época do ano, a produção de embriões pela ICSI sobrepõe estes fatores, tornando-se uma biotecnologia de crescente e ampla aplicação.

Palavras-chave: Oócitos. Maturação. Aspiração.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> In Vitro Clonagem Animal SA, Mogi Mirim, SP, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

## Influência do estrógeno previamente à progesterona sobre a recuperação embrionária em éguas receptoras acíclicas

Pedro Sanches Oquendo Júnior<sup>1\*</sup>, Fabiana Maddalena de Gaspari Oquendo<sup>2</sup>, Elisa Santanna Monteiro da Silva<sup>1</sup>, Marcelo Emílio Beletti<sup>1</sup>, Juan Cuervo-Arango<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil
- <sup>2</sup> Gallop Medicina Veterinaria Equina, Uberlândia, MG, Brasil
- <sup>3</sup> El Cantero de Letur, Letur, Albacate, Espanha

\*Correspondência: pso\_vet@hotmail.com

Diversos protocolos têm sido aplicados para o preparo de éguas receptoras acíclicas em programas de transferência de embriões (TE), nos quais são utilizados variados regimes de tratamento com estrógeno e/ou progesterona (P4). Um estudo prévio mostrou correlação positiva entre a duração do estro anterior à TE e a taxa de prenhez em receptoras cíclicas. É incerto, porém, se tal aumento no período de exposição ao hormônio também exerce influência na taxa de gestação da receptora acíclica. O objetivo deste estudo foi determinar o efeito de três protocolos hormonais em receptoras acíclicas sobre a recuperação embrionária após a TE. O grupo estro longo (EL) recebeu um total de 8 mg de benzoato de estradiol (BE) do sétimo ao terceiro dia antes da administração de 1500 mg de P4 de longa ação (P4 LA); o grupo estro curto (EC), dose única de 2,5 mg de BE dois dias antes da P4 LA; e o grupo sem estro (SE), apenas aplicação da P4 LA. Embriões com oito dias de idade foram transferidos para as receptoras no dia 4 após administração da P4 LA. Dois dias após a TE, lavados uterinos foram realizados nas receptoras e a taxa de recuperação embrionária foi avaliada. Para obter número mínimo de embriões por grupo a fim de realizar análises posteriores de viabilidade, foi necessário realizar 13 transferências para o grupo SE, seis para o grupo EC e sete para o grupo EL, dos quais seis embriões foram recuperados das receptoras do grupo SE (6/13; 46%), quatro do grupo EC (4/6; 66%) e seis do grupo EL (6/7; 85%). Os dados obtidos foram analisados utilizando o teste de comparação pareada. Observou-se maior taxa de recuperação embrionária no grupo EL em relação ao SE (85% x 46%; p0.05), entre os grupos EL e EC e SE, possivelmente pelo menor número de transferências realizadas nos grupos EL e EC. É possível constatar, no entanto, pelo menor número de transferências necessárias para obter pelo menos quatro embriões nos grupos EL e EC, que a administração prévia de estrógeno favorece o ambiente uterino para o desenvolvimento embrionário, embora a P4 seja o hormônio determinante para sua sobrevivência. Estudos adicionais, com maior número de TE, ainda são necessários para comprovar a hipótese de que a maior exposição uterina ao estrógeno, previamente à P4, favorece a sobrevivência e desenvolvimento embrionários em éguas

Palavras-chave: Éguas acíclicas. Estrógeno. Progesterona.

Comissão de Ética: CEUA - UFU, nº 028/19.

#### Manejo de éguas receptoras nos programas de transferência de embriões no Brasil

Leticia Sayuri Setoguchi\*, Letícia Kath Lucca, Leonardo de Mendonça Siqueira, Elisa Santanna Monteiro da Silva

Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil

\*Correspondência: leticia.setoguchi@gmail.com

O Brasil é o país que mais realiza transferência de embriões (TE) em equinos no mundo, e o manejo da receptora é fator fundamental para o sucesso da técnica. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o manejo de éguas receptoras nos programas de TE no país como forma de obter maior conhecimento sobre as práticas realizadas pelos profissionais de campo. Para tal, confeccionou-se um questionário através da plataforma de formulários online do Google (Google Forms) com perguntas acerca do manejo reprodutivo de éguas receptoras utilizadas em programas de TE. Foram obtidas respostas de 37 médicos veterinários, sendo 27 da região Sudeste (72,97%), quatro da região Sul (10,81%), três da região Centro-Oeste (8,10%), dois da região Norte (5,40%) e um da região Nordeste (2,70%). O número de TE realizado pelos profissionais variou de 10 a 650 por ano. Foi possível inferir que em média 80% das receptoras utilizadas são cíclicas e 20% são acíclicas. Dos 37 respondentes, três profissionais não trabalham com receptoras acíclicas. Dos que trabalham com as acíclicas, 100% utilizam protocolos hormonais associando estrógeno seguido de progestágeno. Em relação ao tipo de estrógeno, 58,8% utilizam 17 beta-estradiol, 41,2% benzoato de estradiol e nenhum dos respondentes utiliza o cipionato de estradiol. Também foi avaliada a frequência de aplicação de estrógeno e, no geral, 13,8% expõem as éguas a um dia de estrógeno, 24,1% durante dois dias e 62,1% por três dias ou mais antes da aplicação do progestágeno. Em relação ao tipo de progestágeno utilizado, 58,3% utilizam a progesterona (P4) natural injetável, 25% o implante intravaginal de progesterona e 16,7% o altrenogest injetável. Quanto ao dia de preferência para a realização da TE após a aplicação de P4 ou após a ovulação, 64,8% dos profissionais realiza a TE entre o D4 e o D6 e 35,2% entre D3 e D9. No dia da realização da TE, 97,3% avaliam tônus uterino, 86,5% se há presença de líquido e/ou ar intrauterino, 81,1% edema endometrial, 81,1% tônus e/ou características da cérvix e 48,6% dos profissionais avaliam outros parâmetros. No tocante à técnica utilizada para a TE, apenas um respondente (2,7%) utiliza a técnica de Wilsher e os demais (97,3%) a transcervical convencional. Se confirmada a gestação, 77,1% dos veterinários mantêm a progesterona até os 120 dias de prenhez, 20% mantêm por menos de 120 dias e 2,9% mantêm por mais de 120 dias. Ainda, 67,6% não observam diferença nas taxas de gestações entre as receptoras cíclicas e acíclicas, ao passo que 32,4% observam essa diferença, dos quais 17,6% têm melhores taxas com cíclicas e 14,8% com acíclicas. Por fim, 61,8% têm preferência de trabalhar com receptoras cíclicas, 20,6% não possuem preferência e 17,6% preferem as acíclicas. O conhecimento dos manejos com as receptoras será de grande valia para otimizar a realização de pesquisas científicas, para que no futuro os resultados obtidos venham a dar ainda mais suporte às práticas de campo.

**Palavras-chave:** Hormonioterapia. Transferência de embriões. Receptora.

#### Meio condicionado por células-tronco mesenquimais modula a resposta inflamatória uterina pós-cobertura em éguas

Lucas Brasileiro<sup>1</sup>, Rafaela de Fatima Soares<sup>1</sup>, Lorenzo Segabinazzi<sup>1</sup>, Marina Landim e Alvarenga<sup>2</sup>, Frederico Ozanan Papa<sup>1</sup>, Marco Alvarenga<sup>1</sup>

\*Correspondência: marco.alvarenga@unesp.br

A endometrite é a causa mais comum de subfertilidade em éguas. Todas as éguas apresentam uma inflamação endometrial fisiológica pós-cobertura; entretanto, 15-20% das éguas têm endometrite persistente pós-cobertura (EPPC). Recentemente, o meio condicionado de células-tronco mesenquimais (MC) tem sido descrito como um potente agente imunomodulador. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do MC sobre a resposta inflamatória uterina neutrófilos polimorfonucleares (PMN) e concentração de citocinas inflamatórias - em éguas com histórico de subfertilidade devido à EPPC. Oito éguas com histórico de EPPC foram utilizadas para o estudo. As éguas foram inseminadas em dois ciclos consecutivos divididos aleatoriamente em: controle, no qual as éguas não recebiam tratamento intrauterino; MC, no qual as éguas eram tratadas com infusão uterina de 30 ml de MC alogênico 24h antes da inseminação. O MC foi obtido de um banco de células-tronco do laboratório Omics (Omics Biotecnologia Animal, Botucatu, SP). A citologia endometrial e o líquido uterino foram coletados 6 e 24 horas após a inseminação para avaliar o número de PMNs e as concentrações de interleucinas IL6, IL10 e TNFα. Os dados foram avaliados através de modelo misto e teste de Tukey. Diferenças foram consideradas se p < 0,05. Observou-se diminuição significativa na contagem de PMNs na citologia uterina 6 e 24 horas pós-cobertura no grupo tratado com MC (p < 0,05). Além disso, MC reduziu as concentrações da interleucina pró-inflamatória IL6 e regulou positivamente as concentrações da interleucina anti-inflamatória IL10 no útero de éguas após a inseminação. As concentrações de TNFα não diferiram entre os grupos. Em conclusão, MC alogênico reduziu a resposta inflamatória pós-inseminação em éguas suscetíveis à EPPC e deve ser considerado um tratamento alternativo em protocolos de inseminação artificial em equinos.

Palavras-chave: Endometrite. Équa. Terapia.

Agradecimentos: Central de Reprodução Equicenter, Tatui/SP, pelo auxílio na execução do

experimento; FAPESP (2018/02856-3). **Comissão de Ética**: CEUA - FMVZ/UNESP.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Omics Biotecnologia Animal, Botucatu, SP, Brasil

### Método alternativo para obtenção de plasma rico em plaquetas a campo

Fernando Paixão Lisboa\*, Mariana Polesso Mazzuchini, Lorenzo Segabinazzi, Marco Alvarenga, José Antônio Dellaqua Junior

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

\*Correspondência: pxlisboa@gmail.com

O plasma rico em plaquetas (PRP) tem sido utilizado no tratamento de endometrites pós-cobertura, auxiliando na modulação da resposta inflamatória. Sua função antibacteriana, seja em plasma rico ou pobre em plaquetas, já foi evidenciada contra Staphylococcus aureus resistente à meticilina, entretanto, para a realização desta técnica é necessário o mínimo de estrutura, como laboratório, centrífuga, tubos, entre outros. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a possibilidade de concentração de plaquetas sem a estrutura laboratorial mínima, utilizando seringas descartáveis e avaliando a concentração plaquetária em diferentes tempos e porções da amostra. Foram coletadas amostras de 10 animais hígidos através de punção da veia jugular com agulha 21G e seringa de 10 ml contendo citrato de sódio 3,2% na diluição de 1:10 (citrato:sangue). Após a coleta, a seringa foi homogeneizada e uma pequena amostra separada para a primeira análise (controle), e então deixadas na vertical com a agulha voltada para cima, em temperatura ambiente, fazendo com que o plasma permanecesse na porção superior. As avaliações do plasma foram realizadas nos momentos 0, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos, sendo que para cada tempo foi utilizada uma única seringa. As contagens de eritrócitos, leucócitos totais e plaquetas foram realizadas em contador automático Mindray BC 2800 Vet®. As porções de plasma avaliadas foram: 50% superior (50) e 50% inferior, sendo a porção inferior dividida em 25% superior (25s) e 25% inferior (25i). As concentrações de plaquetas, eritrócitos e leucócitos totais foi avaliada entre as frações de plasma e sangue total utilizando ANOVA, seguido do teste de Tukey (p ≤ 0,05) entre as frações, entretanto, observou-se aumento significativo em algumas amostras da fração 25i devido à dificuldade na separação e consequente contaminação com a papa de hemácias. Desta maneira, conclui-se que o uso da seringa é viável para a concentração de plaquetas, sendo 30 minutos suficientes para dobrar sua concentração. Além disso, com o passar do tempo, a concentração de leucócitos totais na fração 50 é significativamente menor, sendo uma alternativa para aqueles que optem por não infundir quantidade excessiva de leucócitos.

Palavras-chave: Endometrite. PRP. Alternativo.

## Métodos de preparação do plasma rico em plaquetas para utilização na prática reprodutiva de éguas

Mariana Polesso Mazzuchini<sup>1\*</sup>, Lorenzo Segabinazzi<sup>1</sup>, Giorgia Podico<sup>2</sup>, Marco Alvarenga<sup>1</sup>, Igor Frederico Canisso<sup>2</sup>

\*Correspondência: mp.mazzuchini@unesp.br

O plasma rico em plaquetas (PRP) tem ganhado popularidade na reprodução equina, apresentandose benéfico no manejo da endometrite, modulando a resposta inflamatória e aumentando os índices gestacionais de éguas subférteis. Este estudo tem como objetivo a comparação entre três métodos para a produção de PRP. Dezoito éguas clinicamente saudáveis foram submetidas à venopuntura para coleta sanguínea, sendo divididas em três grupos: bolsa de transfusão sanguínea (método 1), tubos de sangue (método 2) e seringa (método 3). No método 1, as amostras foram transferidas da bolsa para tubos Falcon e centrifugadas duas vezes. Já no método 2, o sangue foi coletado em tubos BD Vacutainer® e centrifugados apenas uma vez, enquanto no método 3 a seringa era mantida verticalmente durante 4 horas para que ocorresse a sedimentação celular. Após o processamento com os três métodos, o PRP e o plasma pobre em plaquetas (PPP) eram retirados e avaliados em relação à quantidade de células vermelhas (RBC), células brancas (WBC), contagem de plaquetas e viabilidade. Em um subconjunto de éguas (n = 6), as amostras foram processadas com os três métodos, e o PRP foi avaliado 6 e 24 horas após refrigeração a 5 °C. O método 1 e o método 3 resultaram na maior e na menor concentração plaquetária, respectivamente (p < 0,05). A refrigeração durante 24 horas não afetou a contagem plaquetária em todos os métodos de concentração (p > 0,05). Entretanto, a viabilidade plaquetária se demonstrou reduzida após a refrigeração do PRP obtido através do método 3 (p = 0.04) e a aglutinação aumentou com o passar do tempo em todos os métodos (p < 0.001). Os três métodos aumentaram (1,8 - 5,6 vezes) a concentração plaquetária no PRP quando comparada à concentração plaquetária basal, sem comprometimento da viabilidade plaquetária. Assim, todos os três métodos testados no presente estudo foram capazes de produzir PRP com boas concentrações plaquetárias. Deve-se determinar, entretanto, como os diferentes métodos de obtenção e a refrigeração podem interferir na eficácia clínica.

Palavras-chave: Plaqueta. Endometrite. Égua.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, SP, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> University of Illinois Urbana-Champaign (UIUC), Urbana, IL, Estados Unidos

### Níveis séricos de colesterol total e triglicerídeos no periparto de éguas da raça Crioula

Gabriela Marocco Raphaelli<sup>\*</sup>, Hortência Campos Mazzo, Gabriela Castro da Silva, Carlos Eduardo Wayne Nogueira, Bruna da Rosa Curcio

Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, Brasil

\*Correspondência: gabimarocco@hotmail.com

Durante a gestação, espera-se que ocorra o incremento do perfil energético das éguas, elevando os níveis de triglicerídeos e colesterol, visando suprir as necessidades do feto e da mãe. Esse aumento tende a crescer conforme a evolução da gestação e é importante que o médico veterinário saiba reconhecer tal alteração para evitar diagnósticos equivocados. O colesterol e os triglicerídeos configuram alguns dos mais importantes lipídeos presentes no plasma. Apesar de serem essenciais ao funcionamento do organismo dos mamíferos, estudos mostram que valores acima dos de referência podem ser considerados fator de risco para obesidade, disfunção essa que em éguas gestantes pode acarretar em comprometimento físico e metabólico dos neonatos. O objetivo do presente estudo foi descrever o perfil energético em éguas gestantes no periparto. Foram coletadas amostras de sangue da veia jugular de 17 équas da raça Crioula a partir dos dois dias que precederam o parto. A proximidade do parto foi acompanhada através da mensuração do pH da secreção mamária das éguas. Assim, quando o pH ficava abaixo de 7,0 era coletado o sangue e programado o acompanhamento dos partos. Para análise, foram utilizadas amostras de dois dias antes do parto (D-2 e D-1), e logo após o nascimento dos potros (D0h, D4h, D12h e D24h). As éguas permaneceram em sistema de criação semiextensivo durante o experimento, permanecendo soltas, com acesso à pastagem nativa e fornecimento de alimento concentrado comercial duas vezes ao dia. Os dados foram analisados pela ANOVA, utilizando teste de Tukey ao nível de significância de 5%, e estão apresentados como média  $\pm$  DP, unidade de mg/dL. Os níveis de colesterol antes do parto foram de 86  $\pm$  18,6 (D-2) e 88  $\pm$  19,2 (D-1). Nos momentos logo após o parto, os níveis foram de 95,3 ± 12,8 (D0h), 78,8 ± 9 (D4h), 78,3 ± 7,2 (D12h) e 72  $\pm$  15,5 (D24h), diferindo entre os momentos D0h e D24h (p = 0,0345). Quanto aos valores de triglicerídeos, os valores obtidos foram de 23,5  $\pm$  9,5 (D-2), 23,8  $\pm$  14,1 (D-1), 25,5  $\pm$  13,2 (D0h),  $9.6 \pm 4.8$  (D4h),  $11.6 \pm 4.5$  (D12h) e  $10.5 \pm 4.5$  (D24h), havendo diferenças entre D0h e D12h (p = 0,0028). Em equinos, os níveis de colesterol e triglicerídeos dificilmente são alterados em razão nutricional, sendo esta uma questão mais relacionada ao metabolismo. O aumento dos níveis de colesterol e triglicerídeos nos dias prévios até o dia do parto pode estar relacionado com o aumento da síntese de hormônios ligados ao colesterol ou elevado requerimento energético com a aproximação do parto. Conclui-se que no periparto, os níveis de colesterol e triglicerídeos apresentam redução significativa no período de 24h após o parto em éguas da raça Crioula.

Palavras-chave: Bioquímica. Éguas gestantes. Crioula.

Agradecimentos: CAPES, pela concessão de bolsas à equipe; Associação Brasileira de Criadores de

Cavalos Crioulos, pelo apoio.

Comissão de Ética: CCEEA - UFPel, 7026-2015.

### Pode a idade dos progenitores interferir no sexo dos potros?

Verônica La Cruz Bueno\*, Jonas Gomes Flores, Henrique Boll de Araujo Bastos, Sandra Mara da Encarnação Fiala

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS

\*Correspondência: veronicalacruzbueno@hotmail.com

As biotécnicas de melhoramento na espécie equina avançaram na última década e os criadores de equinos começaram a questionar as possibilidades de interferência na determinação do sexo dos potros. A determinação do sexo é importante, pois o sexo do potro tem grande influência em seu valor comercial. No Puro Sangue de Corrida, as biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial e a transferência de embriões, são proibidas. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da idade dos progenitores na proporção do sexo dos potros. Foram avaliados 259 gestações de 160 éguas cobertas por 22 garanhões da raça Puro Sangue de Corrida, alocados em diferentes haras na região de Bagé/RS e Aceguá/RS, nas estações reprodutivas de 2011 a 2015. As éguas foram divididas em três grupos de acordo com a idade: até 8 anos (n = 123), 9 a 14 anos (n = 110) e mais de 14 anos (n = 26). Os garanhões, em dois grupos: até 14 anos (n = 11) e 15 anos ou mais (n = 11). Segundo o modelo de regressão logística simples, a chance das éguas com idade menor do que 15 anos na época de cobertura é 41,59% maior de ter potros machos do que aquelas com idade superior a 15 anos. Neste estudo, observou-se comportamento semelhante entre os garanhões: a chance estimada de ter potros machos foi 24,82% maior entre aqueles com idade inferior a 15 anos em relação àqueles com idade superior a este valor. A idade da égua é um fator importante, visto que há uma maior perda de prenhez com o avançar da idade. Équas velhas apresentam alterações degenerativas no endométrio e a sobrevivência dos embriões é significativamente menor do que a de éguas jovens, provavelmente devido ao ambiente uterino e defeitos no embrião. Foi sugerido que, sob algumas condições de estresse, embriões machos são mais vulneráveis do que embriões fêmeas. Em humanos é observada uma frequência semelhante de espermatozóides portadores de Y e X nos ejaculados de homens de 59 a 74 anos de idade e uma frequência significativamente maior de portadores de espermatozóides Y nos ejaculados de homens de 23 a 29 anos. Em animais, o controle da proporção sexual permite um progresso genético mais rápido, maior produtividade, melhora o bem-estar animal e ajuda a reduzir o impacto ambiental devido à eliminação do sexo indesejado. Uma característica importante é o fato de que a duração da gestação em equinos é maior do que a da maioria dos outros animais domésticos. As relações de uma prole com seus progenitores são complexas e as maneiras pelas quais um progenitor pode influenciar as características de sua prole são muitas. Na espécie equina, a determinação do sexo do concepto é de interesse crescente para a indústria de criação. O conhecimento atual sugere que a idade dos pais tem muitas influências sobre a prole. Em nosso estudo, observamos que com o avançar da idade tanto para éguas quanto para garanhões, maior a probabilidade de gerar fêmeas.

Palavras-chave: Proporção sexual. Idade. Pais.

### Protocolo para receptoras acíclias na transferência de embrião equino

Julio Cesar Ferraz Jacob<sup>1\*</sup>, Paula Junqueira Ferraz<sup>2</sup>, Vitor Souza de Freitas<sup>3</sup>, Laura Ribeiro<sup>1</sup>, Isabela Barroso Domingues<sup>1</sup>, Rafaela Thompson Torres<sup>4</sup>

- <sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil
- <sup>2</sup> Centro de Reprodução Equino Jacob, São Miguel, RJ, Brasil
- <sup>3</sup> Universidade de Vassouras, Vassouras, RJ, Brasil
- <sup>4</sup> Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil

\*Correspondência: juliorep@ufrrj.br

A seleção de éguas receptoras nos programas de transferência de embrião (TE) tem efeito significativo no sucesso dessa bioténica. A sincronia entre o ambiente uterino e o embrião é fundamental para que a gestação se estabeleça. Há alterações importantes no ambiente uterino sob a ação da progesterona, e um embrião em útero não sincronizado pode estar sujeito a níveis hormonais e fatores de crescimento que não correspondem à fase na qual ele se encontra. Além disso, a falta de sincronia pode impedir a "transmissão" do sinal do embrião para o reconhecimento materno. A sincronização realizada entre doadoras e receptoras cíclicas é uma técnica relativamente simples. Pesquisas demonstraram que receptoras cíclicas podem receber embrião entre D3 e D9 (sendo D0 o dia da ovulação), não havendo diferença significativa na taxa de gestação. Existem protocolos hormonais que possibilitam a sincronização entre receptoras e doadoras para maximizar a utilização de receptoras e minimizar o custo e o número de exames transretais e ultrassonográficos para receptoras cíclicas e acíclicas. A combinação de estrógenos (17\beta estradiol, benzoato de estradiol ou cipionato de estradiol) e progestágenos (altrenogest ou progesterona) é utilizada em éguas receptoras de embrião acíclicas, em fase de transição ou quando há escassa disponibilidade de éguas receptoras, tornando necessária uma sincronia estreita entre a doadora e a receptora. Este estudo teve como objetivo demonstrar a eficácia de um protocolo hormonal em receptoras de embrião acíclicas protocoladas e receptoras cíclicas sem protocolo. Foram utilizadas 10 éguas receptoras acíclicas e 11 cíclicas previamente selecionadas por avaliação ultrassonográfica e citologia uterina. Para a citologia uterina das acíclicas, aplicou-se 5 mg de benzoato de estradiol (Estrogin®) e no dia seguinte, com o animal em estro, realizou-se a citologia uterina. Para as cíclicas, a citologia foi realizada durante o estro. No dia da ovulação da doadora iniciou-se o tratamento da receptora da seguinte forma: D1 - aplicação de 2 mg de Estrogin® IM; D2 - aplicação de 3 mg de Estrogin®; D3 - aplicação de 1 mg de Estrogin®; D4 aplicação de 5 ml (1500 mg de P4 300 Botupharma®). Cinco dias após a aplicação de P4, tranferiu-se o embrião Grau I para as receptoras. No dia da TE, aplicou-se 1500 mg de P4 e sete dias após foi realizado o diagnóstico de gestação. Para as receptoras positivas, aplicou-se 1500 mg de P4 uma vez por semana até 100 dias de gestação. Para as éguas receptoras cíclicas, o embrião foi transferido entre D3 e D9. O diagnóstico de gestação foi realizado sete dias após a TE. Os resultados foram: entre as éguas acíclicas, sete gestantes (70%) e três vazias (30%); para as éguas cíclicas foram sete positivas (63,6%) e quatro vazias (36,4%), não havendo diferença significativa entre os grupos em questão (p < 0,05). Podemos concluir que o protocolo utilizado para éguas acíclicas pode ser utilizado sem que haja prejuízo na taxa de gestação.

Palavras-chave: Estrógeno. Progesterona. Doadora.

Agradecimentos: Centro de Reprodução Equina Jacob; FAPERJ.

### Relação do parto com o calendário lunar em equinos: mito ou verdade?

Fernanda Timbó D´el Rey Dantas¹\*, Hortência Campos Mazzo², Isadora Paz Oliveira dos Santos², Natália Buchhorn de Freitas², Rebeca Scalco³, Natália Ribeiro Pinto², Margarida Aires da Silva², Carlos Eduardo Wayne Nogueira², Bruna da Rosa Curcio²

- <sup>1</sup> Crescer Soluções em Obstetrícia, Neonatologia e Pediatria Equina, Salvador, BA, Brasil
- <sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, Brasil
- <sup>3</sup> University of California (UC Davis), Davis, CA, Estados Unidos

\*Correspondência: crescervet@gmail.com

A crença da relação entre o parto e a lua é muito frequente entre as pessoas do campo e, também, entre alguns profissionais da área de saúde. Existem diversas pesquisas avaliando esta relação na espécie humana com resultados controversos, porém, em equinos, há um número limitado de estudos a respeito. A hipótese testada neste trabalho é que há uma maior ocorrência de partos na lua cheia e/ou na transição entre as fases da lua e que a fase da lua tem interferência no tempo gestacional. Com base nisso, os objetivos do presente estudo foram: 1) avaliar se existe alguma fase da lua em que ocorre maior número de partos; 2) verificar se há maior frequência de partos na mudança da fase da lua; 3) averiguar se há mais nascimentos de um sexo específico em determinada fase lunar; 4) verificar se existe diferença no tempo de gestação de acordo com a fase lunar. Foram utilizados dados de 345 partos de éguas da raça Puro Sangue Inglês criadas em haras na cidade de Bagé/RS durante as temporadas reprodutivas de 2018 a 2020. Os partos foram acompanhados por médico veterinário. A análise foi realizada com base nas informações de data e hora de parto registradas e hora exata das quatro principais fases da lua (nova, crescente, cheia e minguante) nesta localidade específica, conforme disponível em website¹ e considerando-se que esta fase dure até a seguinte começar (média de sete dias por fase lunar). Com relação à transição da lua, foram considerados cinco intervalos: (I1) parto em até seis horas do horário da nova fase da lua (antes e depois), (12) entre sete e 12 horas, (13) entre 13 e 24 horas, (I4) entre 25 e 36 horas e (I5) mais de 36 horas após a mudança da fase da lua, ou seja, sem mudança próxima. Foram observados 90 partos na lua nova (26,1%), 75 na crescente (21,7%), 96 na cheia (27,8%) e 84 na lua minguante (24,3%). Nasceram 162 machos e 183 fêmeas. A análise desses dados com o teste qui-quadrado não revelou maior frequência de nascimento de um sexo específico em determinada fase da lua. Entre os intervalos de tempo estudados, verificou-se maior frequência de partos em 15 (sem mudança de lua próxima), no qual foram observados 229 partos (66,4%), seguido por I3, com 46 (13,3%). Nos intervalos I1, I2 e I4 ocorreram 22 (6,4%), 28 (8,1%) e 20 (5,8%) partos, respectivamente. A média de tempo de gestação foi de 345,6 ± 11,2 dias na lua nova,  $345,2 \pm 13,0$  na crescente,  $346,4 \pm 10,8$  na cheia e  $346,3 \pm 10,9$  dias na lua minguante. Esses dados não apresentaram distribuição normal no teste de Shapiro-Wilk, com isso suas médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis e não foi observada diferença estatística. Com base nos dados do presente estudo, sugere-se que não existe relação entre o calendário lunar e o tempo gestacional, parto e gênero do potro na espécie equina.

Palavras-chave: Lua. Fases. Gestação. Égua.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> https://www.timeanddate.com

### Ultrassonografia Doppler na avaliação das artérias uterinas em éguas receptoras de embrião

Camila Silva Costa Ferreira<sup>1\*</sup>, Rita de Cássia Lima Morais<sup>1</sup>, Aline Emerim Pinna<sup>2</sup>

\*Correspondência: vetcamilaferreira@gmail.com

Apesar da alta capacidade da ultrassonografia (US) modo B em fornecer informações em tempo real das estruturas reprodutivas, a técnica se torna limitada quando necessitamos de detalhes sobre a dinâmica vascular destas estruturas, que podem sinalizar alterações de períodos estrais ou até mesmo caracterização de malignidade de doenças precoces. Neste sentindo, a US no modo Doppler contribui com informações mais detalhadas e precisas da arquitetura vascular e dos aspectos hemodinâmicos dos vasos sanguíneos para tomadas de decisões pelos médicos veterinários. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar os índices de resistividade (RI) e pulsatilidade (PI) dos ramos dorsais das artérias uterinas a fim de auxiliar na escolha da melhor receptora de embrião. O estudo foi realizado na estação de monta 2018/2019 num haras particular situado no estado do Rio de Janeiro. Foram utilizadas 41 éguas receptoras de embriões, distribuídas em cinco grupos de acordo com o dia pós-ovulação, sendo considerado D0 o dia da ovulação: D4 - éguas que se encontravam no quarto dia pós-ovulação; D5 éguas que se encontravam no quinto dia pós-ovulação; e assim sucessivamente para D6, D7 e D8. No dia da transferência do embrião (TE), o corpo-lúteo (CL) das éguas selecionadas foi avaliado pela US modo B e pelo modo Doppler Power Flow, e os ramos dorsais direito e esquerdo das artérias uterinas foram aferidos pela US Doppler modo espectral. Em seguida, foram coletadas amostras de sangue para dosagem de P4 por radioimunoensaio. As variáveis analisadas foram PI e RI das artérias uterinas, concentração de P4, avaliação subjetiva e objetiva da vascularização do CL pela US Doppler modo Power Flow e mensuração de área e volume do CL. Das 41 éguas avaliadas no experimento, 35 tiveram diagnóstico positivo de gestação. Verificou-se a presença de uma correlação forte e positiva entre PI x RI total das artérias uterinas (r = 0,7); uma correlação forte e positiva entre a área e o volume do CL mensurados através de medidas próprias do aparelho de ultrassom (r = 0,8); e uma correlação forte e positiva entre as avaliações objetivas e subjetivas do exame de US Doppler modo Power Flow (r = 0,7). Na avaliação das éguas de acordo com o dia da inovulação do embrião, encontrou-se diferença na variável RI entre os grupos D5 x D6 (p = 0.0053) e D6 x D8 (p = 0.0036). Já na variável PI, a diferença encontrada foi entre os grupos D4 x D8 (p = 0.049), D5 x D6 (p = 0.0446) e D6 x D8 (p = 0.0024). Desta forma, observou-se que mensuração de RI dos ramos dorsais das artérias uterinas próximas a 1,0 são proporcionais a équas com maior vascularização do CL e uma elevada concentração plasmática de progesterona. Não foi possível, porém, comprovar a utilização deste índice para selecionar éguas com maior aptidão para o desenvolvimento do embrião ao comprar duas éguas semelhantes clinicamente por exames ultrassonográficos convencionais.

Palavras-chave: Transferência embrionária. Diagnóstico por imagem. Doppler.

**Agradecimentos:** FAPERJ.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

### Ultrassonografia Power Doppler na avaliação de corpos lúteos trabeculados em éguas

Camila Silva Costa Ferreira<sup>1\*</sup>, Rita de Cássia Lima Morais<sup>1</sup>, José Antônio Silva Ribas<sup>2</sup>, Aline Emerim Pinna<sup>2</sup>

\*Correspondência: vetcamilaferreira@gmail.com

O corpo-lúteo (CL) é a glândula endócrina temporária produtora de progesterona (P4), hormônio cuja secreção contínua é essencial para o início e a manutenção da gestação. Em éguas, porém, algumas vezes esse CL pode se organizar de forma heterogênea, sendo classificado como CL trabeculado (CLT) por não apresentar ao centro de sua estrutura a formação de tecido luteínico e, sim, uma organização trabeculada, com uma pequena faixa de tecido luteal na sua periferia. Para a avaliação do CL em éguas, principalmente em programas de transferência de embriões, a ultrassonografia modo B vem sendo utilizada para a escolha da melhor receptora a ser utilizada para a inovulação do embrião. As variáveis analisadas são a área e o volume do CL, que normalmente tem uma correlação positiva com a produção de P4. Contudo, a ultrassonografia Doppler vem demonstrando uma correlação maior entre o fluxo sanguíneo luteal e a concentração sanguínea de P4 quando comparado à área do CL. Desta forma, o objetivo do estudo foi realizar uma avaliação do fluxo sanguíneo de CLT através da ultrassonografia (US) Power Doppler, correlacionando-o com a concentração de P4 e taxa de gestação em éguas receptoras de embriões. O projeto foi realizado em um haras particular no estado do Rio de Janeiro durante a estação reprodutiva 2018/2019. Dos 41 CL avaliados no experimento, 11 foram classificados como CLT e 30 como CL (grupo controle). As éguas foram examinadas utilizando-se o equipamento Doppler Sonoscape S2V® com transdutor linear transretal. As avaliações foram realizadas no dia da inovulação do embrião pela US modo-B para aferição de área e volume do CLT, e pela US Power Doppler para observar a perfusão sanguínea do CLT. De forma subjetiva, estimou-se em tempo real a porcentagem (0 a 100%) de tecido luteal com sinais coloridos visualizados durante exame ultrassonográfico. Adicionalmente, a perfusão luteal foi avaliada de forma objetiva através da determinação da quantidade de pixels em imagem congelada através de softwares de análise de imagem. Já para a dosagem da P4 sérica foi realizado radioimunoensaio em fase sólida. A maioria dos CLTs (6/11) foram observados no quarto dia (D4) pós-ovulação (55%) e em D5 (2/11) e D6 (3/11). Os CLTs observados foram classificados com escore 3 (50% de vascularização) e escore 4 (≥ 75% de vascularização). Observou-se forte correlação entre as avaliações subjetivas e objetivas da vascularização (r = 0,7). A dosagem de P4 dos CLTs, mensurada no dia da inovulação dos embriões, apresentou média de 11,42 ± 3,76 ng/ml sem diferença estatística (p = 0,5298) quando comparada à dosagem de P4 do grupo com CL, que apresentou média de 10,62 ± 3,78. A taxa de prenhez foi de 90%, mantendo-se dentro do esperado dentro de um programa de transferência de embriões equinos. A concentração de P4 e a taxa de gestação não foram influenciadas pelos CLTs. Desta forma, concluise que devido à comprovação das concentrações normais de P4, vascularização lútea dentro do considerado adequado e altas taxas de gestação das receptoras de embrião, éguas com CLT podem ser utilizadas dentro de um programa de transferência de embrião e selecionadas pela ultrassonografia Power Doppler.

Palavras-chave: Corpo-lúteo. Ultrassom Doppler. Receptoras.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

## Uso de progesterona e anti-inflamatório de longa ação em um programa comercial de transferência de embriões equinos

Isabela Barroso Domingues<sup>1\*</sup>, Julio Cesar Ferraz Jacob<sup>1</sup>, Paula Junqueira Ferraz<sup>2</sup>, Quivia dos Santos Cardoso<sup>1</sup>, Natalia Oliveira Lopes<sup>1</sup>

\*Correspondência: isabelabdomingues@hotmail.com

A transferência de embriões (TE) é uma biotécnia bastante utilizada em equinos, sendo um dos seus maiores problemas a perda embrionária na receptora. Dois fatores são importantes causas dessas perdas: a disfunção do corpo-lúteo (CL), com menor produção de progesterona, e a manipulação cervical no momento da TE, que pode ocasionar uma resposta inflamatória no útero, liberando  $PGF2\alpha$ e desencadeando a luteólise, acarretando na perda do embrião. Na tentativa de diminuir essa perda, é usual a administração de progesterona e anti-inflamatórios no momento da TE, sendo a progesterona utilizada para garantir um ambiente uterino favorável ao desenvolvimento do embrião. Ela já está sendo produzida pelo corpo-lúteo (CL) quando a receptora está cíclica, mas não é possível garantir que a concentração esteja adequada para manter a gestação. A mensuração da progesterona sérica se torna inviável devido aos custos e manejo. Os anti-inflamatórios, como flunixim meglumine, fenilbutazona e meloxicam, já foram testados em alguns estudos, no entanto, estes fármacos podem prejudicar a produção de prostaglandinas pelo concepto e alterar o mecanismo de mobilidade embrionária e reconhecimento materno fetal. O uso do meloxicam diminuiu a mobilidade embrionária nas primeiras 24 horas de sua aplicação em alguns estudos, mas estes não fizeram uso concomitante com a progesterona e não foi investigado se a diminuição da motilidade afetou a taxa de gestação. Neste contexto, objetivou-se avaliar se o uso da P4 e/ou anti-inflamatório melhora a taxa de gestação. Foram utilizadas 120 receptoras de cinco haras situados na região de Três Rios/RJ e Zona da Mata Mineira. As receptoras cíclicas foram divididas em quatro grupos: GI (n = 38), controle; GII (n = 28), 1,5 g de P4 L.A. (Biorelease Technologies®); GIII (n = 17), 1,5 g de P4 L.A. e 1,5 g de meloxicam (BioRelease Technologies®); GIV (n = 8), 1,5 g de meloxicam (BioRelease Technologies®). O embrião foi transferido para as receptoras a partir de D4 até D9, e no dia da TE foram realizados os tratamentos de acordo com os grupos. Os resultados obtidos aos 15 dias de prenhes foram: GI (32/38), GII (23/28), GIII (14/17) e GIV (7/8). Aos 30 dias: GI (31/38), GII (22/28), GIII (13/17) e GIV (7/8). Aos 60 dias: GI (29/38), GII (21/28), GIII (12/17) e GIV (5/8). O diagnóstico de gestação foi realizado sete dias após a TE e a confirmação da gestação com 30 e 60 dias. Mediante resultados, aumenta-se a taxa de prenhes nas receptoras, diminuindo o custo da TE para os criadores e aumentando o ganho financeiro dos veterinários.

**Palavras-chave:** Progesterona. Meloxicam. Transferência de embriões.

Agradecimentos: Bet Laboratório; Financiamento CAPES.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Centro de Reprodução Equino Jacob, São Miguel, RJ, Brasil