INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA CAMPUS SOUSA/UNIDADE SÃO GONÇALO BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA



ALINE FRANCELINA DE QUEIROS

ALINE FRANCELINA DE QUEIROS

AVALIAÇÃO UTERINA E CERVICAL DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO EQUINO NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO

Orientador: Prof. MSc. Luis Eduardo Pereira de Andrade Ferreira

Coorientador: Prof. DSc. Daniel Cézar da

Silva

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

.

Q3a Queiros, Aline Francelina.

Avaliação uterina e cervical de receptoras de embrião equino no agreste meridional de Pernambuco. / Aline Francelina Queiros - Sousa, 2016.

41f.

Orientador: MSc. Luis Eduardo Pereira de Andrade Ferreira. Coorientador: DSc. Daniel Cézar Silva.

Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Instituto Federal da Paraíba – IFPB.

1. Medicina Veterinária. 2. Ultrassonografia 3. Embrião. I. Título.

 $IFPB / BC \qquad \qquad CDU - 619$



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA CAMPUS SOUSA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:	AVALIAÇÃO	UTERINA	E	CERVICAL	DE	RECEPTORAS	DE	EMBRIÃO
EQUIN	O NO AGRESTI	E MERIDIO	NA	L DE PERNA	MBU	JCO		

Autor: Aline Francelina de Queiros

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado pela Comissão Examinadora em: /

Prof. MSc. Luis Eduardo Pereira de Andrade Ferreira Orientador

19414

Profa. DSc. Ana Valéria Mello de Souza Marques Examinadora Interna

Profa. MSc. Lisanka Ângelo Maia Examinadora Interna

Aos meus pais Francisco e Lucinei, minha irmã Alana, e toda a minha família, pelo apoio, compreensão, carinho e amor.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ouvir todas as minhas orações em momentos difíceis e estar sempre ao meu lado me protegendo.

Aos meus pais Francisco Francelino dos Santos e Lucinei Queiros dos Santos (Painho e Mainha) meus melhores amigos e incentivadores, por tamanha dedicação, exemplo e amor; pelo sacrifício para que eu concluisse mais uma etapa de minha vida, apoiando todas as minhas decisões. Que por muitas vezes abriram mão de seus próprios sonhos para que os meus se tornassem realidade. Verdadeiros exempos de luta, honestidade, perseverança e fé! A vocês minha eterna gratidão.

Aos amigos que fiz ao longo dos anos... Érica Oliveira e Élida Ramalho por terem compartilhado comigo não só a casa, mas a amizade, paciência e longas risadas. Aos meus amigos de graduação: Edla Íris, Jocélio, Ricardo, Segundo, Aldcejam, Morgana, Bismark, Luis Fernando e Paulo que sempre estiveram presentes na alegria e no aperreio.

Por terem se tornado um grupo de amigos inseparáveis que me proporcionou momentos de muita ciência, ajuda nos projetos de pesquisa, gargalhadas infinitas, e principalmente pelas noites de muito forró e "despesas" de tantos almoços não pagos.

Aos meus avós, tios e primos, que em muitos momentos assumiram a forma de pais, confiando todas as suas fichas em mim, o meu muito obrigado.

Ao meu orientador e amigo Luis Eduardo Andrade, pela orientação, disponibilidade e contribuição dada para o desenvolvimento do experimento e concretização deste trabalho de monografia. Pelo carinho, incentivo e apoio em meus primeiros passos na reprodução de equideos.

Ao professor Daniel Cézar da Silva pela coorientação, disponibilidade e atenção com que sempre me atendeu. Por ajudar pacientemente com as minhas dúvidas e questionamentos intermináveis, colaborando da melhor maneira para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu primo Everton Quirino pelo apoio, incentivos constantes e principalmente pelo carinho. A minha prima Grasiete Queiroz, pelo companheirismo nos momentos em que a tarefa parecia grande, pesada demais, quase impossível, pude compartilhar com você minhas angustias e inquietações. E principalmente, por me mostrar que temos sempre que olhar para o outro e oferecer não o que esperamos receber, mas sim o que o outro realmente precisa.

Aos professores da graduação, em especial Francisco Nogueira por me permitir iniciar na pesquisa científica. E a todos cujos nomes não foram citados, mas que contribuíram de forma direta ou indiretamente para a realização desse trabalho e conclusão de mais essa etapa.

E finalmente, aos animais, aqueles que foram confiados em nossas mãos, para os cuidados clínicos e cirúrgicos. A todos estes, o meu muito obrigado.

"Crê em ti mesmo, age e verá os resultados. Quando te esforças, a vida também se esforça para te ajudar." Francisco Cândido Xavier

AVALIAÇÃO UTERINA E CERVICAL DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO EQUINO NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO

RESUMO - Objetivou-se nessa pesquisa avaliar a implantação embrionária em éguas receptoras de embriões diante das modificações da tonicidade (T1 = Mais tenso; T2 = Tenso, porém um pouco menos do que T1; T3 = Mais flácido que T1 e T2, porém ainda diferente do tônus no estro; T4 = Flácido, característico do estro), edema uterino (ED0 = Útero na fase de diestro - sem edema; ED1 = Leve edema; ED2 = Moderado; ED3 = Marcante em todo o útero; ED4 = Máximo, com pequena quantidade de líquido; ED5 = Anormal, ecotextura padrão descaracterizada) e cérvix (C1 = Fechada; C2 = Intermediário; C3 = Aberta), visando caracterizar o melhor estágio uterino da receptora para a inovulação. Foram utilizadas 12 éguas Quarto de Milha como doadoras e 98 éguas mestiças como receptoras e destas, 39 foram selecionadas para receber embriões, sendo preparadas três para cada doadora. As mesmas foram submetidas a exame do trato reprodutivo via palpação retal e ultrassonografia para determinação das características de tônus, edema uterino e cérvix. Na avaliação das características de tonicidade uterina, as éguas prenhes apresentaram taxas de 25,64% para T1; e 23,07% para T2. Dos animais com T1, apenas 54,16% (13) apresentaram as demais características do sistema genital desejáveis, sendo classificadas como aceitáveis. Para as éguas vazias com escore T1, houve percentual de 35,89% seguido de T2 com 15,38%. A classificação de edema com relação às éguas prenhes apresentaram taxas de 28,20; 17,95; e 2,56%, para ED0; ED1; e ED2, respectivamente. Para éguas vazias, observou-se elevação em ED0, com valor de 35,87%, seguido do ED1, com 15,38%. Com relação às características cervicais houve percentual de 35,89% para C0 e 12,82% para C1 referente às fêmeas prenhes, e para éguas vazias constatou-se valor de 51,28% para C0. Houve maior percentual de fêmeas vazias em relação às prenhas, embora, ambas as classificações encontram-se dentro das características ideais para a transferência de embriões. Contudo, possíveis variações podem ser explicadas provavelmente por défice alimentar e mineral.

Palavras-Chave: Implantação embrionária. Transferência de embrião. Ultrassonografia

EVALUATION AND UTERINE EQUINE EMBRYO RECIPIENTS OF CERVICAL IN AGRESTE PERNAMBUCO SOUTHERN

ABSTRACT - This research aimed to evaluate the embryo implantation in embryo recipient mares on the changes of tone (T1 = More tense, T2 = Tense, but slightly less than T1, T3 = More flaccid T1 and T2, but still different from the tone in estrus, T4 = Baggy, characteristic of estrus), uterine edema (ED0 = Uterus in the diestrus phase - no edema; ED1 = Mild edema; ED2 = Moderate; ED3 = Marked around the uterus, ED4 = Max with a small amount of liquid, ED5 = abnormal echotexture un characterized standard) and cervix (C1 = Closed; C2 = Intermediate; C3 = Open), to characterize the best of the receiving stage for uterine embryo transfer. They used 12 Quarter Horse mares as donors and 98 mares as recipients and of these, 39 were selected to receive embryos, and prepared three for each donor. They were submitted to examination of the reproductive tract via rectal palpation and ultrasound to determine the tone characteristics, uterine edema and cervix. In assessing the characteristics of uterine tone, the pregnant mares showed 25.64% rates for T1; and 23.07% for T2. Animals with T1, only 54.16% (13) were the other characteristics of the genital system desirable, being classified as acceptable. To empty mares with T1 score, there was a percentage of 35.89% followed by T2 with 15.38%. The edema classification with respect to pregnant mares had rates of 28.20; 17,95; and 2.56% to ED0; DI1; and ED2 respectively. To empty mares, it was observed increase in ED0, with a value of 35.87%, followed by ED1, with 15.38%. Regarding cervical characteristics were percentage of 35.89% to 12.82% and C0 to C1 referring to pregnant females, and empty mares found out value of 51.28 % for C0. There was a higher percentage of females compared to empty pregnant, although both are within ratings of ideal characteristics for the transfer of embryos. However, some variations can probably be explained by food and mineral deficit.

Keywords: Embryo implantation. Embryo transfer. Ultrasonography

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pá	ígina
Figura 1 -	Ovários de égua (A); Desenho esquemático da anatomia ovariana (B)	14
Figura 2 -	Lote de receptoras	23
Figura 3 -	Avaliação ultrassonográfica do ovário e mensuração folicular	23
Figura 4 -	Classificação ultrassonográfica de edema uterino em éguas	25
Figura 5 -	Lavagem uterina - Infusão ringer com lactato (A); Filtração do lavado	26
	(B).	
Figura 6 -	Manutenção do embrião (esquerda), Placa de petri para lavagem (direita)	27
Figura 7 -	Inovulação de embrião em receptora (A); Material utilizado (B)	28
Quadro 1 -	Classificação do tônus uterino segundo a metodologia de Andrade Moura	
	(2012)	24
Quadro 2 -	Classificação do edema uterino segundo a metodologia de Andrade	
	Moura (2012)	24
Quadro 3 -	Classificação das características cervicais segundo HUGHES et al. (1977)	
	adaptado	25
Gráfico 1 -	Taxa de prenhez com relação às características de tonicidade uterina	29
Gráfico 2 -	Taxa de prenhez com relação às características de edema uterino	31
Gráfico 3 -	Taxa de prenhez com relação às características cervicais	33

LISTA DE ABREVIAÇÕES

BSA – Albumina do Soro Bovino

eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

IA – Inseminação Artificial

IM - Intramuscular

LH – Hormônio Luteinizante

MHz-Megahertz

PB - Proteína Bruta

PGE2 – Prostaglandina E2

P4 - Progesterona

TE – Transferência de Embriões

USG - Ultrassonografia

SUMÁRIO

J	Página
1 INTRODUÇÃO	12
1 INTRODUÇÃO2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ANATOMIA DO SISTEMA GENITAL DA ÉGUA	14
2.2 FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA ÉGUA	15
2.3 RECONHECIMENTO MATERNO E GESTAÇÃO	17
2.4 EXAME GINECOLÓGICO	18
2.4.1 Genitália externa	18
2.5 EXAME TRANSRETAL	
2.6 USO DA ULTRASSONOGRAFIA NA AVALIAÇÃO DA ECOTEXTURA	
UTERINA	20
2.7 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 LOCALIZAÇÃO	
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS	22
3.3 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DO APARELHO REPRODUTIVO	
3.4 PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO E SELEÇÃO DAS ÉGUAS	
RECEPTORAS	24
3.5 COLETA DE MBRIÃO	
3.6 INOVULAÇÃO DO EMBRIÃO	27
4 RESULTADOS	
4.1 TÔNUS UTERINO	
4.2 EDEMA UTERINO	
4.3 CÉRVIX	
5 DISCUSSÃO	
5.1 TÔNUS UTERINO	32
5.2 EDEMA UTERINO	
5.3 CÉRVIX.	
6 CONCLUSÃO	
7 DEFEDÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento e desenvolvimento do mercado equestre no país, que reune diferentes segmentos da economia e movimentam anualmente bilhões de reais, a busca por maior produtividade e lucratividade tem imposto medidas para incrementar os resultados de fertilidade, principalmente no que diz respeito à melhoria genotípica e fenotípica em equinos, o que orienta para necessidade de aprimoramento das biotecnologias da reprodução.

A inseminação artificial (IA) e a transferência de embrião (TE) na espécie equina são biotécnicas de grande importância para a referida exploração zootécnica. A versatilidade desta espécie caracteriza-se como o principal agente responsável pelo crescimento mundial da equideocultura. Estas biotecnologias permitem o maior desenvolvimento do setor através do avanço na eficiência reprodutiva, promovendo melhor aproveitamento desses animais, acelerando a evolução das raças e seus cruzamentos.

A expansão da transferência de embrião veio pela necessidade de maximizar a utilização de fêmeas com conhecido mérito genético (doadoras), aproveitando maior quantidade de folículos, que normalmente se tornariam atrésicos, levando vários pesquisadores a desenvolver alternativas de potencialização como protocolos superovulatórios, sendo possível superovular a fêmea, inseminá-la e posteriormente transferir seus embriões para animais de menor valor genético e comercial (GONÇALVES et al., 2008).

Em conseguinte, a transferência de embriões de animais de elevado valor zootécnico para receptora, tem sido técnica largamente empregada, com o intuito de ultrapassar os problemas relacionados à reprodução de equinos, técnica esta consolidada em bovinos e que apesar das dificuldades de superovulação na espécie equina tem possibilitado a utilização de ciclos subsequentes e a produção de maior número de descendentes/ano em curto espaço de tempo.

A eficiência reprodutiva em programas de TE equino é deliberada pelos índices de recuperação embrionária e taxa de prenhez, que por sua vez são manipulados por variadas condições. O percentual de éguas prenhes após TE é comprometido primariamente pelos seguintes fatores: a receptora, o embrião e a doadora pela qual o embrião foi gerado. Cada um destes fatores relacionados à taxa de prenhez tem sido largamente estudado, havendo concordância em relação ao papel primordial exercido pela receptora na TE (ALONSO, 2007).

As éguas receptoras foram classificadas durante muito tempo como animais inferiores, com restrições relativas à sanidade e nutrição. Contudo, no momento, ocupam posição

importante dentro das deliberações do plantel comercial de TE. Necessitando considerar alguns fatores como: o escore corporal, idade (3 a 10 anos), o tipo e o tamanho ideal da receptora (o mais próximo da doadora), características vulvar e uterina, e alimentação adequada (ALVARENGA et al., 2008).

A utilização da ultrassonografia (USG) na avaliação reprodutiva possibilita um acompanhamento de maneira mais concisa, favorecendo de forma significativa as técnicas de IA e TE, devido o seu aperfeiçoamento na avaliação da dinâmica folicular, determinação do momento da ovulação, caracterização do tônus uterino precisando o momento da inovulação e diagnóstico da gestação, tornando os dados mais confiáveis, quando comparado à palpação retal, transformando-se em instrumento imprescindível para o médico veterinário especializado em reprodução equina (PENA-ALFARO; BARROS, 2011).

A determinação de metodologia concreta e confiável, visando à escolha da receptora de embrião mais adequada e com maiores probabilidades de diagnóstico positivo de prenhez, consiste no ponto decisivo do programa de TE; sua adequada seleção e manejo deliberarão em grande parte o sucesso da técnica.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a implantação embrionária em éguas receptoras de embriões diante das modificações da cérvix, tonicidade e edema uterino, visando caracterizar o melhor estágio uterino da receptora para a inovulação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA DO SISTEMA GENITAL DA ÉGUA

O aparelho reprodutor da égua é análogo ao das demais fêmeas de outras espécies domésticas, embora apresentem peculiaridades quanto a posição, tamanho, entre outras estruturas micro e macro anatômicas. Os principais órgãos reprodutores femininos incluem os ovários, genitália tubular interna (ovidutos, útero, cérvix e vagina) e externa (vulva) (LEY, 2006). Estes órgãos são, em parte, funcionalmente dependentes de interações entre hormônios e receptores hormonais, especialmente dos neuroendócrinos, produzidos e secretados pelo hipotálamo e hipófise (SAMPER, 2009).

Na caracterização realizada por LEY (2006) os ovários encontram-se pendentes de cada lado da coluna vertebral, pelo bordo anterior do ligamento largo, estando fixados a este por meio de uma porção diferenciada do mesmo ligamento, o mesovário. A medula ou zona vascular tem localização superficial, enquanto que o córtex ou zona cortical que contém os folículos encontra-se no interior do ovário, local onde ocorre a liberação dos óvulos denominada fossa ovulatória (Figura 1), diferente dos outros mamíferos onde a ovulação se dá por toda a superfície do ovário (SILVA, 2005).

Fimbria

Ovarian fossa

Fossa ovulatória

CR 2317

Redulla

Cortex

Tunica albuginea

Figura 1 - Ovários de égua (A). Desenho esquemático da anatomia ovariana (B)

Fonte: bloganatomiaveterinaria.files.wordpress.com

O oviduto é o canal que faz a ligação entre os ovários e útero e pode ser dividido em três zonas: o infundíbulo, a ampola e o istmo. A fossa ovulatória encontra-se intimamente

associada ao infundíbulo, que conduz os óvulos até à porção mais larga do canal, a ampola, onde se dá a fertilização. O istmo liga a ampola ao útero. Somente os óvulos que sofrem fertilização passam pela junção utero-tubular até ao útero para implantação e posterior desenvolvimento (LEY, 2006).

De acordo com GINTHER et al. (2007) e SISSON (2008), a égua apresenta útero bipartido, em forma de Y ou T, com dois cornos e saliente corpo uterino. Órgão muscular ôco adjacente aos ovidutos e a cérvix, está situado na cavidade abdominal, mas estende-se por uma curta distância dentro da cavidade pélvica. As laterais do útero são conectadas às paredes pélvicas e abdominais pelo ligamento largo, sendo este o principal responsável pelo suprimento sanguíneo, linfático e nervoso do útero. Os cornos estão dentro da cavidade abdominal, e no estado não gestante apresentam cerca de 20-25 cm.

A cérvix ou colo do útero é uma estrutura semelhante a um esfíncter, com aproximadamente seis centímetros que se projeta caudalmente na vagina, onde esta é composta por proeminências, dobras da mucosa as quais a mantém normalmente fechada com auxílio de tampão mucoso (SILVA, 2005).

A vagina se estende através da cavidade pélvica desde o colo do útero até a vulva, e possui mucosa aglandular e tecidos fibroelásticos que facilitam a passagem do feto no momento do parto. A vulva, parte do trato genital comum aos sistemas urinário e reprodutivo, compreendem dois lábios, o clitóris e seus seios, a fossa e a glande. Sua principal função é a proteção da entrada da vagina. O clitóris apresenta-se como glândula arredondada que ocupa a comissura ventral da vulva. Sua glande mede aproximadamente dois e meio centímentros de diâmetro e é revestida por uma prega de pele, ficando cercada pela fossa do clitóris (LEY, 2006).

2.2 FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA ÉGUA

Os equinos são animais poliéstricos estacionais e apresentam ciclos reprodutivos ininterruptos numa determinada época do ano, geralmente na primavera e verão que coincide com o aumento da luminosidade, ou seja, pelo aumento do fotoperíodo (CHEMINEAU et al., 2008). Apesar de alguns animais, em certas latitudes, manifestarem ciclos estrais durante todo o ano, eles não necessariamente procriam em todos os períodos estrais (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Conforme CUERVO-ARANGO e CLARK, (2010) a continuidade do fotoperíodo controla a dinâmica reprodutiva através da neuromodulação da secreção do hormônio

liberador de gonadotrofinas (GnRH). Período entre 15 a 16 horas de estímulo luminoso seja em ambiente natural ou iluminação artificial agem sobre o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal para reduzir a produção de melatonina. Quando este hormônio é liberado pela glândula pineal, impede a sintetização de GnRH pelo hipotálamo.

A frequência e amplitude dos pulsos da secreção de GnRH pelo hipotálamo possui relação direta com a produção hipofisária e permite a liberação dos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH). Os ovários através dos seus receptores tornam-se responsivos ao FSH e ao LH estimulando o recrutamento, seleção e dominância folicular (LEY, 2006).

O ciclo estral fisiológico da égua persiste cerca de 21 dias, sendo que o estro dura de quatro a sete dias, podendo sofrer uma variação entre 2-12 dias no início da estação, e o diestro de 14-15 dias (COSTA, 2014). Essa regularidade fundamenta-se no minuncioso equilíbrio entre os hormônios sintetizados pela glândula pineal, hipotálamo, hipófise e os ovários, associados ao manejo a que esses animais são submetidos (MARTINS, 2011).

De acordo com PYCOCK (2008a), o ciclo na égua pode ser dividido em duas fases: folicular e lútea. A folicular ou estro é a fase que há predominância dos folículos produtores de estrógenos, é o momento em que a égua encontra-se sexualmente receptiva ao macho, seu trato genital está pronto para receber e transportar o sêmen até o local da fertilização.

Essa fase em éguas é caracterizada pela presença de folículo com mais de 25 mm de diâmetro no ovário. A quantidade crescente de estradiol produzida pelos folículos ovarianos induzem o comportamento de cio e o aumento dos níveis de LH pela ativação dos seus receptores na célula da granulosa, por conseguinte a ovulação dos folículos maduros com aproximadamente 40 a 45 mm e a formação do corpo lúteo (CL) (GINTHER et al., 2008b).

A fase lútea é também chamada diestro, onde há prevalência do corpo lúteo, aumento da produção de progesterona (P4) e indifereça da égua ao cortejo do garanhão, onde seu aparelho genital está organizado para desenvolver um embrião. O período de diestro finaliza com a luteólise e o início da próxima fase folicular (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Na maioria das espécies domésticas, a ovulação ocorre 24 a 40 horas após pico ovulatório de LH. Exceto na égua, a ovulação acontece antes desse pico, uma vez que os níveis de LH sanguíneo estão aumentando lentamente, ocorrendo o pico aproximadamente 48 horas após a ovulação (GINTHER et al., 2008a).

A ovulação ocorre pela ruptura da parede folicular na região da fossa ovulatória, admitindo que o fluído folicular, células da granulosa e o oócito sejam liberados. Desse modo, ocorrerá colapso da parede folicular, possível de ser sentido à palpação retal, caracterizado

como cratera ou depressão no local anteriormente ocupado pelo folículo, ou visualizado em ultrasonografia como zona hiperecogênica, denominando-se de corpo lúteo (CL) (SAMPER, 2009).

Geralmente, o corpo lúteo em desenvolvimento tem vida útil de até 85 dias, caso o endométrio não libere prostaglandina para a luteólise permanecerá a produção de progesterona e não sofrerá regressão. Entretanto, nos ciclos estrais normais a luteólise corre em torno de 15 dias. Acredita-se que o reconhecimento materno da gestação na égua que ovula e é adequadamente coberta ou inseminada, com movimentação embrionária livre e que consiga produzir estrógeno para suprimir a liberação endometrial de prostaglandina, deva ocorrer entre os dias 12 e 14 após a ovulação produtiva (LEY, 2006).

2.3 RECONHECIMENTO MATERNO E GESTAÇÃO

O desenvolvimento embrionário inicial depende de sua perfeita interação com o ambiente uterino. O endométrio necessita estar em ótimas condições para receber o concepto, e sem qualquer estrutura que impeça a sua migração no interior do lúmen, visto que é nessa fase que o reconhecimento materno da gestação acontece (CAIXETA et al., 2008).

No quinto dia pós-ovulação o embrião entra no útero, favorecido pela produção de prostraglandina E2 (PGE2), que induz a contratilidade miometrial e consequentemente o rolamento da vesicula embrionária pelo lúmen dos cornos uterinos (GAIVÃO; STOUT, 2007). Essa movimentação é substancial entre os dias 8 e 16 de gestação, para que o embrião sinalize a sua presença e evite a lise do corpo lúteo (ARAR et al., 2007).

A manutenção da prenhez exige a produção de hormônios sintetizados pela placenta e pelo concepto. A progesterona possui ação direta no endométrio uterino a fim de controloar a diferenciação celular e sua funcionalidade. O estrógeno produzido pelo feto estimula a elevação do tônus uterino, o diâmetro da vesícula embrionária e o espessamento da parede do útero, além de ancorar o embrião no lúmen uterino por volta do 16º dia de gestação. Mesmo após a fixação da vesícula embrionária no corno uterino, o miométrio continua a contrair-se promovendo sua rotação, guiando o embrioblasto para a região ventral do útero (GAIVÃO; STOUT, 2012).

No caso da não ocorrência da luteólise entre 14 e 16 dias após inseminação o corpo lúteo continuará funcional, contudo a síntese de progesterona entra em declínio progressivo por aproximadamente 20 dias seguintes, sendo necessário que corpos lúteos acessórios

formados através da estimulação da gonadotrofina coriônica equina (eCG) entrem em ação para suprir sua demanda (BERGFELT; ADAMS, 2007).

O eCG é produzido pelos cálices endometriais, que segundo DE MESTRE et al. (2008), são formados por células trofoblásticas que após se multiplicarem, por volta de 36 a 38 dias migram profundamente no endométrio materno, constituindo essas estruturas que são exclusivas aos equídeos.

O FSH hipofisário e o eCG auxiliam na produção de progesterona pelos corpos lúteos acessórios até o momento em que a unidade feto-placenta torne-se autosuficiente e consiga secretar progesterona em quantidade satisfatória, o que sobrevém por volta de 70 dias de gestação, quando os cálices endometriais passam a desnaturar-se (ANTCZAK et al., 2013).

Após cerca de 120 dias com a gestação de fato estabelecida, constitui-se o microcotilédone, a principal unidade de troca hemotrófica da placenta alantocoriônica, continuando a gestação até seus 11 meses (DE MESTRE et al., 2008)

2.4 EXAME GINECOLÓGICO

2.4.1 Genitália externa

A avaliação visual da conformação pélvica pode apresentar alterações expressivas de que o animal pode vir a desenvolver pneumovagina, urovagina ou indicativos para cirurgia de reparação vulvar, além de outros fatores que interfiram na fertilidade da égua (RICKETTS, 2008a).

Desse modo, vagina e ânus precisam estar posicionados no mesmo plano, visto que uma vulva mais protuberante e/ou um ânus mais profundo predispõe a infecções ascendentes, resultantes de pneumovagina e de contaminação fecal (RIET CORREA, 2007; SAMPER, 2009).

2.5 EXAME TRANSRETAL

O exame transretal faz parte do protocolo de avaliação do trato reprodutivo (cérvix, útero e ovários) de grandes animais e tem como finalidade avaliar tônus e formato de várias estruturas, além de diagnosticar uma possível gestação. Deve ser realizado por profissional capacitado, com o animal devidamente contido, sendo feito uso de luva específica além de mão e braço bem lubrificados, a fim de evitar traumatismos como a ruptura da mucosa retal em animais ariscos (SAMPER, 2009).

A palpação dos ovários provê informações fundamentais quanto à ciclicidade e desordens ovarianas. Durante o anestro a maioria das éguas apresentam ovários pequenos, com aproximadamente três centímetros de diâmetro. Quando na primavera, com o aumento do foto período e início do ciclo, os ovários podem alcançar o dobro do seu tamanho normal, chegando a medir até dez centímetros durante o estro, sendo possível senti-los na manipulação (RICKETTS, 2008a).

Na palpação transretal, a cérvix e o corpo do útero estarão situados na cavidade pélvica. O útero será reconhecido como tecido delicado e pouco friável, as características da cérvix apresenta-se-ão de forma semelhante ao útero conforme as diferentes fases do ciclo e os ovários e os cornos uterinos estarão localizados no abdómen caudal (SAMPER, 2009).

Com a palma da mão na região dorsal e os dedos "em concha" sobre a margem cranial do útero, desloca-se a lateralmente de um corno uterino ao outro, sendo possível dessa forma avaliar tamanho e tônus uterino, bem como constatar se existe gestação ou indicativo de alguma patologia, caudalmente a região da bifurcação uterina é possivel localizar a cérvix, como uma estrutura um pouco mais consistênte que o útero (MCKINNON et al., 2011).

Durante a fase folicular ou cio, o útero apresenta-se relaxado e com tônus diminuído se comparado ao diestro onde este permanecerá com formato tubular e tonicidade aumentada, a cérvix exibirá encurtamento e edema, contudo quando a ovulação se aproxima torna-se flácida com acentuado achatamento (PINEDA; DOOLEY, 2003).

No diestro, com a produção de progestágenos pelo corpo lúteo (CL) as células endometriais aumentam de sobremodo seu volume e a camada superficial infiltra-se de células de defesa, concomitante ocorre à redução do edema, tornando o útero mais firme a manipulação. Sob estímulo do estrógeno e progesterona, o útero passa a produzir secreções glandulares, líquido rico em proteínas e carboidratos para o lúmen uterino, que será responsável pela nutrição primária do óvulo fertilizado (ANDRADE MOURA, 2012).

Na ausência de estro, as células endometriais vão retomar seu volume inicial, o útero torna-se flácido e com parede delgada, tornando-o difícil de palpar e de forma semelhante na fase lútea. A cérvix torna-se alongada, tubular e facilmente localizada à palpação (SAMPER, 2009).

2.6 USO DA ULTRASSONOGRAFIA NA AVALIAÇÃO DA ECOTEXTURA UTERINA E SELEÇÃO DA ÉGUA RECEPTORA.

A ultrassonografia transretal é imprescindível na transferência do embrião e no momento da seleção das éguas receptoras, tornando-se procedimento de eleição por tratar-se de método não invasivo e que possibilita avaliar as características uterinas e ovarianas. Permitindo o descarte dos animais que apresentarem anormalidades, visto que, é função da receptora o reconhecimento do embrião e fornecer condições ótimas para o seu desenvolvimento (MEIRA, 2007).

A dinâmica da ecotextura uterina observada por meio de exame ultrassonográfico é influenciada pelas distintas fases do ciclo estral aos níveis de esteróides ovarianos preeminentes. De acordo com SAMPER et al. (2007) e FLEURY et al. (2006) o edema, o tônus uterino e características da cérvix influenciam nas taxas de prenhez.

Durante a fase estrogênica o corno uterino apresenta-se claramente em forma de "roda de automóvel", que correspondem às pregas endometriais edematizadas. Estas são hipoecogênicas, ou seja, refletem pouco as ondas sonoras, com áreas alternadamente anecóicas – ecotextura heterogênea. Essas particularidades do endométrio na fase estral caracterizam o edema estrual ou estral, que entre o 17° e 20° dia do ciclo apresenta uma maior atividade, contudo, se desfaz logo após a ovulação (SAMPER et al., 2007).

E durante o diestro, sob ação da progesterona, o útero apresenta-se mais denso, apresentendo ecotextura homogênea (hiperecóico), com pregas endometriais não identificáveis, características ideais para TE (ANDRADE MOURA, 2012).

Quando em estro, as receptoras devem ser submetidas à avaliação ultrassonográfica diariamente para observação do desenvolvimento folicular e ovulação. Espera-se que no plantel haja disponibilidade de doadoras, admitindo escolher aquela que proporcione melhores condições reprodutivas para receber o embrião (CARNEVALE et al., 2000).

Baseado nas classificações de tônus e morfoecogenicidade uterina, ALONSO (2007) classificou as éguas receptoras como aceitáveis, marginais ou reprovadas. Aceitáveis, quando apresentam útero com formato tubular, homogêneo, ecogênico e apresentando diferença mínima entre miométrio e endométrio; marginais às receptoras que apresentaram ausência de dobras endometriais, mais heterogêneo, com maior diferença entre miométrio e endométrio que o anterior; e reprovadas, útero com formato pouco tubular, presença de dobras endometriais, heterogêneo, com acentuada diferença entre miométrio e endométrio.

Considerando que, o botão para o sucesso da técnica de transferência de embriões seja a qualidade da receptora, tais artifícios projetam alcançar elevados índices de prenhez pós TE (MEIRA, 2007).

2.7 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

Após aproximadamente 40 anos de estudos e aperfeiçoamentos depois da primeira descrição da TE em éguas, a técnica vem ganhando cada vez mais espaço no mercado. A TE em equino pode ser realizada pela técnica cirúrgica, por incisão ao flanco, ou pela técnica não cirúrgica por via cervical.

É uma tecnologia que consiste basicamente na coleta de embrião de uma fêmea doadora de alta qualidade genética acasalada com garanhão de genética reconhecida e a transferência para uma fêmea inferior, incumbida de levar a gestação a termo. O fato de que nos primeiros 15 a 17 dias de gestação, o embrião equino tem vida livre no útero, sem formar qualquer anexo embrionário, torna-se agente facilitador no processo de coleta (MCKINNON; SQUIRES, 2007).

A TE permite à produção de múltiplos potros de éguas com alto potencial genético, envolvidas em alguma atividade como exposições e competições; possibilita produzir descendentes de potras ainda muito jovens para conceber; realizar teste de progênie em fêmeas; resgatar a genética de um rebanho após grandes perdas, mais rapidamente; servir como ferramenta para a formação de banco de germoplasma, criando um banco de embriões criopreservados; permitir a utilização de fêmeas com problemas em manter a gestação, caso não seja um problema genético (WRATHALL et al., 2005).

Todavia, apesar do cenário positivo da TE, sua aplicação no mercado equestre está muito atrasado em relação ao seu uso em ruminantes e suinos (RIERA, 2009). Um dos principais fatores para a baixa eficiência consiste na dificuldade em estimular a superovulação em éguas, além do uso demasiado de fêmeas velhas como doadoras, fazendo decair as taxas de recuperação embrionária (ALVARENGA, 2010).

Vários são os fatores que influenciam a baixa eficácia na TE, como idade, status e manejo reprodutivo da doadora de embriões, da qualidade e forma de processamento pelo qual o sêmen foi submetido, o dia da coleta do embrião e, sobretudo da receptora, sendo a correta seleção desta imprescindível para o êxito da técnica (ALONSO, 2007).

Logo, o sucesso da técnica depende não somente da receptora como caso isolado, mas do ambiente uterino para o qual o embrião será inovulado, este deverá estar sincronizado e semelhante ao qual foi coletado, ou seja, em diestro, que pode ser determinado pelo acompanhamento do ciclo ou utilização de hormônios exógenos. Entretanto, é comum ocorrer falhas na sincronização, portanto é recomendável que se tenha no mínimo, duas receptoras

para cada doadora, garantindo um melhor ambiente uterino para o embrião (MCKINNON; SQUIRES, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO

O experimento foi desenvolvido no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, no Haras Brejo das Flores, localizado na cidade de Garanhuns (Latitude: 08° 53' 25" s e Longitude: 36° 29' 34" w), no período entre agosto de 2014 a fevereiro de 2015, durante a estação de monta. A precipitação média anual registrada gira em torno de 874 milímetros, concentrados entre abril e julho. A umidade relativa do ar é elevada durante todo o ano, com médias mensais entre 75% e 95%, e o tempo médio de insolação de aproximadamente 2.350 horas/ano.

A propriedade ocupa área de 390 hectares, sendo 190 utilizados para a equinocultura de cavalos Quarto de Milha, e as demais áreas para o cultivo de pastagens, além de outras atividades voltadas para o mesmo ramo.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Como doadoras de embriões, foram utilizadas 12 éguas Quarto de Milha com três a 18 anos de idade e condição corporal compatível com a atividade reprodutiva. Estas foram inseminadas e induzidas a partir do dia que se identificou a presença de folículo com diâmetro igual ou superior a 35 mm até a ovulação como relatado por CAIADO et al. (2005).

Para receptoras, utilizou-se 98 éguas mestiças, com idade de três a 12 anos, apresentando escore corporal entre 3 e 4, contudo, apenas 39 destas foram selecionadas para receber embriões, sendo preparadas três para cada doadora (Figura 2).

As éguas foram mantidas em pastagem de *Cynodon spp.*, com água a vontade. O sal mineral *ad libitum* e suplementação diária de concentrado (Durancho 15% de PB) foi fornecido duas vezes ao dia somente para às fêmeas inovuladas.

Figura 2 - Lote de receptoras



Fonte: Arquivo pessoal (2015)

3.3 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DO APARELHO REPRODUTIVO

As éguas foram submetidas a exame do trato reprodutivo semanalmente, por meio de palpação retal auxiliado por aparelho de ultrassonografia - Ultrasom modo B, com transdutor linear transretal multifrequêncial de 5-10 MHz (Mindray DP 10), (Figura 3), a fim de que fossem avaliadas às características ovarianas, uterinas e cervicais.

As receptoras foram avaliadas no momento da indução até a identificação da ovulação; no dia da transferência do embrião; e para confirmação da prenhez. As éguas selecionadas para receber embriões foram aquelas que apresentaram ciclo estral semelhante ao das doadoras.

B Dist 4.00 cm

Figura 3 – Avaliação ultrassonográfica do ovário (A) e mensuração folicular (B)

Fonte: Arquivo pessoal (2015)

3.4 PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO E SELEÇÃO DAS ÉGUAS RECEPTORAS

Dois dias após ovulação da égua doadora (D8) eram escolhidas três receptoras (D6) que apresentassem folículos superiores a 35 mm, sendo estas medicadas com 750 μg de Acetato de Deslorelina por via intramuscular (IM) para indução da ovulação, com mecanismo de ação em até 48 horas. No dia da inovulação a égua selecionada recebia uma aplicação de 1800 mg de Progesterona, caso alcançado o sucesso da transferência do embrião e confirmação da prenhez, mantinha-se as aplicações com doses semanais, durante os primeiros 120 dias de gestação.

A avaliação do tônus uterino realizada por palpação retal e classificação subjetiva para edema uterino seguem recomendações de ANDRADE MOURA (2012) descritos abaixo:

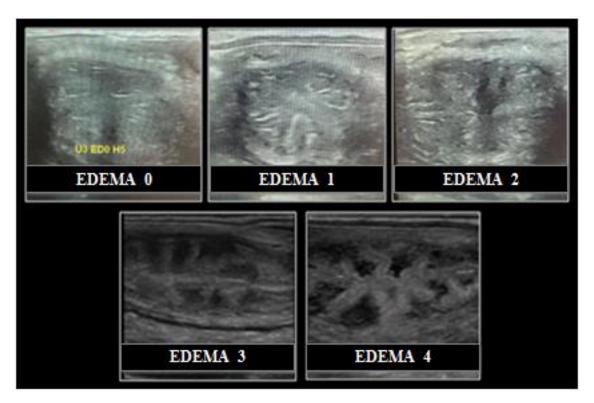
Quadro 1 – Classificação – Escore do tônus uterino segundo metodologia de Andrade Moura (2012)

Classificação	Descrição
Tônus 1 (T1)	Mais tenso
Tônus 2 (T2)	Tenso, porém um pouco menos do que T1
Tônus 3 (T3)	Mais flácido que T1 e T2, porém ainda diferente do tônus no estro
Tônus 4 (T4)	Flácido - característico do estro

Quadro 2 – Classificação – Escore do edema uterino segundo metodologia de Andrade Moura (2012)

Classificação	Descrição
0	Útero na fase de diestro (sem edema)
1	Leve edema
2	Moderado
3	Marcante em todo o útero
4	Máximo, com pequena quantidade de líquido
5	Anormal, ecotextura padrão descaracterizada (irregular e desorganizada)

Figura 4 – Classificação ultrassonográfica de edema uterino em éguas



Fonte: Arquivo pessoal (2015)

Para cérvix a classificação adotada foi de acordo com a abertura do seu ósteo, avaliada através de pressão digital via palpação transretal, segundo metodologia relatada por HUGHES et al. (1977), Quadro 3.

Quadro 3 – Classificação - Escore das características cervicais segundo HUGHES et al. (1977) adaptado

Classificação	Descrição
0	Fechada (na realização de pressão digital o dedo desliza lateralmente)
1	Intermediário (na realização de pressão digital nota-se formação de leve depressão)
2	Aberta (na realização de pressão digital o dedo afunda na cérvix)

3.5 COLETA DE EMBRIÕES

Após higienização da região perianal e vulvar com solução degermante e água e secagem com papel toalha, os embriões foram coletados de forma não cirúrgica, via lavagem uterina entre os dias sete (D7) e oito (D8) após a ovulação (considerando-se D0 como o dia da ovulação da doadora), conforme procedimentos recomendados por SQUIRES e MCCUE, (2007).

Nos procedimentos de lavagem uterina foram utilizados catéteres de via dupla em sistema de coleta fechado e bilateral simultânea, o qual foi posicionado no corpo do útero na região cranial da cérvix, onde posteriormente foi inflado o balonete com 60 cm³ de ar. A solução utilizada na infusão uterina para o procedimento de colheita de embrião foi de ringer com lactato de sódio (0.3G/100mL + cloreto de sódio (0.6G/100mL) + cloreto de potássio (0.03G/100mL) + cloreto de cálcio diidratado (0.02G/100mL)) como descrito por CAIADO et al. (2005) aquecida a 37 – 40 °C (Figura 5).

Para cada colheita foram realizados três lavados, utilizando o volume médio de 1000 mL por lavado. A solução infundida através de pressão manual do frasco de ringer foi retirada por gravidade. Para facilitar este procedimento, foi executada a palpação retal, de modo a ser possível massagear e erguer os cornos uterinos favorecendo a saída do fluido, passando pelo copo coletor com filtro estéril, obtendo a filtração do lavado (Figura 5), permanecendo pequena quantidade dentro do copo coletor o qual posteriormente foi transferido para uma placa de *Petri* riscada, para facilitar a localização do embrião e análise através de lupa.

Figura 5 – Lavagem uterina – Infusão de ringer com lactato (A); Filtração do lavado (B)

Fonte: Arquivo pessoal (2015)

Os embriões foram manipulados com o auxílio de palheta acoplada a seringa de 3 mL sendo retirados da placa e depositados em outra contendo meio para manutenção Holding (Embriolife Base, 4 mg BSA, Gentamicina 0,02 mg, anfotericina B 0,25 mg), onde foram promovidos de cinco a sete banhos em gotas do mesmo meio para remoção das sujidades aderidas ao embrião e posteriormente colocado em placa de *petri* (20x30) preenchido com a mesma solução, onde permaneceu até o momento da inovulação (Figura 6).



Figura 6 – Manutenção do embrião (esquerda); Placa de *petri* para lavagem (direita)

Fonte: Arquivo pessoal (2015)

3.6 INOVULAÇÃO DO EMBRIÃO

O embrião foi envasado em palheta plástica de 0,25 mL em porções alternadas de solução de manutenção e ar, formando três colunas de meio de manutenção como o embrião presente na coluna central, reduzindo a mobilidade, riscos de lesões e perda embrionária. Para a inovulação foi utilizado aplicador de 0,25 modelo WTA de transferência, empregando bainha plástica estéril sobre o inovulaor e coberta com camisinha sanitária, com objetivo de minimizar a contaminação uterina.

Dentre as três éguas receptoras previamente selecionadas através da palpação retal e exame ultrassonográfico para cada doadora, foram escolhidas aquelas que apresentaram cérvix mais firme e fechada, maior tônus uterino e menor edema conforme indicado por CARNEVALE et al. (2000). Em seguida realizou-se a limpeza da região perianal e vulvar da égua com solução degermante, água, e álcool a 70%, sendo feito a secagem da região com papel toalha. A inovulação do embrião foi executada no corpo do útero na região da bifurcação cornoal (Figura 7). Após cinco dias da inovulação realizou-se o diagnóstico de gestação através de USG.

Figura 7 – Inovulação de embrião em receptora (A); Material utilizado (B)



Fonte: Arquivo pessoal (2015)

4 RESULTADOS

4.1 TONUS UTERINO

Para a avaliação das características de tonicidade uterina determinadas por meio de palpação retal, foram qualificadas fêmeas apenas para os escores 1 e 2. Por conseguinte as éguas prenhes denotaram classificação de (10) 25,64 e (9) 23,07% para os escores 1 e 2, respectivamente (Gráfico 1).

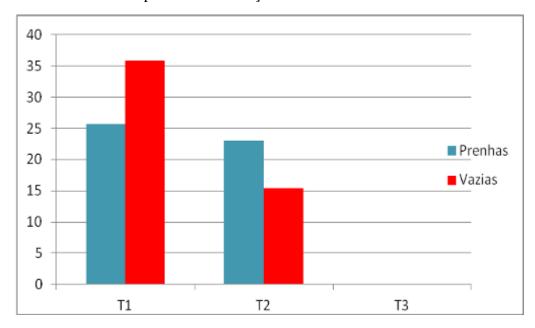


Gráfico 1- Taxa de prenhez com relação às características de tonicidade uterina

No tocante as éguas vazias constatou-se tendência numérica para o escore 1, com percentual de (14) 35,89% seguido do escore 2 com (6) 15,38%. Segundo CARNEVALE et al. (2000) e SQUIRES (2005), éguas com tônus cervical e uterino mais tenso são as que devem ser selecionadas prioritariamente para receberem embrião, pois apresentam melhores índices de prenhez. Para a categoria de escore 3 não foi verificado constância para fêmeas vazias ou prenhes conforme observado no Gráfico 1.

Dos animais com tonicidade uterina de pontuação 1, apenas (13) 54,16% das receptoras apresentavam as demais características do sistema genital desejáveis, sendo classificadas como aceitáveis por exibirem útero com formato tubular, homogêneo, ecogênico e apresentando diferença mínima entre miométrio e endométrio, além da ausência de edema e cérvix firmemente fechada. As fêmeas com escore 2, foram classificadas como marginais por

apresentaram ausência de dobras endometriais, útero mais heterogêneo, com maior diferença entre miométrio e endométrio que o anterior.

4.2 EDEMA UTERINO

Verificou-se para o edema uterino classificação de fêmeas apenas para os escores 0; 1; e 2. Sendo que destes as éguas prenhes apresentaram distribuição de (11) 28,20; (7) 17,95; e (1) 2,56%, para os escores 0; 1; e 2, respectivamente (Gráfico 2).

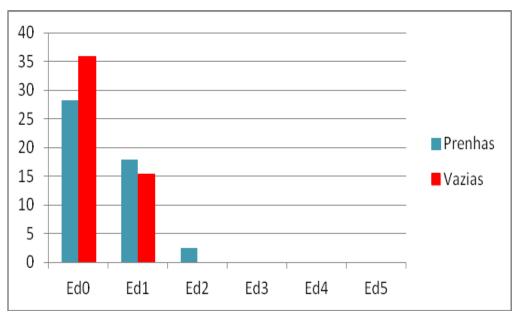


Gráfico 2 - Taxa de prenhez com relação às características de edema uterino

Em relação às éguas vazias, verificou-se elevação no escore 0, com valor de (14) 35,87%, seguido do escore 1, com (6) 15,38%. Paras as condições de escores 2; 3; 4; e 5, não foi registrado frequência para fêmeas vazias (Gráfico 2).

Vale reassaltar que na metodologia utilizada nesta pesquisa, a escala de escore para edema uterino variou de 0 a 5, em que, a partir da avaliação dos dados do Gráfico 2, pode-se verificar que a maioria das fêmeas estavam concentradas nas classificações 0 e 1, que apesar de qualificados como aceitáveis e marginais respectivamente, apenas 57,14% das fêmeas com pontuação 0 apresentaram útero homogêneo e ecogênico, demonstrando ausência de edema conforme descritos por ALONSO (2007).

4.3 CÉRVIX

Com relação às características cervicais foram determinadas fêmeas somente para os escores 0 e 1. Apresentando percentual de (14) 35,89% para o escore 0 e (5) 12,82% para o escore 1, referente às fêmeas prenhes (Gráfico 3).

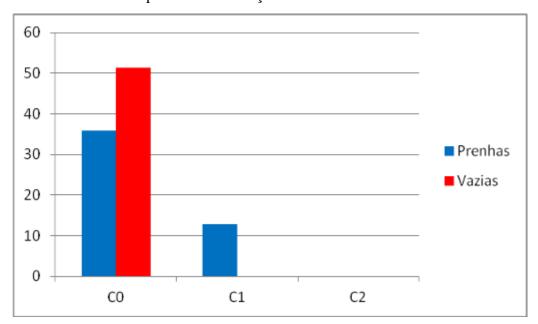


Gráfico 3 - Taxa de prenhez com relação às características cervicais

No que concerne às éguas vazias constatou-se valor de (20) 51,28% para a condição de escore 0. Não havendo registros para as pontuações 1 e 2 conforme evidenciados no Gráfico 3.

Segundo BRADECAMP (2007), éguas com baixo tônus cervical não são desejáveis para receber embrião, apresentando piores taxas de prenhez. Apesar de buscar por cérvix mais tensas nesse trabalho, de um total de 34 fêmeas avaliadas com escore cervical 0 (cérvix fechada, firme, alongada e proeminente) consideradas características ideais para o momento da inovulação, apenas 41,17% ficaram prenhas.

5 DISCUSSÃO

5.1 TÔNUS UTERINO

O tônus uterino da receptora de embrião no dia da TE, influenciam significativamente as taxas de prenhez. Resultados descritos por ALONSO (2007) sugerem que a qualidade uterina pode indicar se o ambiente é adequado ou não para o desenvolvimento do embrião, confirmando que, ao utilizar éguas com endométrio homogênio, com útero tubular e bom tônus (mais tenso), obtém-se melhores índices de prenhez.

Tais mudanças na tonicidade uterina podem ser justificadas pela formação de corpos lúteos viáveis, responsáveis pela produção de progesterona, hormônio indutor das características do sistema genital na fase de diestro que vão promover hipertrofia das células endometriais, reduzindo o edema, consequentemente tornando-o mais denso (ANDRADE MOURA, 2012).

ALONSO (2007) estudou o efeito do tônus uterino sobre as taxas de prenhez de receptoras de embrião inovuladas entre os dias três e oito (D3 a D8) pós-ovulação. A avaliação do tônus foi realizada pela palpação retal, utilizando os escores T1: mais tenso; T2: tenso, porém um pouco menos do que T1; T3: mais flácido do que T1 e T2, porém ainda diferente do tônus no estro e T4: flácido, característico do estro, como avaliados nesse trabalho.

O tônus uterino influenciou as taxas de prenhez, sendo que as éguas com T1 tiveram taxas superiores às T2 e T3. As éguas com T2 apresentaram taxas menores do que as T1, porém maiores do que T3. Os dados deparados por este autor divergem dos encontrados neste trabalho, visto que os resultados para T1 e T2 apresentaram valores semelhantes para éguas prenhes e vazias, sendo atribuídos à deficiência nutricional.

Da mesma forma FLEURY et al. (2006) selecionaram receptoras no dia da inovulação (D3 a D8 pós-ovulação) tendo como base as características de tônus uterino. As taxas de prenhez nas éguas com tônus uterino 1 (T1) (92%) e tônus uterino 2 (T2) (88%) foram maiores que nas fêmeas com tônus uterino 3 (T3) (42%), demonstrando alta correlação positiva entre tônus uterino e prenhez, sugerindo que o tônus uterino deve ser considerado na escolha da receptora de embrião.

ALONSO (2007) concluiu em consonância com FLEURY et al. (2006), que edema e tônus uterino afetaram a taxa de prenhez, sendo ambos importantes parâmetros para seleção

de receptoras. Fatores estes que devem ser levados em consideração uma vez que condições não avaliadas neste trabalho podem ter influenciado de forma negativa os resultados.

5.2 EDEMA UTERINO

Segundo CAIADO et al. (2007), as características do sistema genital é fator decisório para a classificação de receptoras. Apresentando, o fator edema endometrial como um dos principais parâmetros na classificação de éguas receptoras.

Dentro da reprodução equina a avaliação da condição de edema é o indício mais fiável da competência estrogênica do folículo dominante, em conseguinte, para a detecção do cio na égua saudável, mesmo quando esta não responde a rufiação pelo garanhão (ANDRADE MOURA, 2011). Quando a fêmea encontra-se em fase luteínica com condições hormonais de baixos níveis de estrógenos e elevados de progesterona devido à presença do corpo lúteo, o edema é reduzido, tornando o ambiente uterino adequado para receber o embrião, semelhante ao estado prenhe.

O edema uterino surge inicialmente na fase final do diestro e aumenta à medida que o estro avança, esse evento acontece devido à produção crescente do hormônio estrogênico pelos folículos dominantes, que atua no endométrio promovendo hipertrofia e exacerbada divisão celular, além de aumentar a irrigação sanguínea local promovendo edema e impressão de crescimento dos órgãos ao toque (CUERVO-ARANGO; NEWCOMBE, 2008).

SAMPER (1997) conduziu avaliação que relacionou a predição da ovulação em éguas sadias e cíclicas, com sistema de escore para o edema endometrial com pontuação de 0 a 5 como os descritos nesse trabalho. Neste estudo, o autor observou modelo peculiar da edematização uterina: o início dos sinais do comportamento estral foi relacionado ao edema com o escore médio de dois. Aumentando gradativamente até alcançar pontuação máxima (que variou individualmente entre três e cinco) com presença de folículo, geralmente, maior que 35 mm (33 a 52 mm).

Desse modo, segundo o referido autor a relação grau de edema uterino e tamanho do folículo é importante indicador para orientar o momento da cobertura em éguas cíclicas; a melhor resposta ao tratamento indutor da ovulação (98% de ovulações até 48 horas após aplicação) acontece quando o edema possui escore entre três e cinco; e que a redução do edema está agregada à estabilidade do escore máximo adquirido e que esse fato é sugestivo da aproximação da ovulação.

Estas conclusões são corroboradas por SAMPER et al. (2007), afirmando que o grau de edema uterino combinado com a determinação do tamanho folicular, consta de indicador importante para definir quando a égua deverá ser beneficiada, fato que favorece os programas de Inseminação Artificial (IA) e Transferência de Embriões (TE).

Em pesquisa realizada por ANDRADE MOURA (2012) foi observado significativa influência da taxa de gestação sobre a quantidade de edema uterino, onde houve redução das taxas de prenhez em receptoras quando o edema uterino apresentou escore 3 e 4 pós ovulação, sendo os escores 0 e 1 considerados ideais. Reiterarando sobre a importância do edema uterino para caracterizar as várias fases do ciclo estral, favorecendo o uso das biotecnologias da reprodução de forma mais eficiente.

Desta forma o edema 0 e 1 podem ser caracterizados como ideais para o momento da inovulação por apresentar baixos nives de estrógeno e predomínio da progesterona, representando o perfil hormonal e condições ovarianas de diestro. Por conseguinte, a presença de edema evidente (3-5) torna-se indesejável por demonstrar características de fase folicular e não luteinica, que corresponde à presença de embrião no útero, logo, momento ideal para a inovulação.

5.3 CÉRVIX

Alterações do tônus cervical são consideradas confiáveis como parâmetro das mudanças morfológicas do trato reprodutivo da égua, sendo útil para determinar o momento do ciclo estral no qual a égua se encontra (CAIADO et al., 2007).

Em fase mais tardia do estro, antes da ovulação, a cérvix vai estar extremamente flácida, achatando-se prontamente contra a pélvis devido elevada concentração de estrógenos circulantes. A cérvix em diestro é longa, tubular e facilmente palpável, devido à ação da progesterona que são sintetizados pelos corpos lúteos remanescentes a ovulação (SAMPER, 2009).

De acordo com as avaliações realizadas neste trabalho, foi possível observar que o tônus cervical se comportou de forma semelhante à tonicidade uterina, corroborando com PINEDA e DOOLEY (2003), quando afirmam que efeitos do estrógeno e da progesterona na cérvix são similares aos encontrados no útero.

As receptoras com corpo lúteo visível e grande, útero firme e cérvix fechada são consideradas aprovadas e podem estar disponíveis como receptoras pelos próximos dias. Geralmente, 10% das receptoras não passam nesse exame, em primeiro lugar por ter tônus

uterino pobre, presença de edema marcante ou uma cérvix frouxa e aberta (SQUIRES, 2006). Conforme (ALONSO, 2007), concentrações de progesterona circulantes mais baixas, podem afetar negativamente o tônus uterino e cervical.

Em estudo realizado por RODRIGUES et al. (2012) com objetivo de avaliar as características do sistema genital no dia da inovulação, classificaram 33 éguas receptoras como inaptas para receber embrião, sendo observado que 82% e 70% desses animais não apresentavam características de edema e tônus uterino desejáveis respectivamente, e apenas 15% apresentavam cérvix aberta.

Pode-se constatar porcentagem maior e significativa de problemas relacionados a edema endometrial e tônus uterino, em comparação aos problemas de tônus e fechamento cervical. No presente trabalho 87,17% das fêmeas utilizadas expunham cérvix firmemente fechadas, evidenciando, que o parâmetro tônus cervical versa como opção interessante na seleção das receptoras por melhor caracterizar condições de diestro.

As avaliações dos parâmetros supracitados são importantes no desenvolvimento e sucesso da TE, embora fatores intrínsecos, extrísecos e embrionários também possam contribuir para morte embrionária, visto que esta é responsável por perdas econômicas significativas, principalmente em gestações estabelecidas após transferência de embriões (GRECO et al., 2008).

Como fatores intrínsecos incluem-se: sub-função lútea, idade da égua, local de fixação da vesícula embrionária e as anomalias cromossómicas maternas. Como fatores extrínsecos: o stress, a nutrição, o clima, a palpação e ecografia transretal, o garanhão utilizado, o processamento do sémen. Como fatores embrionários temos as alterações cromossômicas do embrião ou de outras características, tais como a morfologia. Além de fatores intrínsecos e extrínsecos associados (VANDERWALL, 2008).

Os resultados deste trabalho podem estar relacionados às condições de manejo nutricional a que as éguas receptoras foram submetidas, visto que, a nutrição é de fundamental importância nos programas de transferência de embriões e tem impacto direto sobre o número e a viabilidade de embriões coletados.

A taxa de concepção insatisfatória em éguas com condição corporal ruim durante a estação reprodutiva ou que apresentam baixo escore corporal no momento do parto, aparentemente não é influenciada pela nutrição inadequada durante a estação, e sim pela condição nutricional desta no início da estação (DAVOLLI, 2010). Representado a situação apresentada neste trabalho, já que às éguas receptoras eram mantidas em pastagens deficientes

e sem oferecimento de concentrados durante quase todo o período, sendo transferidas para um pasto de melhor qualidade e ofertado concentrado somente posterior a inovulação.

RIERA (2000), afirma que éguas receptoras devem estar em balanço energético positivo durante a temporada de transferência. As éguas que recebem embrião devem ser transferidas para piquetes com melhor disponibilidade e qualidade de pastagem. As taxas de prenhez são drasticamente inferiores em éguas que estão em balanço energético negativo, mesmo quando estas estão em boa condição corporal.

Deve ficar claro ao veterinário que algumas mortes embrionárias são inevitáveis e para sua ocorrência nas menores taxas possíveis, deve ser dado o suporte apropriado em nível de manejo e nutrição (DAVOLLI, 2010).

A partir da conclusão dos resultados pode-se aferir que a quantidade de fêmeas vazias pode ser atribuido possivelmente a falhas no manejo nutricional, uma vez que, estas foram mantidas em balanço energético negativo por longo período. E que a observação de apenas um parâmetro não é suficiente para determinar a eficiência da implantação embrionária em receptoras de embriões, posto que, vários são os fatores que podem interferir culminando em mortalidade embrionárica precoce.

6 CONCLUSÃO

Houve maior percentual de fêmeas vazias em relação às prenhes, embora, de acordo com os parâmetros citados na literatura, ambas as classificações encontram-se dentro das características ideais para a transferência de embriões.

Mesmo as fêmeas vazias se enquadraram no papel de boas receptoras, contudo, possíveis variações podem ser explicadas provavelmente por défice alimentar e mineral, fundamentando o baixo rendimento das receptoras por consequência à negligências quanto ao manejo nutricional.

Sugerindo o desenvolvimento de novos trabalhos afim que, seja determinado metodologias que associados aos parâmetros estudados neste trabalho definam às características da receptora ideal para transferência de embriões.

7 REFERÊNCIAS

ALONSO, M. A. Efeito das características uterinas e dia do ciclo na taxa de prenhez e níveis séricos de progesterona em éguas candidatas à receptora de embrião. 2007. 36 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Botucatu, São Paulo, 2007.

ALVARENGA, M. A.; CARMO M. T.; LANDIM ALVARENGA F. C. Superovulation in mares: limitations and pespectives. **Pferdeheilkunde**, v. 24, p. 88-91, 2008.

ALVARENGA, M. A. Problems and solutions in equine embryo transfer programs in **Brazil. Act. Scient. Vet.,** v. 38, n.1, p. 319-333, 2010.

ANDRADE MOURA, J. C.; MERKT, H. Reprodução Equina em Imagens, 2011. Campinas-SP. **Anais...** Campinas: Nutricell, 2011. CD-ROOM.

ANDRADE MOURA, J. C. Diagnóstico por imagem na reprodução equina "Controle do útero". **Ciên. Anim.**, v. 22, n.1, p. 163, 2012.

ANTCZAC, D. F.; DE MESTRE, A. M.; WILSHER, S. *et al.* The equine endometrial cup reaction: a fetomaternal signal of significance. **Annu. Rev. Ani. Biosei**. v. 1, p. 419- 442, 2013.

ARAR, S.; CHAN, K. H.; QUINN, B. A.; WAELCHLI, R. O. *et al.* Desialylation of core type 1 O-glycan in the equine embryonic capsule coincides with immobilization of the conceptus in the uterus. **Carb. Res.**, v. 342, p. 1110–1115, 2007.

BERGFELT, D. R.; ADAMS, G. P. Ovulation and corpus luteum development, *In*: SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; McKINNON, A. O. **Current therapy in equine reproduction.** 1. ed. Saunalers: Philadelphia, 2007. cap. 1, p. 1-13.

BRADECAMP, E. A. Estrous Synchronization. *In:* SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; MCKINNON, A. O. **Current Therapy in Equine Reproduction**. Missouri, USA: Sauders Elsevier, 2007. Cap. 262, p. 22-25.

CAIADO, J. R. C.; FONSECA, F. A.; SILVA, J. F. S. *et al.* Aplicação do flunixin meglumine antes da transferência não-cirúrgica de embriões em éguas da raça Mangalarga Marchador. **Ver. Bras. de Ciên. Vet.**, v. 12, n. 1-3, p. 11-15, 2005.

CAIADO, J. R. C.; FONSECA, F. A., SILVA, J. F. S., *et al.* Tratamento de éguas de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação. **Ver. Bras. de Zootec.**, v. 36, n. 2, p. 360-368, 2007.

CAIXETA, E. S.; FAGUNDES, N. S.; CAIXETA, M. S. *et al.* Desenvolvimento embrionário inicial equino – revisão. **Ver. Port. de ciên. Vet.** v. 103, n. 565, p. 25-34, 2008.

CARNEVALE, E. E. M.; RAMIREZ, R. J.; SQUIRES, E. L. *et al.* Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 54, p. 965-979, 2000.

- CHEMINEAU, P.; GUILLAUME, D.; MIGAUD, M. *et al.* Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 43, n. 2, p. 40-47, 2008.
- COSTA, L. D. P. Avaliação da Taxa de Fertilidade em Éguas da Raça Puro Sangue Lusitano: Efeito da Idade da Égua e do Tipo de Cobrição (Cobrição Natural vs Inseminação Artificial). 2014. 18 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2014.
- CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J. R. Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. **Jour. of Americ. Vet. Med. Associat.** v. 69, n. 6, p. 681-687, 2008.
- CUERVO-ARANGO, J.; CLARK, A. The first ovulation of the breeding season in the mare: the effect of progesterone priming on pregnancy rate and breeding management (hCG response rate and number of services per cycle and mare). **Anim. Reprod. Sci.**, v. *118*, *n*. 2, p. 265-269, 2010.
- DAVOLLI, G. M. **Perda embrionária em éguas: causas e possíveis intervenções**. 2010. 21f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre: RS, 2010.
- DE MESTRE, A. M.; BACON, S. J.; COSTA, C. C. *et al.* Modeling trophoblast differentiation using equine chorionic girdle vesicles. **Placenta**. 29. ed. Cornell University: Ithaca, 2008. cap. 2, p. 158-169.
- FLEURY, P. D. C.; ALONSO, M. A.; BALIEIRO, J. C. C. Avaliação da receptora: efeito de características uterinas e tempo de ovulação. *In*: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIOES, 34., 2006, Araxá. **Act. Scien. Vet.**, Araxá. 2006. p. 502.
- GAIVÃO, M. M. F.; STOUT, T. A. E. Maternal recognition of pregnancy in the mare-a mini review. **Ver. Lusóf. Ciên. e Med. Vet.**, p. 5-9, 2007.
- GAIVÃO, M.; STOUT, T. Equine conceptus development A mini review. **Ver. Lusóf. de Ciên. e Med. Vet.**, v. 5, p. 64-72, 2012.
- GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O. *et al.* Relationships of follicle versus oocyte maturity to ultrasound morphology, blood flow and hormone concentrations of the preovulatory follicle in mares. **Biol Reprod,** v. 77, n. 2, p. 202-208, 2007.
- GINTHER, O. J.; GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L. *et al.* Efects of age of follicle and hormone dynamics during the oestrous cycle in mares. **Reprod. Fertil. Dev.**, v. 20, n. 8, p. 955-963, 2008a.
- GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; RODRIGUES, B. *et al.* Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. **Theriogenology**, v. 69, n. 5, p. 583-590, 2008b.

- GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas a Reprodução Animal**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. 225 p.
- GRECO, G. M.; AVANZI, B. R.; FIORATTI, E. G.; QUEIROZ, F. J. R.; MEIRA, C.; ALVARENGA, M. A. Efeito da interrupção do tratamento com progesterona em éguas receptoras acíclicas apresentando a formação de corpos lúteos acessórios. **Act. Scien. Vet.**, v. 36, n. 2, 2008.
- HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.
- HUGHES, J. P.; STABENFELDT, G. H.; EVANS, J. W. The oestrus cycle in the mare and its uterine control. **Aust. Vet. Journ.**, v. 53, p. 415-419, 1977.
- LEY, W. B. **Reprodução em Éguas: Para Veterinários de Equinos.** São Paulo: Rocca, 2006.
- MARTINS, S. M. **Reprodução de equinos.** 2011. 43 f. Dissertação (Pós Graduação em Clínica e Reprodução Equina e Bovina) Pós Graduação Qualitas, Piracicaba, 2011.
- MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Embryo Transfer and Related Technologies. In: SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; MCKINNON, A. O. Current therapy in equine **reproduction.** 1. ed. Philadelphia:W.B. Sounders, 2007. cap. 51, p. 319-334.
- MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E. *et al.* **Equine reproduction.** 2. ed. Indianapolis: Blackwell Publishing, 2011.
- MEIRA, C. Endocrinologia da Reprodução, Dinâmica Folicular, Superovulação e Transferência de Embriões na Espécie Equina. *In:* CURSO DE INSEMINAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQÜINOS. Botucatu, São Paulo, 2007.
- PEÑA-ALFARO, C. H.; BARROS, L. O. **Curso de Inseminação Artificial em Equinos**. *In:* I CURSO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL DE JOÃO PESSOA. João Pessoa, 2011. 1 CD-ROOM.
- PINEDA, M.; DOOLEY, M. **Veterinary endocrinology and reproduction.** 5 ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, 2003.
- PYCOCK, J. F. Artificial insemination. Proceedings of the 10th International. *In*: CONGRESS OF WORLD EQUINE VETERINARY ASSOCIATION, 224-234., 2008a, Moscovo. **Annals...** Moscovo, Russia: WEVA, 2008a. p. 224-234.
- RICKETTS, S. Management of the broodmare. *In:* PROCEEDINGS OF THE 10 TH INTERNATIONAL CONGRESS OF WORLD EQUINE VETERINARY ASSOCIATION, 2008, Moscovo. **Annals...** Moscovo, Rússia: WEVA, 2008a. p. 212-215.
- RIET-CORREA, F. **Doenças de ruminantes e equídeos.** 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. 467-476 p.
- RIERA, F. L. Equine embryo transfer. *In*: SAMPER, J. C. **Equine breeding management and artificial insemination**. 1. Ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2000. cap.16, p. 185-199.

- RIERA F. L. Equine embryo transfer. In: SAMPER, J. C. **Equine breeding management and artificial insemination.** 1.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009. p. 185-199.
- RODRIGUES, T. G.; CAIADO, J. R. C.; FAGUNDES, B. et al. Uso de Progesterona de longa ação e inovulação de éguas no segundo dia após a ovulação. **Act. Bio. Bras.** v. 3, n. 1, 2012.
- SAMPER, J. C. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. *In:* PROCEEDINGS OF THE 43RD ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 1997. Phoenix, USA. **Annals...** Phoenix: USA, 1997. p. 189-191.
- SAMPER, J. C.; ESTRADA, A. J.; MCKINNON, A. O. Insemination with frozen semen. *In*: **Current therapy in equine reproduction**. Saint Louis: Elsevier- Saunders, 2007. p. 285-288.
- SAMPER, J. C. Equine breeding management and artificial insemination. 2. ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2009.
- SILVA, J. R. V. Growth factors in goat ovaries and the role of activina-A in the development of esrly-staged follicles. 2005. 142 f. Thesis (PhD) Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, 2005.
- SISSON, S. Aparelho urogenital de equinos. *In*: GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 491-514.
- SQUIRES, E. L. Perspectives on the use of biotechnologies in equine reproduction. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 69-82, 2005.
- SQUIRES, E. L. Factors affecting embryo recovery and pregnancy rates after embryo transfer. *In:* SOCIETÁ ITALIANA VETERINARI PER EQUINI- SIVE- XII CONGRESSO MULTISALA, BOLOGNA, ITALY, 2006, Italy. Annals proceedings... Italy, 2006. Disponível em: http://www.ivis.org/annals>. Acesso em: 03 fev. 2016.
- SQUIRES, E. L.; MCCUE, P. M. Superovulation in mares. **Ani. Rep. Scie.**, v. 99, n. 1-2, p. 1-8, 2007.
- VANDERWALL, D. K. Early embryonic loss in the mare. **Jour. of Equi. Vet. Scie.**, v. 28, n. 11, p. 691-702, 2008.
- WRATHALL, A. E.; SIMMONS, H. A.; VAN SOON, A. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virus-infected sêmem. **Theriogenology**, 2005.