



Ação do extrato etanólico de Mufumbo sobre a criopreservação do sêmen de garanhão *Action of the ethanol extract of Mufumbo on cryopreservation of stallion semen*

Deyse Naira Mascarenhas Costa^{1,*}, Sávio Ruan Sampaio Sousa², Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco², Filipe Nunes Barros³, José Adalmir Torres de Souza⁴

¹Universidade Estadual do Tocantins (UNITINS); ²Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal (UFPI), Teresina, PI, Brasil.

*E-mail:deysevet2008@gmail.com

Abstract

*Various natural antioxidants are being added to the freezing diluents in order to minimize deleterious effects to the membrane of spermatozoa during the cryopreservation process. Avaliou if stallions semen characteristics cryopreserved amid thinner Botu-crio plus ethanol extract from the bark of mufumbo (*Combretum leprosum*) at different concentrations (30 mg, 60 mg and 120 mg). Samples of each treatment were submitted to hypoosmotic test membrane integrity tests and mitochondrial function (fluorescent tubes); There was no significant difference ($P > 0.05$) and the percentage of spermatozoa reactive to hiposmotic test between the groups tested. The percentage of sperm with intact plasma membrane, as well as the mitochondrial potential were not statistically different ($P > 0.05$) between the control and treatment.*

Keywords: *freezing, oxidative stress, mufumbo.*

Palavras-chave: *congelamento, estresse oxidativo, mufumbo.*

Introdução

A criopreservação permite que células, tecidos ou embriões sejam conservados a temperaturas abaixo do ponto de congelação da água, preservando a composição e a viabilidade da estrutura criopreservada por tempo indefinido. Entretanto, este processo estimula a ocorrência do estresse oxidativo (Santiani, 2013). Uma ampla variedade de antioxidantes naturais está sendo testada em diferentes espécies para minimizar os danos causados às células espermáticas durante a criopreservação, dentre eles o extrato do mufumbo (*Combretum leprosum*). O mufumbo possui inúmeras atividades biológicas incluindo antibacteriana, antiprotozoária, anticancerígena, analgésica, anti-inflamatória, hepatoprotetora e atividade antiviral (Kumar et al., 2015). Ayres et al. (2008) pesquisando o fracionamento da fase hidroalcoólica e da fase hexânica, provenientes do extrato etanólico (EtOH) da casca do caule *C. leprosum*, isolou e identificou a (-) epicatequina, lupeol e a mistura dos esteróides estigmasterol e sosterol. O autor concluiu que o extrato EtOH da casca e dos galhos finos possuem um alto potencial antioxidante, sendo a (-) epicatequina, uma das substâncias responsáveis por esta atividade. Desta forma, o presente estudo teve o objetivo avaliar o efeito do extrato etanólico da casca do caule do *Combretum leprosum*, acrescido ao meio diluidor de criopreservação, em três concentrações distintas (30 mg; 60 mg e 120 mg), sobre a qualidade do sêmen criopreservado de garanhões.

Material e Métodos

Foram colhidos quatro ejaculados de quatro garanhões da raça Quarto de Milha, com idades entre cinco a dez anos. As colheitas foram feitas por meio de vagina artificial e das amostras obtidas foram analisados o volume, o aspecto, a cor e, sob microscopia convencional, a motilidade total, motilidade progressiva e concentração espermática. Após essas análises, os ejaculados com motilidade mínima de 60% foram diluídos no meio de resfriamento Botusêmen na proporção de 1:1 as amostras foram centrifugadas a 600G por 10 minutos, o sobrenadante desprezado e os "pellets" ressuspensos com o meio de congelamento Botucio, acrescido de extrato etanólico de mufumbo, de acordo com os seguintes tratamentos: T1= sêmen + diluidor de congelamento (controle); T2= sêmen + 30mg de extrato; T3= sêmen + 60 mg de extrato e T4= sêmen + 120 mg de extrato. A diluição foi realizada de modo a assegurar uma concentração espermática de 100×10^6 espermatozoides por palheta de 0,5 mL, previamente identificadas e congeladas pelo método manual. Duas semanas após a congelamento, uma palheta de cada tratamento foi descongelada em Banho Maria a 37°C por 30 segundos. De cada amostra descongelada, foram retiradas alíquotas de 10 µL destinadas à realização do teste hiposmótico, para a análise da integridade da membrana plasmática e da funcionalidade mitocondrial por meio de sondas fluorescentes. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software estatístico SPSS (Statistical Package of Social and Science) versão 20.0, obedecendo a um delineamento em blocos ao acaso, utilizando-se o teste da ANOVA para verificar a existência de diferença estatística significativa entre os tratamentos e, posteriormente, a realização do teste SNK de comparação das médias a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e Discussão

Após descongelamento, as médias de motilidade e de vigor espermático dos tratamentos estavam de acordo com os valores estabelecidos pelo CBRA (2013), que são de um mínimo de 30 % de motilidade e três de



vigor. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) quanto ao percentual de espermatozoides reativos ao teste hiposmótico entre os grupos testados. No entanto, o garanhão três apresentou o menor percentual de espermatozoides com a membrana íntegra. A evidencia de diferenças significativas no percentual de células espermáticas com membrana íntegra do garanhão três pode estar associada à grande variabilidade existente entre os indivíduos da espécie equina, com relação à composição da membrana e ao metabolismo espermático (Costa et al., 2014). A porcentagem de espermatozoides com membrana plasmática íntacta, assim como o potencial mitocondrial, não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$) entre os tratamentos corroborando com os resultados de Barros et al., (2013) que ao trabalharem com sêmen equino criopreservado em meio Botucrío acrescido de diferentes concentrações de glutatona peroxidase (1U e 5U) e cisteína (0,5 mM e 1 mM), não obtiveram diferenças significativas na porcentagem de células espermáticas com membrana plasmática íntegra entre os tratamentos.

Tabela 1. Médias e desvios-padrão da integridade da membrana plasmática do sêmen congelado de garanhões, diluído em meio Botucrío acrescido de extrato do mufumbo (*Combretum leprosum*) em diferentes concentrações.

Grupo (mg)	Garanhão			
	1	2	3	4
Controle	35,75 ± 10,33	29,38 ± 3,90	31,13 ± 1,18 ^a	30,63 ± 1,49
G30	36,63 ± 4,40	29,88 ± 6,65	30,25 ± 2,22 ^a	36,13 ± 6,41
G60	38,00 ± 8,43	33,50 ± 7,35	23,00 ± 3,65 ^b	36,13 ± 4,64
G120	40,13 ± 7,87	33,50 ± 8,34	26,25 ± 1,04 ^{a,b}	30,13 ± 1,65
P-valor	0,878	0,728	0,001	0,099

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si (p-valor>0.05).|

Conclusão

Adição de extrato etanólico da casca do mufumbo (*Combretum leprosum*), nas concentrações em estudo, não promoveu diferenças significativas entre o grupo controle e os tratamentos quanto à porcentagem de células espermáticas com membrana íntegra e com bom potencial mitocondrial.

Referências

- Ayres MCC.** Isolamento e monitoramento de substâncias antioxidantes de *Terminalia fagifolia* e *Combretum leprosum* (Combretaceae), 2008. 133p. Dissertação. Dissertação (Mestrado em Química). Curso de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2008.
- Barros LO, Silva SV, Almeida FC, Silva ECB, Carneiro GF, Guerra MMP.** Efeito da adição de glutatona peroxidase e cisteína ao diluidor de congelamento do sêmen equino. Arq Bras Med Vet Zootec, v.65, p.430-438, 2013.
- Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Belo Horizonte (CBRA).** Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen de Animal. 3a. ed. CBRA: Belo Horizonte, 2013, 97p.
- Costa DNM, Silva DAM, Boakari YL, Ferreira SB, Castelo-Branco MA, Souza JAT.** Eficiência dos diluidores tris e botu-crio® sobre os parâmetros seminais de garanhões das raças Quarto de Milha e Mangalarga Marchador. Ciência Animal Brasileira, v.15, n.3, p.322-329, 2014.
- Kumara P, Kumara D, Sikkaa P, Singh P.** Sericin supplementation improves semen freezability of buffalo bulls by minimizing oxidative stress during cryopreservation. Anim Reprod Sci, v.152, p.26-31, 2015.
- Santiani A.** Uso de antioxidantes para mejorar la calidad de semen criopreservado. Spermova, v.3, n.2, p.154-157, 2013.



Aspectos biométricos e histológicos de testículos de garanhões do Grupamento Genético Baixadeiro

Biometric and histological aspects of stallions testicles Grouping Genetic Baixadeiro

Luiz Bruno Oliveira Chung^{1,*}, Luciana Cordeiro Rosa², Renatta Silva Melo³, Higor da Silva Ferreira¹, Felipe Lucas Correa Pereira⁴, Vinicius Pinto Nogueira da Cruz³, Eslen Quezia Santos Miranda³, Ricardo de Macedo Chaves⁵

¹Mestrando em Ciência Animal, UEMA; ²Mestre em Ciência Animal – Bolsista de Apoio Técnico LABRA/UEMA; ³Graduando (a) Medicina Veterinária/UEMA; ⁴Graduando em Zootecnia / UEMA; ⁵Professor Adjunto III/ UEMA, São Luís, MA, Brasil.

*E-mail: bruno_chung@hotmail.com

Abstract

This study aimed to evaluate the biometric and histological aspects of the testicles of horses Baixadeiro. Four stallions were used, with a mean age of $3,88 \pm 1,24$. The right and left testicles were measured for length, width, height and total scrotal width. The testicular volume was also determined and histological fragments were removed parenchyma of testis stained with H-E. There was no statistical difference between the linear measurements of the right testis and left ($P > 0,05$). The weight of the testes showed differences ($P < 0,05$) due to the characteristics of the evaluated animals (cryptorchidism, testicular asymmetry). Histologically, both showed edema and hemorrhage as testicular degeneration. Thus, the animals showed values of scrotal circumference lower than expected for the species, and testicular diseases, not being considered fit to reproduction.

Keywords: equines, testicles, biometrics.

Palavras-chave: equinos, testículos, biometria.

Introdução

A região da Baixada Maranhense apresenta um grupamento genético de cavalos denominados de Baixadeiro (Gazolla et al., 2009). Dados sobre os aspectos morfológicos testiculares deste grupamento de animais ainda não são conhecidos.

A medida testicular mais utilizada é o perímetro escrotal, não sendo precisa em garanhões devido ao posicionamento horizontal do testículo. Utiliza-se a combinação das medidas de altura, comprimento, largura e largura escrotal total para melhor estimar o tamanho testicular do garanhão (Gebauer et al., 1974).

Diversos fatores interferem no desenvolvimento testicular, como peso do animal (Aurich, et al., 2005) e fatores genéticos. Assim, objetivou-se avaliar os aspectos biométricos e histológicos dos testículos dos equinos do Grupamento Genético Baixadeiro para identificar condições patológicas que podem comprometer a qualidade genética do rebanho.

Material e Métodos

Foram utilizados quatro garanhões Baixadeiro, com média de idade de $3,88 \pm 1,24$ e peso $223,25 \pm 26,30$ estimado por fita de pesagem. A biometria testicular foi realizada com auxílio de paquímetro e fita métrica. Os testículos foram forçados para baixo e para dentro da bolsa escrotal, onde os testículos direito e esquerdo foram mensurados quanto ao comprimento (CD, CE), largura (LD, LE), altura (HD, HE) e a largura escrotal total (LET), seguindo os parâmetros estipulados por Gebauer et al. (1974). O volume testicular foi determinado pela fórmula $0,5333 \times \text{altura} \times \text{comprimento} \times \text{largura}$ (Chenier, 2007).

Em seguida, os animais foram anestesiados (sedação com Acepromazina 1%, 4-6 mL IV por animal; e anestesia local com 20 mL de Lidocaína SC e IM) e realizou-se a orquiectomia, para obtenção dos testículos. Estes foram separados do epidídimo e pesados individualmente em balança digital.

Para avaliação histológica foram removidos parênquima dos testículos direito e esquerdo com aproximadamente 15×15 mm, fixados em formalina 10%. No laboratório de Anatomopatologia da UEMA, as amostras foram submetidas ao processo de desidratação em álcool com graduação alcoólica crescente (70°, 80°, 96° e absoluto) por 30 minutos em cada. Logo após, foram imersos em xilol e colocados em blocos de parafina e submetidos a cortes de $4 \mu\text{m}$ de espessura, sendo montados em lâminas e corados com Hematoxilina-Eosina para descrição histológica quanto à presença de patologias no parênquima testicular.

Foi realizada análise estatística descritiva das medidas testiculares: média e desvio padrão. Os valores das medidas testiculares lineares foram submetidos ao teste do Qui-Quadrado ao nível de significância de $P < 0,05$. Resultados da avaliação histológica foram descritivos.

Resultados e Discussão

Os dados de biometria testicular estão apresentados na tabela 1. Não houve diferença estatística entre as



medidas lineares dos testículos direito e esquerdo ($P > 0,05$). Resultados semelhantes aos de Borges et al. (2010) e Mendes (2012) que também não encontraram diferença estatística. Entretanto, dos animais avaliados, um apresentou criptorquidismo e outros dois apresentaram assimetria testicular. Estes dados de biometria mostraram-se inferiores aos de outros estudos. Isto porque cada raça tem um padrão de biometria testicular que pode variar entre equinos da mesma raça e animais da mesma espécie (Fonseca et al., 1997), sendo o tamanho testicular influenciado pela herança genética, escore corporal, alimentação e idade (Oliveira et al., 2002).

Tabela 1. Média e desvio-padrão referente a biometria e volume testicular dos garanhões do Grupamento Genético Baixadeiro com e sem bolsa escrotal.

	Com bolsa escrotal		Sem bolsa escrotal	
	TD	TE	TD	TE
Comprimento (mm)	65,34 ± 11,44	62,75 ± 15,20	61 ± 13,49	60,25 ± 11,82
Altura (mm)	35,34 ± 5,43	38 ± 6,52	31,34 ± 6,79	31 ± 7,48
Largura (mm)	46 ± 2,45	42 ± 12,19	40,67 ± 6,85	42,75 ± 3,69
Vol. Testicular (mL)	58,94 ± 21,42	59,96 ± 33,38	46,01 ± 23,09	45,79 ± 21,48
Peso (g)	-	-	66 ± 20,70	54 ± 23,548
Larg. Total (mm)	25 ± 3,67			

Letras distintas, na mesma linha indicam diferença pelo teste Qui-quadrado ($P < 0,05$).

Após a orquiectomia, o peso dos testículos (TD e TE) apresentou diferença ($P < 0,05$), o que pode estar relacionado à ausência de um dos testículos no animal criptorquídico, identificado por palpação da região inguinal e também devido à assimetria entre os testículos em dois animais. Os valores encontrados são inferiores aos citados na literatura, onde o peso testicular pode variar entre 150 e 400g de acordo com a raça e o tamanho do garanhão adulto (Aurich, 2005). Mendes (2012) encontrou valores de 190 e 150 para TE e TD respectivamente, para garanhões da raça Crioula. Pelo volume testicular, os valores encontrados ficaram abaixo do valor adequado de acordo com Pickett (1993), que é de 80 mm. Esta diferença pode estar relacionada ao pequeno porte dos animais, enquadrados na categoria de pôneis (Dados não publicados) ou devido às patologias apresentadas por eles.

Quanto aos aspectos histológicos, dentre os garanhões com criptorquidismo e com assimetria testicular, apresentaram edema, hemorragia e fibrose do parênquima. Histologicamente, os testículos criptórquios apresentam redução no diâmetro dos túbulos seminíferos e no número de camadas de células espermatogênicas, além de apresentar vacuolização dos túbulos seminíferos e aumento do conjuntivo intersticial (Cattelan et al., 2004). Resultado que diverge do encontrado nestes animais. O outro garanhão com testículos simétricos foi encontrado além de fibrose, degeneração testicular, entretanto estes resultados histológicos não são significativos.

Conclusão

Os animais em estudo apresentaram valores de biometria testicular abaixo do esperado para a espécie, além de patologias testiculares. Não sendo considerados aptos à reprodução e por isso retirados da função para não comprometer a genética do Grupamento.

Referências

- Aurich C.** Reproduktionsmedizin beim Pferd. Physiologie der Fortpflanzungsfunktionen beim Hengst. Stuttgart, Editor Parey Verlag, 2005. p.243-245.
- Borges GS, Melo MIV, Mambrini JVM, Snoeck PPN.** Biometria Testicular De Garanhões Da Raça Campolina. Boletim Indústria Animal, v.67, n.2, p.157-162, 2010.
- Cattelan, JW, Barnabé, PA, Toniollo, GH, Cadioli, FA.** Criptorquidismo em equinos. Brasília, DF: Suplemento Técnico. Revista CFMV, ano X, 2004. n. 32, p. 44-54.
- Chenier TS.** Anatomy and Examination of the normal testicle. In: Samper JC, Pycock JF, Mckinnon AO. Current Therapy in Equine Reproduction. Ed Saunder, Elsevier. 2007. p.494.
- Fonseca VO, Franco CS, Bergmann JAG, Chow LA, Assumpção TI.** Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) acasalados com elevado número de vacas. Arq Bras Med Vet Zootec, v.49, p.53-62, 1997.
- Gazolla AG, Serra OR, Lima FC, Souza JRST, Ruggieri AC.** Pelagens do cavalo da Raça Baixadeira. In: 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009, Maringá. Anais da 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Viçosa: SBZ, 2009.
- Gebauer MR, Pickett BW, Voss JL, Swierstra EE.** Reproductive physiology of the stallion: daily sperm output and testicular measurements. J Am Vet Med Assoc, v.165, n.8, p.711-713, 1974.
- Mendes LQ.** Aspectos biométricos e histológicos de testículos de garanhões da raça Crioula. 2012. 31f.



Dissertação (Mestrado em Medicina Animal) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

Oliveira, PC, Barros JBG, Cardoso CAD, Balieiro JCC, Mesquita JRC. Avaliação da biometria testicular e qualidade seminal em touros jovens Canchim, Limousin e Pardo Suíço. *Rev Bras Reprod Anim*, v.26, n.2, p. 61-63, 2002.

Pickett BW. Factors affecting sperm production and output. In: McKinnon AO, Voss JL. *Equine Reproduction*. 2Ed. Philadelphia: Lea & Feibiger, 1993. p. 689-704.

Thompson DL Jr, Pickett BW, Squires EL, Amann RP. Reproductive physiology of the stallions and Jack. In: Evans JW. *Horse breeding and management*. Texas, Ed Elsevier, 1992. p. 237-257.

Avaliação da condição reprodutiva das éguas “Baixadeiras” a campo

Evaluation of the reproductive condition of the mares “Baixadeiras” field

Laura Camelia Brandão Coêlho^{1,*}, Gustavo Vieira Santos², Jordeano Araujo Sousa¹, Laine Fernanda Almeida de Abreu¹, Nilmara Leal de Sousa¹, Ricardo de Macedo Chaves³, Felipe de Jesus Moraes Júnior⁴

¹Graduandos em Medicina Veterinária, CCA/UEMA; ²Veterinário Autônomo; ³Professor Adjunto III, Departamento das Clínicas, CCA/UEMA; ⁴ Bolsista de Pós-Doutorado, Mestrado em Ciência Animal, UEMA, São Luís, MA, Brasil.

*E-mail: laurabrandaocoelho@gmail.com

Abstract

The objective was to evaluate the breeding conditions in which the mares raised in swamp region at North of Maranhão (Baixada). It was selected 40 randomly female in breeding age in which it was held rectal touch for gestation diagnosis and with the aid of an ultrasound device was made, in mares empty, the evaluation of the ovaries, uterus and cervix to identify the phase of the estrous cycle and the presence of a possible pathology.

Keywords: Horses, Gynecology, fertility.

Palavras-chave: Equinos, Ginecologia, Fertilidade.

Introdução

Os animais da Baixada Maranhense apresentam alta rusticidade e são criados soltos, sem nenhum manejo reprodutivo. A égua por ser um animal de grande porte, possibilita um diagnóstico de gestação por palpação transretal e sua conformação vulvar possui grande importância na integridade do trato reprodutivo. Esta pode-se apresentar anormal, podendo exibir problemas e, conseqüentemente, subfertilidade. Pascoe (1979) ao analisar a relação entre a conformação perineal e a fertilidade em éguas desenvolveu o índice de Caslick para prever predisposição da égua com problemas reprodutivos causados pela conformação. O objetivo do trabalho foi analisar as condições reprodutivas que se encontram as éguas Baixadeiro. A publicação dos resultados trará desenvolvimento no setor da pecuária possibilitando a preservação da raça, além de sua genética.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Município de São Bento – MA de janeiro a junho de 2012. Foram selecionadas aleatoriamente 40 éguas Baixadeiras em idade reprodutiva realizando-se toque transretal para diagnóstico de gestação, auxiliado por ultrassom em éguas vazias, avaliando-se ovários, útero e cérvix identificando a fase do ciclo estral e presença de possível patologia. Para calcular o índice de Caslick foi utilizado transferidor de 180° acoplado a régua de 140mm (fig. 1) e um nível (fig. 2), através da fórmula $IC = A \times C$. Onde: (C) é o comprimento útil – distância entre a comissura dorsal da vulva e o assoalho isquiático; e (A) o ângulo da inclinação – diferença do ângulo medido da vulva e uma linha vertical. Foram classificadas em: IC até 50, boa conformação vulvar; IC entre 50 e 100, conformação vulvar razoável, passível de cirurgia corretiva de Caslick; IC >100: conformação vulvar inadequada à reprodução.



Figura 1. Transferidor de 180° acoplado a uma régua de 140mm.

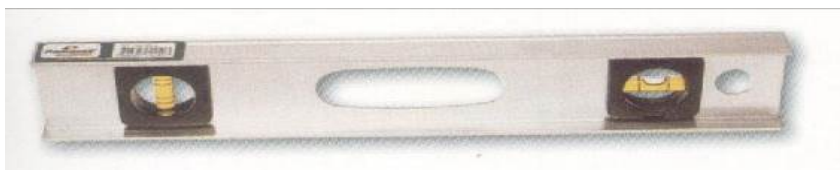


Figura 2. Nível utilizado para conferir maior precisão na mensuração do ângulo.

Resultados e Discussão

A avaliação do útero mostrou que não houve patologia, porém, o útero das éguas vazias apresentava-se flácido e sem contratilidade. Das 40 éguas, 26 estavam prenhes (gráf. 1), 6 delas com gestação até 90 dias, 2 entre 90 e 180 dias e 18 com gestação acima de 180 dias (graf. 2). A avaliação dos ovários foi feita em éguas

vazias, 4 delas um dos ovários atrofiado e o contralateral sem folículos acima de 15mm - acíclicas. Das 10 éguas vazias restantes, 9 estavam com potro ao pé, uma exibiu crescimento folicular significativo com presença de folículo dominante (fig. 4). As outras 9 éguas não apresentaram folículo acima de 15mm. Em nenhuma foi detectada a presença de corpo lúteo nos ovários. Na avaliação da conformação vulvar, (C) variou entre 2 e 3cm, (A) não ultrapassou 10°, onde o valor máximo do IC foi 30, com boa conformação vulvar.

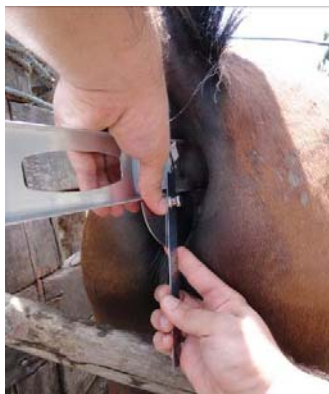


Figura 3. Imagem demonstrando a mensuração do ângulo da vulva.



Figura 4. US do ovário com crescimento folicular com presença de folículo dominante.

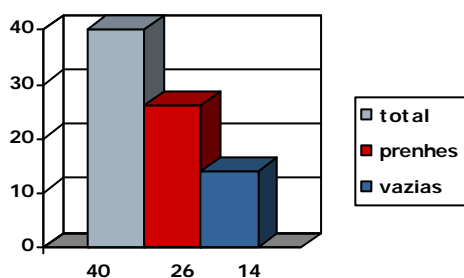


Gráfico 1. Éguas avaliadas

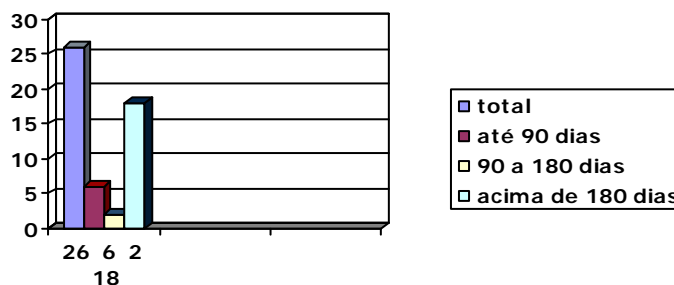


Gráfico. Éguas prenhes

Conclusão

Os resultados demonstram que as éguas baixadeiras, do Município de São Bento exibiram uma boa condição reprodutiva. Ainda que algumas pudessem não estar ciclando, 82,5% encontraram-se prenhe ou com potro ao pé. Todas apresentaram o aparelho reprodutor dentro dos padrões de normalidade com boa conformação vulvar.

Referências

- Hughes JP, Stabenfeldt GH, Evans JW.** Estrous cycle and ovulation in the mare. *Journal American Veterinary Medical Association*, v.161, n.11, p.1367-74, 1972.
- King SS, Douglas BL, Roser JF, Silvia WJ, Jones KL.** Differential lutolytic function between the physiological breeding season, autumn transition and persistent winter cyclicity in the mare. *Anim Reprod Sci*, v.117, n.3-4, p.232-40, 2009.
- Serra OR.** Condições de manejo, preservação e caracterização fenotípica do grupamento genético equino “Baixadeiro”. 77f. 2004. (Dissertação de Mestrado), Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, 2004.
- Tarouco KA.** Fisiologia reprodutiva da égua. Estacionalidade Reprodutiva: A estacionalidade dos acasalamentos, na maioria das espécies, PUCRS. [campus2.br/thompson/fisiologia reprodutiva da égua](http://campus2.br/thompson/fisiologia_reprodutiva_da_égua).



Avaliação ultrassonográfica e ensaio hormonal das éguas “Baixadeiro”

Sonographic evaluation and hormonal testing of mares “Baixadeiro”

Luciana Cordeiro Rosa^{1,*}, Eliane Cristina Silva Dias², Renatta Silva Melo³, Laine Fernanda Almeida de Abreu³, Felipe Lucas Correa Pereira⁴, Luiz Bruno Oliveira Chung⁵, Ricardo de Macedo Chaves⁷

¹Mestre em Ciência Animal, Bolsista de Apoio Técnico - LABRA; ²Médica Veterinária; ³Graduanda Medicina Veterinária UEMA; ⁴Graduando em Zootecnia UEMA; ⁵Mestrando em Ciência Animal UEMA; ⁶Professor Adjunto III UEMA, São Luís, MA, Brasil.

*E-mail: lucianacordeiorosa@bol.com.br

Abstract

This study aimed characterize aspects of uterine morphoecogenicity and CL, relating to the P4 concentrations during the rainy and dry seasons. Nine mares were used, synchronized with two doses of 1,0 mL PGF2 α and monitored by ultrasound and rectal palpation. The ecogenicity - uterine and CL - were determined by the degree of edema and glandular organization, respectively. Had blood collected by puncturing the jugular vein for dosing P4 by ELISA. Among the mares was no difference in ovulation rate between the periods ($P < 0,05$). As for uterine morphoecogenicity, there was no significant difference between periods ($P > 0,05$). There were differences between periods ($P < 0,05$) for plasma levels of P4, being higher in the rainy season. Regarding CL morphoecogenicity presented from anechoic to hyperechoic center. The changes in the uterine echogenicity and CL is the expected for the species as well as progesterone concentrations, showing no difference between the periods.

Keywords: equine, ovulation, progesterone

Palavras-chave: equinos, ovulação, progesterona

Introdução

Na microrregião da Baixada Maranhense destaca-se o grupamento genético de equinos “Baixadeiro” (Serra, 2004). Os equinos de modo geral, são considerados animais poliétricos estacionais (Ginther et al., 2008) que influencia sua atividade reprodutiva e interfere na variação das concentrações hormonais (Ginther et al., 2004).

Durante a fase folicular, o folículo sofre alterações que resultam na ovulação (Gastal e Gastal, 2011) formando o CL, secretando progesterona (P4). Sua concentração aumenta na circulação após a ovulação e atinge um pico no 6º dia, mantendo um platô (Ginther, 1995).

A ultrassonografia pode ser utilizada para monitorar o desenvolvimento folicular, avaliar características de ecogenicidade de CL assim como as modificações uterinas que ocorrem nesse período. Além disso, as dosagens de P4 representam um meio eficiente para indicar a atividade da glândula luteínica e ciclicidade das éguas (Arruda et al., 2001).

Ainda são limitados dados relacionados aos aspectos reprodutivos dos equinos deste grupamento genético, por isso este trabalho tem como objetivo caracterizar os aspectos de morfoecogenicidade de corpo lúteo e uterina relacionando com as concentrações de P4.

Material e Métodos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA – CONCEA/MCT UEMA), tendo o número de protocolo 019/2015.

O experimento foi realizado durante os períodos chuvoso e seco (FESB/UEMA, latitude 18°59'S; longitude 56°39'W). Foram utilizadas nove éguas com média de idade de $6,35 \pm 1,21$, sincronizadas com duas doses de 1,0 mL de PGF2 α num intervalo de 10 dias. Após 72 horas, foram monitoradas por palpção transretal e ultrassonografia (Mindray® DP 2200 VET) num intervalo de 48 horas entre as avaliações (Valle et al., 2005). A avaliação da ecotextura uterina foi determinada pelo grau de escore uterino seguindo a classificação de Samper e Pycocock (2007), com grau de edema entre 0 e 5. As características de CL foram avaliadas quanto à sua medida de ecogenicidade, escore de 1 a 6 (Arruda et al., 2001).

As éguas tiveram o sangue coletado por punção da veia jugular, em tubos heparinizados de 5 mL. As amostras foram centrifugadas a 1.500 x g por 10 minutos e o plasma foi decantado e armazenado em microtubos a -20°C (Ginther et al., 2008). As coletas iniciaram 72 horas após a sincronização e ocorreram em dias alternados até 10 dias pós-ovulação, acompanhando os dias de avaliação ultrassonográfica. As concentrações de P4 foram determinadas pelo método de enzimmunoensaio (ELISA), segundo procedimento recomendado pelo fabricante.

Foram calculados média e desvio-padrão das morfoecogenicidades uterina, CL e das concentrações de P4, sendo comparadas pelo teste Student Newman Keuls (SNK - SAS 9.4). A diferença da taxa de ovulação e das concentrações hormonais entre os períodos chuvoso e seco foram determinadas pelo teste do Qui-Quadrado.



O nível de significância considerado para as análises foi $P < 0,05$. O diâmetro do CL foi relacionado as concentrações de P4, assim como a média do diâmetro do CL com o diâmetro médio do folículo pré-ovulatório, todas estabelecidas pela correlação de Pearson.

Resultados e Discussão

Das éguas avaliadas, 66,67% (6/9) ovularam no período chuvoso enquanto 22,23% (2/9) ovularam no período seco, havendo diferença estatística ($P < 0,05$). Quanto à morfoecogenicidade uterina, as éguas apresentaram média de $0,39 \pm 0,33$ e $0,51 \pm 0,44$ para grau de edema, não havendo diferença significativa entre os períodos chuvoso e seco ($P > 0,05$). Onde o grau de edemaciação foi identificado pela presença de fluido e formação de pregas endometriais e essas mudanças ocorrem gradualmente ao longo do estro (Hayes et al., 1985).

Com relação a concentração de P4, houve diferença entre períodos ($P < 0,05$), sendo maior no período chuvoso quando ocorreu um maior número de ovulações (PC = $13,99 \pm 11,93$ e PS = $8,04 \pm 6,03$). Mas este fator pode ser devido a capacidade secretória do CL ou da taxa de catabolismo de P4, uma vez que os fatores que afetam a concentração de P4 em éguas cíclicas são o dia do ciclo e o número de ovulações (Nagy et al., 2004). Embora apresentassem diferença, as concentrações estiveram dentro do esperado para a espécie, pois um corpo lúteo maduro pode produzir em média 8-10 ng/mL até sofrer luteólise (Arruda et al., 2001).

Quanto à morfologia do CL, apresentaram média de morfoecogenicidade entre 4 a 6 (centro anecoico ou trabeculado a hiperecogênico) desde o dia da ovulação até dez dias após não havendo diferença significativa entre os períodos ($P > 0,05$) (Tab. 1). A ecogenicidade do tecido luteal varia de leve a moderada, sendo raro a alta ecogenicidade no início do diestro (Newcombe, 1994). Éguas podem apresentar CL com reduzida ecogenicidade ou área não-ecogênica na porção da glândula central formando um corpo hemorrágico e essa área pode ser visível entre os dias 0 e 3 após a ovulação. Mas pode ocorrer apenas a formação de CL com ecogenicidade uniforme (Pierson e Ginther, 1985).

Tabela 1. Média e desvio-padrão da morfoecogenicidade e diâmetro do corpo lúteo, e concentração de progesterona dias após a ovulação, nos períodos chuvoso e seco de 2015.

Dias após ov.	Período Chuvoso			Período Seco		
	ME (1-6)	Tamanho CL	Conc. P4 ng/mL	ME (1-6)	Tamanho CL	Conc. P4 ng/MI
0	5 ± 0^A	$30,93 \pm 5,53^D$	$5,87 \pm 6,45^E$	$5,33 \pm 0,47^A$	$38,94 \pm 1,13^C$	$1,25 \pm 1,02^F$
2	$4,5 \pm 0,90^A$	$35,57 \pm 0,63^D$	$17,5 \pm 16,45^E$	$5 \pm 0,81^A$	$43,94 \pm 7,29^C$	$7,5 \pm 5,40^F$
4	$5 \pm 0,63^A$	$32,04 \pm 5,81^D$	$18,0 \pm 11,66^E$	$4,33 \pm 0,47^A$	$42,64 \pm 6,41^C$	$8,33 \pm 4,71^F$
6	$5,6 \pm 0,48^A$	$31,45 \pm 5,40^D$	$18,0 \pm 11,66^E$	4 ± 0^A	$43,40 \pm 0,10^C$	$5 \pm 0,20^F$
8	5 ± 0^A	$32,63 \pm 3,73^C$	$23,33 \pm 11,78^E$	6 ± 0^A	$33,31 \pm 0,12^C$	$5 \pm 0,15^F$

Letras maiúsculas diferentes nas linhas, entre as colunas correspondentes, indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

O diâmetro médio do CL (PC: $33,13 \pm 5,17$ PS: $40,27 \pm 3,19$) apresentou diferença entre os períodos ($P < 0,05$), em que essa estrutura pode variar entre 18-25 mm de diâmetro (Newcombe, 1994). Resultados diferentes ao desse estudo e dos resultados encontrados por Arruda et al. (2001), que obteve valores médios de diâmetro 29,01 mm.

Quanto às correlações, o CL apresentou moderada relação com a concentração de P4 ($r = 0,446966$ no período chuvoso; $r = -0,999995$ no período seco). Este resultado corresponde ao relatado por Nagy et al. (2004), onde a morfologia do CL não difere nos níveis de P4. Townson et al. (1989) também observaram que não há diferença na produção de P4 e as áreas do CL; e forte relação em ambos períodos entre o diâmetro do CL e o diâmetro médio do folículo pré-ovulatório (FPOV - PC: $34,68 \pm 2,69$ PS: $43,71 \pm 1,63$; PC: $r = 0,607581$; PS: $r = 0,980764$). Como relatado por Gestal et al. (2000), que afirmam existir uma correlação entre o diâmetro do folículo pré-ovulatório e o diâmetro do CL.

Conclusão

As mudanças na ecogenicidade uterina e de CL correspondem ao esperado para a espécie assim como as concentrações de progesterona, não apresentando diferença entre os períodos.

Referências

- Arruda RP, Visintin JA, Fleury JJ, Garcia AR, Madureira EH, Celeghini ECC, Neves Neto Jr. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos? *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.35, n.1, p.25-28, 2001.
- Gastal MO, Gestal EL, Spinelli V, Ginther OJ. Body conditions influences diameters of the ovulatory follicle in mares. *Biol Reprod*, v.62, p.222, 2000.
- Gastal EL, Gestal MO. Equine preovulatory follicle: blood flow changes, prediction of ovulation and fertility. *Rev Bras Reprod Anim*, v.35, p.239-252, 2011.



- Ginther OJ.** Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects Ed: EquiServices, Cross Plains (2a. ed), 1995, 640p.
- Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO, Beg MA.** Seasonal influence on equine follicle dynamics. *Anim Reprod Sci*, v.1, p.31-44, 2004.
- Ginther OJ, Gastal EL, Rodrigues BL, Gastal MO, Beg MA.** Follicle diameters and hormones concentrations in the development of single versus double ovulation in mares. *Theriogenology*, v. 69, p. 583-590, 2008.
- Hayes KE, Pierson RA, Scraba ST, Ginther OJ.** Effects of estrous cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. *Theriogenology*, v.24, p.465-477, 1985.
- Nagy P, Huszenicza G, Reiczigel J, Juhasz J, Kulcsar M, Abavary K, Guillaume D.** Factors affecting plasma progesterone concentration and the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. *Theriogenology*, v.61, p.203-214, 2004.
- Newcombe JR.** Identification of the corpus luteum in nonpregnant mares at days 13 to 16 using ultrasound. *Reproduction Report*, v.14, p.655-657, 1994.
- Pierson RA, Ginther OJ.** Ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare. *Theriogenology*, v.23, p.795-806, 1985.
- Samper JC, Pycocock JF.** The normal uterus in estrus. In: Samper JC. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Ed: Saunders-Elsevier, 2007, p. 32-35.
- Serra OR.** Condições de manejo, preservação e caracterização fenotípica do grupo genético equino "Baixadeiro". 2004. 77p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) Programa de Pós-Graduação em Agroecologia - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2004.
- Townson DH, Pierson RA, Ginther OJ.** Characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies. *Theriogenology*, v.32, p.197-20, 1989.
- Valle GR, Silva Filho JM, Palhares MS.** Características cíclicas e ovulatórias de éguas mestiças em Minas Gerais, Brasil. *Arq Ciênc Vet Zootec*, v.8, p.155-163, 2005.



Efeito do dia da transferência de embrião na taxa de prenhez em éguas

Effect of the day of embryo transfer on pregnancy rate of mares

Naia de Britto e Alves^{1*}, Nilmara Leal de Sousa², Hallef Mithcel Pereira Trovão², Sâmara Cristine Costa Pinto³, Diego Santos Almeida¹, Andrezza Caroline Aragão da Silva⁴, Felipe de Jesus Moraes Júnior⁵, Fernando Andrade Souza⁶

¹Médica Veterinária autônoma; ²Graduanda em Medicina Veterinária/UEMA; ³Doutoranda USP/VRA; ⁴Graduanda em Medicina Veterinária/UFPI⁵; Bolsista de Pós-doutorado – Mestrado em Ciência Animal/CAPEs – UEMA; ⁶Professor Adjunto I CCBN/UFAC, Rio Branco, AC, Brasil.

*E-mail: nbalves@gmail.com

Abstract

Embryo transfer in mares is a very important biotechnology to improve genetic material. The aim of the present study was to evaluate the best day for embryo transfer, according to the synchronization between the donor and the recipient mare, evaluating quality and stage of the collected embryo. It was obtained an embryo recovery rate of 56.06% of the embryo flushes, a rate that was similar for D7, D8 and D9. There was no statistical difference relating to embryo stage and quality and collection day, and neither to the pregnancy rate after the transfer, according to the embryo age.

Keywords: embryo transfer, biotechnology, equine.

Palavras-chave: transferência de embrião, biotecnologia, equino.

Introdução

Sabe-se que o gargalo na eficácia da transferência de embriões encontra-se no uso das receptoras. Ultimamente têm-se procurado novos métodos para otimizar o uso das receptoras das centrais de reprodução que trabalham com programas de transferência de embrião. A transferência de embrião é uma biotécnica baseada no princípio da multiplicação da progênie de fêmeas consideradas superiores dentro de um rebanho. Fundamenta-se na obtenção de embriões de uma fêmea doadora para em seguida transferi-los para fêmeas receptoras, com a finalidade de completar o período de gestação. Avaliando a importância do melhoramento genético do rebanho é uma das técnicas mais acessíveis, e proporciona o melhor aproveitamento de uma doadora, multiplicando seu material genético (Bortot, 2013). Utiliza-se vários métodos para sincronizar as doadoras e receptoras, dentre eles: ovulação espontânea, indução da ovulação e terapia hormonal para receptoras acíclicas. Entretanto, a utilização de éguas naturalmente sincronizadas requer um número elevado de receptoras para cada doadora (Zerlotti, 2012). O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do dia da transferência de embrião na taxa de prenhez em éguas, com base na sincronização entre doadora e receptora. Bem como avaliar a qualidade e o estágio de desenvolvimento embrionário e observar se a qualidade uterina da receptora pode influenciar na efetivação do embrião.

Material e Métodos

Foram utilizadas 22 matrizes da raça Quarto de Milha, entre as estações de monta de 2013 a 2016, de um haras localizado no município de São Luís/MA. Foram usadas éguas com idade entre 2 e 20 anos e peso entre 400 e 530 Kg. As receptoras eram animais sem raça definida, com idade média de 6 anos, pesando em média 370 Kg. Foi feito acompanhamento da dinâmica folicular ovariana das doadoras e das receptoras, para determinação do melhor momento da inseminação artificial nas doadoras e observação da ovulação, definida como D0, considerado como o ponto inicial da sincronização, visando obter a sincronia de +1 a -2 entre doadora e receptora. O aparelho de ultrassonografia utilizado foi o CHISON D600VET (USProducts Eletromedicina, Brasil), com transdutor linear transretal de 7,0 MHz, a cada 48h para determinar o desenvolvimento folicular durante o ciclo estral. A partir do D0, contou-se 7 dias para o lavado uterino e colheita do embrião. O embrião foi classificado segundo sua qualidade e estágio de desenvolvimento segundo a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões – IETS (Stringfellow e Seidel, 1998), e preparado para inoção na égua receptora, sendo feito o diagnóstico de gestação, por meio da ultrassonografia, 7 dias após a transferência.

Resultados e Discussão

Durante a realização do trabalho, foram realizados 66 procedimentos para coletas de embriões, deste total foi possível recuperar 37 embriões por meio de lavagem uterina; obtendo 56,06% de taxa de recuperação embrionária durante o período experimental. Este resultado pode ser reflexo de vários fatores, dentre eles, a qualidade do sêmen utilizado na inseminação (Francel et al., 1987) e o meio de conservação do sêmen que utilizado para inseminar as doadoras, seja ele fresco, refrigerado ou congelado, influencia no índice de recuperação embrionária (Fleury et al., 1997). Segundo McCue (2011) a idade da égua doadora também pode



influenciar a taxa de recuperação. Este obteve em seu estudo 57,1% de recuperação em lavados realizados em éguas com idade \leq a 15 anos e 39,4% de embriões recuperados em éguas com mais de 15 anos de idade. A taxa de recuperação embrionária foi semelhante ($P > 0,05$) para embriões coletados com idade entre D7, D8 e D9, foi 66,67% (4/6), 51,35% (19/37) e 60,87% (14/23), respectivamente. Semelhantes aos achados de Fleury e Alvarenga (1999) que registraram taxas de recuperação embrionária de 49,3%, 58,0% e 54,5% nos dias 7, 8 e 9, respectivamente. Jacob et al. (2012) encontraram taxas de 42%, 61%, 66%, 59% e 56% nos dias 6, 7, 8, 9 e 10, respectivamente. O dia de coleta não afetou ($P > 0,05$) o estágio e qualidade dos embriões (Tab. 1). Este efeito pode ser explicado, pois os ovócitos não fecundados, zigotos e embriões com de baixa qualidade ficam retidos nos ovidutos e não chegam à cavidade uterina na espécie equina. (Junior, 2003). Com relação à idade do embrião no dia da coleta, D7 (25%; 1/4); D8 (31,38%; 6/19) e D9 (42,86%; 6/14) não foi observado diferença significativa quando relacionada à taxa de prenhez após a transferência do embrião. No estudo de Vogelsang et al. (1985), que comparou as taxas de prenhez de embriões de diferentes idades, obteve 0% de prenhez com embriões de 9 dias e 10 dias, enquanto as taxas de prenhez foram: D6 - 61%, D7 - 55% e D8 - 25%. Já Fleury e Alvarenga, (1999), obtiveram uma taxa de prenhez de 74,5% para embriões D7, 74,7% para embriões D8 e 76,5% para embriões D9 e concluíram que com adequada manipulação e técnica de transferência, os resultados obtidos com embriões de D8 e D9 são similares àquelas obtidas para embriões D7. Squires (1993) afirma que, em diversos estudos na Universidade do Colorado, não foram encontradas diferenças significativas nas taxas de prenhez entre embriões D6, D7 e D8, tornando, assim, flexível o dia da colheita do embrião.

Tabela 1. Análise do estágio e qualidade dos embriões coletados em relação ao dia de coleta.

	Total de embriões	Estádio e Qualidade			
		51	61	71	72
D7	4	1(25%) ^a	3(75%) ^a	0	0
D8	19	2(10,53%) ^a	12(63,16%) ^a	4(21,05%) ^a	1
D9	14	2(14,29%) ^a	6(42,86%) ^a	6(42,86%) ^a	0

^aNúmeros seguidos de letras desiguais na coluna diferem pelo teste de qui-quadrado ($P < 0,05$).

Consideração Final

No presente estudo, o dia coleta dos embriões não melhorou a taxa de prenhez. Esse fato pode ser justificado pelos vários fatores que interferem na técnica de transferência de embriões, como a idade da doadora, a qualidade do sêmen utilizado, a sincronia entre doadora e receptora, o manejo alimentar e sanitário do plantel. Com isso, ressalta-se a importância de manter os estudos sobre transferências de embriões para obtenção de melhores índices.

Referências

- Bortot DC.** Aspectos da reprodução equina: Inseminação artificial e Transferência de embrião: revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Ano XI, n.21, 2013.
- FLEURY JJ, Pinto AJ, Arruda RP, Madureira EH, Lima CG.** Efeitos do ganhão e técnica reprodutiva sobre os índices de recuperação e gestação em um programa de transferência de embriões em equinos da raça Mangalarga. Anais Arq Fac Vet, UFRGS, v.25, n.1, p.226, 1997.
- Fleury JJ, Alvarenga MA.** Effects of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. Theriogenology, v.51, n.1, p.261, 1999.
- Francel AT, Amann RP, Pickett BW.** Motility and fertility of equine spermatozoa in a milk extender over 24h at 20°C. Theriogenology, v.27, p.517-526, 1987.
- Jacob JCF, Haag KT, Santos GO, Oliveira JP, Gastal MO, Gastal EL.** Effect of embryo age and recipient asynchrony on pregnancy rates in a comercial equine embryo transfer program. Theriogenology, v.77, p.1159-1166, 2012.
- Junior PT.** Transferência Embrionária em Equinos: Uma Técnica ao alcance da Coudelaria de Rincão. Rio de Janeiro: Escola de Equitação do Exército (EsEqEx), 2003. 41p.
- Mccue PM.** Transferência de Embriões em Equinos - Recuperação do Embrião. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP, v.9, n.3, p.94-98, 2011.
- Squires EL.** Progesterone. In: Mckinnon AO, Voss JL. Equine Reproduction. Philadelphia: Lea & Febiger, p.57-64, 1993.
- Stringfellow DA, Seidel SM.** Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. IETS, p.112-113, Illinois, 1998.
- Vogelsang SG, Bondioli KR, Massey JM.** Commercial application of equine embryo transfer. Equine Veterinary Journal Suppl, v.3, p.89-91, 1985.
- Zerlotti M.** Como selecionar e preparar éguas receptoras para a transferência de embriões. In: Conferência Anual da Abraveq, 13, 2012, Campinas. Anais... Campinas, 2012. v.41, p. 68-71.



Intervalo entre sincronização e ovulação das éguas Baixadeiro utilizando PGF_{2α}

Interval between ovulation and synchronization of Baixadeiro mares using PGF_{2α}

Luciana Cordeiro Rosa^{1*}, Eliane Cristina Silva Dias², Renatta Silva Melo³, Felipe Lucas Correa Pereira⁴,
Laine Fernanda Almeida de Abreu³, Luiz Bruno Oliveira Chung⁵, Ricardo de Macedo Chaves⁶

¹Mestre em Ciência Animal UEMA, Bolsista de Apoio Técnico LABRA; ²Médica Veterinária; ³Graduanda Medicina Veterinária UEMA; ⁴Graduando Zootecnia UEMA; ⁵Mestrando em Ciência Animal UEMA; ⁶Professor Adjunto III UEMA, São Luís, MA.

*E-mail: lucianacordeiorosa@bol.com.br

Abstract

The study aimed to verify the synchronization of mares genetic grouping Baixadeiro using PGF_{2α}. We used 8 mares being established two synchronization protocols - Protocol I: IM PGF_{2α} dose; Protocol II: two doses (PGF_{2α}, IM) with 10-day interval. After 72 hours were monitored daily by means of ultrasound to monitor follicle development. The evaluated mares showed interval between treatment and ovulation 11,16 ± 1,46 days for T1 and 5,2 ± 0,9 days for T2, with statistically significant difference (P < 0,05). As the diameter of the pre-ovulatory follicle was found average of 38,08 ± 0,97 at T1 and 37,31 ± 3,45 in T2, with no significant difference between them (P > 0,05). Thus, treatment with two doses of PGF_{2α} promotes return to cyclicity and is effective in synchronizing Baixadeiro mares which had follicular development patterns within the expected range for the species.

Keywords: equines, synchronization, prostaglandin

Palavras-chave: equinos, sincronização, prostaglandina

Introdução

A sincronização de estros em éguas é uma biotécnica que ainda enfrenta alguns entraves devido à fisiologia da espécie. Existem formas variadas de manipular o estro e na ausência de exames ultrassonográficos ou falhas na identificação do comportamento sexual, a administração de PGF_{2α} é o método mais econômico e eficiente utilizado na reprodução para a sincronização de éguas (Metcalf et al., 2010). A PGF_{2α} atua encurtando o ciclo estral, tratando éguas em diestro persistente e promovendo a interrupção precoce da gestação (Newcombe et al., 2008).

Além disso, ela tem sido utilizada para promover a luteólise com regressão do CL, reduzindo assim o comprimento do diestro e promover o retorno do estro das éguas. O intervalo entre tratamento e ovulação é altamente variável, de 2 a 16 dias (Cuervo-Arango et al., 2015) independente do dia do ciclo estral que o tratamento foi iniciado (Bergfelt et al., 2006). Nesse sentido, o trabalho teve como objetivo verificar a sincronização das éguas do grupamento genético Baixadeiro utilizando PGF_{2α} submetidas a diferentes protocolos.

Material e Métodos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA – CONCEA/MCT UEMA), tendo o número de protocolo 019/2015.

Foram utilizadas 8 éguas pertencentes à Unidade Estudo, Pesquisa e Conservação do Cavallo Baixadeiro (UEPCCB\UEMA), com média de ECC de 4,5 e média de idade de 6,35 ± 1,21.

Dois protocolos de sincronização foram estabelecidos - para o protocolo I (T1) administrou-se uma dose de PGF_{2α} IM e para o protocolo II (T2), duas doses (PGF_{2α}, IM) com intervalo de 10 dias. Após 72 horas, foram monitoradas diariamente por meio de ultrassonografia (Mindray® DP 2200 VET) e acompanhou-se o desenvolvimento folicular até a ovulação. Os folículos foram mensurados para determinação do diâmetro do folículo pré-ovulatório.

Os dados foram analisados pela média e desvio padrão e a diferença entre os resultados foram determinadas pelo Qui-Quadrado com nível de significância P < 0,05.

Resultados e Discussão

As éguas avaliadas apresentaram intervalo entre tratamento e ovulação de 11,16 ± 1,46 dias para o T1 e 5,2 ± 0,9 dias para o T2, apresentando diferença estatística (p < 0,05). Entretanto, duas éguas não ovularam após o T1. Isto ocorre quando a PGF_{2α} é aplicada em qualquer fase do ciclo reprodutivo e requer o uso de duas doses consecutivas e intervaladas para a sincronização (Irvine, 1993). Sendo este tratamento mais eficiente a partir do quinto dia após a ovulação (Aurich, 2011).

Outros estudos avaliaram o intervalo para ovulação e a resposta da sincronização com diferentes tratamentos, onde foi encontrado valores de 7,52 ± 0,21 dias para éguas Standard Breed e 8,4 ± 0,1 dias e éguas Polo Pony (Cuervo-Arango et al., 2015), 7 ± 1,8 dias (Coffman et al., 2014) e 8,4 ± 2,5 dias (Bender et al., 2015)



para éguas Quarto de Milha, demonstrando a semelhança aos resultados encontrados neste trabalho.

Isto porque, em éguas cíclicas normais, a administração do agente luteolítico promove o início do estro em média 3-4 dias e ovulação 8-10 dias após o tratamento (Samper, 2008), estando o resultado encontrado de acordo com o esperado. Entretanto, esse intervalo é dependente da dose administrada (Cuervo-Arango et al., 2015) e do tamanho do folículo no momento da administração (Samper, 2008; Bender et al., 2015), como registrado nesse estudo, quando realizado o tratamento com duas doses de PGF_{2α} uma égua ovulou 72h após a administração da segunda dose. Pois a presença de um grande folículo no início do tratamento resulta em ovulação em 72 horas (Samper, 2008), encurtando o intervalo entre tratamento e ovulação (Cuervo-Arango et al., 2015). Enquanto éguas que apresentam pequenos folículos levam mais tempo para o desenvolvimento de um folículo dominante e a ovulação (Bender et al., 2015).

Quanto ao diâmetro do folículo pré-ovulatório foi encontrado média de $38,08 \pm 0,97$ no T1 e $37,31 \pm 3,45$ no T2, não apresentando diferença entre eles ($P > 0,05$). Os diâmetros dos folículos pré-ovulatórios registrados tiveram valores médios dentro do esperado para a espécie. De acordo com Blanchard et al. (1998), a maioria das éguas ovulam com folículo medindo 40 a 45 mm. Assim, trabalhos que avaliaram o diâmetro médio do folículo pré-ovulatório de diferentes raças encontraram os seguintes resultados, $39,95 \pm 4,84$ mm em éguas Thoroughbred (Davies Morel et al., 2010); $41,34 \pm 2,14$ mm nas éguas Paso Fino Colombiano; $49,5 \pm 2,0$ mm nas éguas Pantaneiro (Zúccari, 2002); 49,3 mm para éguas vazias da Raça Campolina (Zúccari, 1990). Estes dados demonstram a variabilidade dos diâmetros entre raças, porém, os resultados encontrados para as éguas Baixadeiro correspondem ao esperado para a espécie, uma vez que o diâmetro máximo do folículo pré-ovulatório está relacionado com a época do ano, a raça e o tipo de égua (Ginther, 1995).

O desenvolvimento folicular é o principal fator que influencia no intervalo entre tratamento com PGF_{2α} e ovulação, que por sua vez depende, dentre outros fatores, dos aspectos individuais das éguas (Cuervo-Arango et al., 2015).

Conclusão

O tratamento com duas doses de PGF_{2α} promove o retorno à ciclicidade e é eficaz na sincronização das éguas Baixadeiro, quando as condições de manejo e escore são adequadas. Além disso, apresentaram padrões de desenvolvimento folicular dentro do esperado para a espécie.

Referências

- Aurich C. Reproductive cycles of horses. *Anim Reprod Sci*, v.124, p. 220-228, 2011.
- Bender ESC, Sampaio BFB, Nogueira BG, Costa-e-Silva EV, Zúccari CESN. Condição corporal e atividade reprodutiva de éguas. *Archivos Zootecnia*, v.63, p.55-67, 2014.
- Blanchard TL, Varner DD, Schumacher J. *Manual of Equine Reproduction*. Editora Missouri: Mosby. 2ed, 1998, 249p.
- Bergfelt DR, Pierson RA, Ginther OJ. Regression and resurgence of the CL following PGF_{2α} treatment 3 days after ovulation in mares. *Theriogenology*, v.65, p.1605-1619, 2006.
- Coffman EA, Pinto CRF, Snyder HK, Leisinger CA, Cole K, Whisnant CS. Antiluteogenic effects of serial prostaglandin F_{2α} administration in cycling mares. *Theriogenology*, v.82, p.1241-1245, 2014.
- Cuervo-Arango J, Mateu-Sánchez S, Aguillar JJ, Nielsen JM, Etcharren V, Vettorazzi ML, Newcombe JR. The effect of the interval from PGF treatment to ovulation on embryo recovery and pregnancy rate in the mare. *Theriogenology*, v.83, p.1272-1278, 2015.
- Davies Morel MCG, Newcombe JR, Hayward K. Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). *Theriogenology*, v.74, p.1241-1247, 2010.
- Ginther OJ. *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects*. 2ed. EquiServices, Cross Plains, 1995. p. 640.
- Irvine CHG. Prostaglandins. In: McKinnon AO, Voss L (Ed.) *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.319-324.
- Metcalf ES, Thompson M M. The effect of PGF_{2α} – induction of estrous on pregnancy rates in mares. *J Equine Vet Sci*, v.30, p.196-199, 2010.
- Newcombe JR, Jochle W, Cuervo-Arango J. Effect of dose of cloprostenol on the interval to ovulation in the diestrous mare: a retrospective study. *J Equine Vet Sci*, v.28, p.532-539, 2008.
- Samper JC. Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. *Theriogenology*, v.70, p.445-447, 2008.
- Zúccari CESN. *Eficiência reprodutiva e dinâmica folicular de acordo com a condição corporal de éguas da raça Campolina*. Belo Horizonte, 1990. 68p. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1990.
- Zúccari CESN, Nunes, DB, Corrêa Filho RAC. *Eficiência reprodutiva de éguas da raça Pantaneira durante as estações de monta 1995/2000*. *Archivos Zootecnia*. v.51, p.139-148, 2002.



Laceração perineal de 3º grau em égua Quarto de Milha

3º grade Perineal laceration in mare Quarter horse

Valdeci Rodrigues de Sousa Junior^{1,*}, Siluana Benvindo Ferreira², Lauro César Soares Feitosa², Gerlan Vieira de Sousa², José Adalmir Torres de Souza²

¹Instituto Brasileiro de Veterinária – IBVET; ²Universidade Federal do Piauí, UFPI, Teresina, PI, Brasil.

*E-mail: valdeciju@hotmail.com

Abstract

The present report describes the occurrence of a third degree perineal laceration of a Quarter Horse mare and the clinical and surgical measures addressed. During the anamnesis it was reported that the female presented a dystocic birth with obstetric maneuvers for the removal of a dead colt from the handler. A reproductive clinical examination revealed third degree perineal laceration compromising mucosa of the vulva, vestibule and vagina with presence of hemorrhage, small amount purulent exudate, pnemovagina and presence of a rectovaginal communication orifice with fecal contamination. The surgical treatment approached was vulvoplasty for plastic recovery of the vulva, perineum and rectum allied to the use of antibiotic therapy, anti-inflammatory, cleaning of the lesion and adequate diet. The treatment used was successful, associated with veterinary monitoring during the pre, trans and postoperative period, thus minimizing the risks of compromising the mare's reproductive efficiency.

Keywords: Equine, reproduction, perineal laceration.

Palavras-chave: Equídeos, reprodução, laceração perineal.

Introdução

As afecções traumáticas reto-vestibulares ocorrem em muitas espécies, contudo, são descritos comumente em éguas e representam um dos maiores desafios para os médicos veterinários de campo. Estas injúrias acontecem durante o transcurso de um parto normal devido aos esforços excessivos realizados pela égua durante a expulsão do feto, entretanto, estão mais frequentemente associadas com distocias, éguas de temperamento nervoso, tração forçada de potros absolutos ou relativos grandes, produtos que apresentem anomalias hereditárias ou adquiridas, no decorrer da manipulação imprudente e em casos de fetotomia (Prestes e Lourenção, 2015). Dentre os principais traumas cirúrgicos evidenciados nestas situações destacam-se as fístulas retovaginais e as lacerações perineais.

As lacerações perineais constituem um dano ao corpo perineal delimitado sendo classificadas em perineais de primeiro, segundo e terceiro grau de acordo com profundidade e grau de destruição tecidual. Aquelas de primeiro grau geralmente são autolimitantes e envolvem a lesão da mucosa dorsal do vestibulo vaginal e da porção superior da vulva, incluindo a pele com mínimo dano muscular. Lacerações de segundo grau compreendem a ruptura da musculatura vulvo-vestibular, especialmente do corpo perineal, resguardando a integridade do assoalho retal e do esfíncter anal. Nas dilacerações de terceiro grau, incide a divisão traumática da parede dorsal da vagina, do assoalho retal, esfíncter anal e corpo perineal, com conseqüente perda de tecido. As síbalas passam a invadir passivamente o espaço vaginal (Prestes e Lourenção, 2015).

O diagnóstico fundamenta-se na inspeção clínica da região, sendo fácil de ser estabelecido e relacionando-se na maioria das vezes ao parto e o tratamento envolve o aplicação de antissépticos locais e pomadas emolientes, assim como o tratamento cirúrgico (vulvoplastia) realizadas através da recuperação plástica da vulva, períneo e reto, caso este último esteja envolvido.

O presente relato descreve a ocorrência de uma laceração perineal de terceiro grau de uma égua da raça Quarto de Milha e as medidas terapêuticas adotadas.

Material e Métodos

Foi atendida uma égua na cidade de Picos – Piauí, raça Quarto de Milha, com idade de cinco anos, pesando aproximadamente 350 kg. Na anamnese foi relatado que a fêmea havia tido um parto distócico á dois dias, sendo que foi mencionado o uso de manipulação obstétrica por parte do responsável pelo animal com retirada de um potro já morto. Observou-se, no exame clínico, que o animal encontrava-se em estação, com bom estado nutricional e com todos os parâmetros vitais dentro da normalidade, contudo, no exame clínico especial do trato reprodutivo observou-se laceração perineal de 3º grau (Fig. 1.), mucosa da vulva, vestibulo e vagina com presença de hemorragia, pequena quantidade exsudato purulento, pnemovagina e presença de um orifício de comunicação retovaginal (Fig. 2.), com aproximadamente 05 centímetros de diâmetro no assoalho da vagina com contaminação fecal. O hemograma demonstrou uma anemia normocítica, normocrômica, anisocitose e trombocitose e o leucograma apresentou leucócitos morfológicamente normais.

O animal foi submetido à antibioticoterapia (Benzilpenicilina G Procaína e G Benzatina 10.000.000 UI, Sulfato de Dihidroestreptomicina 10.500 mg, Piroxicam 1.000 mg em veículo q.s.p., por via intramuscular(IM)

profunda sendo utilizado 20000 UI/Kg(10 mL)) durante sete dias; anti-inflamatório por três dias (flunixin meglumina 1.1 mg/kg IM, uma vez ao dia) e 5000 UI de soro antitetânico repetindo a dose após quinze dias e ocitocina (2ml). Além disso, a limpeza diária da área lesionada com água e sabão neutro seguida de aplicação de antibiótico tópico a base de penicilina G benzatina, procaína e dihidroestreptomicina e uso de repelente. A dieta empregada foi capim verde com elevado teor de água com objetivo de diminuir a consistência das fezes a fim de modo a deixa-las pastosas.



Figura 1. Imagem demonstrando uma laceração perineal de 3º grau em égua com ruptura da musculatura vulvo-vestibular.



Figura 2. Imagem demonstrando orifício de comunicação retovaginal em um caso de laceração perineal de 3º grau em égua.

O animal foi submetido à cirurgia, em que utilizou-se 200 mg de xilazina 10% por via endovenosa (EV) como medicação pré-anestésica. O animal foi contido em um brete e a região lesionada foi higienizada com água e sabão, logo após realizou-se a anti-sepsia com clorexidina a 2 %. A cirurgia foi realizada com o animal em estação sob anestesia epidural caudal baixa, realizada entre o sacro e a primeira vertebra coccígea, com cloridrato de lidocaína em solução a

2% sem vasoconstrictor. Adicionalmente utilizou-se do mesmo anestésico na genitália externa com o objetivo de alcançar uma maior dessensibilização da região abordada. O tratamento cirúrgico abordado foi a vulvoplastia para recuperação plástica da vulva, períneo e reto.

Resultados e Discussão

A causa de laceração perineal encontrada neste caso pode estar associada à manipulação descuidada durante o parto distócico concordando com Prestes e Lourenção (2015). A evolução do trauma foi observada através da pneumovagina, além disso Farias et al., (2014) relataram também sinais clínicos de urovagina, vaginite, endometrites, com consequente quadro de infertilidade, e em casos graves a morte da fêmea no transcurso da laceração.

A dieta desempenha papel importante no tratamento reduzindo os riscos de deiscência da ferida e promover a cicatrização.

A abordagem clínica e cirúrgica empregada neste caso concorda com Jackson (2009), em que casos cirúrgicos como em lacerações de grau III devem ser levados em consideração o tempo decorrido e aplicação de exame clínico cuidadoso, bem como o debridamento da lesão, uso de soro antitetânico, antibiótico e anti-inflamatório, cuidados estes empregados neste caso.

Cada caso apresenta particularidades em decorrência do local em que os animais são mantidos, tipo e da característica da lesão, do manejo imposto aos animais, dos cuidados com a lesão, das condições físicas onde são realizados os procedimentos reparativos e principalmente o regime imposto durante o pré, trans e pós-operatório (Prestes e Lourenção, 2015). Apesar de todos os cuidados adotados complicações poderão vir a acontecer no pós-operatório cirúrgico.

Consideração Final

Podemos concluir que a laceração perineal de terceiro grau é uma realidade frequente na clínica cirúrgica de equinos e podem ser tratadas a campo, desde que haja o acompanhamento veterinário adequado de



modo a não comprometer a eficiência reprodutiva da égua.

Referências

Farias MC, Silva ACP, Boudux FS, Bartolomeu CC, Oliveira MAL, Lima PF. Reconstrução de períneo em égua à campo: Relato de Caso. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, v.17, n.3, p. 116, 2014.

Jackson PGG. *Obstetrícia Veterinária*. 2a. ed. São Paulo: Rocca, 2009.

Prestes NC, Lourenção JAC. Como enfrentar os obstáculos frequentes em éguas portadores de alterações genitais passíveis de tratamento cirúrgico. *Rev Bras Reprod Anim*, v.39, p.214-219, 2015.



Uso de hCG e deslorelina na indução de ovulação de éguas cíclicas no Agreste de Pernambuco

Use of hCG and deslorelin in mares ovulation induction in Agreste of Pernambuco

Celso Henrique Souza Costa Barros¹, Cícero Soares dos Santos^{1*}, Victor Netto Maia², Mabel Freitas Cordeiro³, Edilson Soares Lopes Júnior³

¹Doutorandos em Ciência Animal, da UESC e UFPI, respectivamente; ²Médico Veterinário do Centro de Equinos de Pernambuco (CEPE) e docente da UNINASSAU; ³Docentes do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina, PE, Brasil.

*Email: cssvet@yahoo.com.br

Abstract

The experiment aimed to compare the efficiency of deslorelin and hCG to induce ovulation Quarter Horse mares. This experiment was conducted at the Center for Equine Pernambuco - CEPE, in the town of Gravatá-PE, in February 2013. The animals were divided in Group 1 (n=10) received, intramuscular, Deslorelin 1000 mg while Group 2 (n = 10) received, Intravenous, 5000 IU of hCG. 24 hours after administration of the ovulation inducing were inseminated with semen from a stallion. After 15 days of AI, the pregnancy diagnosis was made. The data from this study were analyzed using the statistical package SAS, (P < 0.05). The fertility rate found was 80.0% in group 1 and 70% in group 2 (P > 0.05). The drugs tested successfully induce ovulation.

Keywords: Deslorelin; equine, hCG, induce ovulation.

Palavras-chave: Deslorelina, equino, hCG, indução da ovulação

Introdução

Individualmente, cada égua, pode apresentar uma significativa variabilidade quanto à duração do período de estro, momento da ovulação, para aplicação de biotecnologias na reprodução equina, como a Inseminação Artificial (IA), requer um rigoroso controle do ciclo estral.

Os fármacos mais utilizados para induzir as ovulações equinas são a Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) e os análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), como, por exemplo, a deslorelina (Chavatte e Palmer, 1998). No entanto, muitos estudos vêm sendo realizados, a fim de encontrar uma solução alternativa na indução da ovulação em éguas, já que o uso frequente de hCG em éguas poderia levar a formação de anticorpos anti-hCG (Wilson et al.,1990).

Portanto, objetivou avaliar o efeito da hCG e deslorelina sobre o desempenho reprodutivo de éguas Quarto de Milha cíclicas, submetidas à indução de ovulação e Inseminação Artificial.

Material e Métodos

Este trabalho foi aprovado no comitê de ética 0001/190213 da UNIVASF.

Este experimento foi realizado no Centro de Equinos de Pernambuco – CEPE, localizado no município de Gravatá-PE (latitude de 8°12'04" S, longitude de 35°33'53" O), região do Agreste de Pernambuco, no mês de fevereiro de 2013. Vinte éguas da raça Quarto de Milha, lactantes ou não, com idade entre 3 e 20 anos

Após a observação do estro, o trato reprodutivo da fêmea foi examinado, por ultrassonografia transretal, com o objetivo de determinar a fase do ciclo estral. O diâmetro folicular foi avaliado, pela visualização da imagem dos ovários e, foi mensurado o maior folículo de cada ovário. Após o acompanhamento folicular e a verificação de que os folículos atingiram 35 mm de diâmetro, foram induzidas a ovulação.

Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em dois grupos de 10 animais cada, sendo que o Grupo 1 (n = 10) receberam, por via intramuscular, 1000 µg de Deslorelina (Sincrorrelin[®]), já o Grupo 2 (n = 10) receberam, por via endovenosa, 5000 UI de hCG (Vetecor[®]), enquanto a administração dos fármacos aconteceu a partir do diâmetro folicular atingir 35 mm de diâmetro.

Para a realização das inseminações, o sêmen utilizado foi diluído (Max Sêmen[®]) e resfriado a 15°C, obtido de um único Garanhão da raça Quarto de Milha, fértil. O sêmen foi colhido pelo método de vagina artificial, com concentração espermática mínima de 200 milhões de espermatozoides/mL. Foi feita a inseminação intrauterina, 24 horas após a administração dos indutores de ovulação, após 15 dias da IA, foi realizado o diagnóstico de gestação.

Os dados desse estudo foram realizados utilizando o SAS. Os dados foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA), e teste Tukey, a um nível de (P < 0,05).

Resultados e Discussão

No presente estudo, não foi observada essa falha na indução da ovulação devido à formação de anticorpos, não ocorrendo a formação de folículo persistente. Isso deve estar relacionado com a utilização de hCG, uma única vez, em cada égua, durante a estação reprodutiva. De acordo com Bradecamp (2007), a grande



vantagem da utilização do acetato de deslorelina é que este fármaco possui um menor peso molecular comparado ao hCG, podendo ser administrado várias vezes durante a estação de monta.

Tabela 1. Dados dos parâmetros reprodutivos após a indução com os fármacos.

	Grupos experimentais	
	Grupo 1 (GnRH)	Grupo 2 (hCG)
Número de animais	10	10
Fêmeas em estro (%)	100	100
Diâmetro médio do FPO (mm)	37,9 ± 1,5	38 ± 2,2
Folículos dominantes não ovulados (persistentes) (%)	0,0	0,0
Taxa de fertilidade (%)	80,0	70,0

Conclusão

Pode-se concluir que éguas Quarto de Milha adultas, apresentando folículos iguais ou superiores a 35 mm de diâmetro, tiveram ovulação induzida com sucesso.

Referências

- Bradecamp EA.** Estrous Synchronization. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO. Current Therapy in Equine Reproduction. p. 22-25, 2007.
- Chavatte P, Palmer E.** Induction of ovulation in the mare. Equine Veterinary Education, v.10, n.1, p.26-30, 1998.
- Wilson CG, Downie CR, Hughes JP, Roser JF.** Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. J Equine Vet Sci, v.10, p.301-308, 1990.