

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**USO DE PROGESTERONA E ANTI-INFLAMATÓRIO DE LONGA  
AÇÃO EM UM PROGRAMA COMERCIAL DE TRANSFERÊNCIA DE  
EMBRIÕES EQUINO**

**ISABELA BARROSO DOMINGUES**

**2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**USO DE PROGESTERONA E ANTI-INFLAMATÓRIO DE LONGA  
AÇÃO EM UM PROGRAMA COMERCIAL DE TRANSFERÊNCIA DE  
EMBRIÕES EQUINO**

**ISABELA BARROSO DOMINGUES**

Sob a orientação do Professor Doutor  
**Júlio Cesar Ferraz Jacob**

Dissertação como requisito para  
obtenção do grau de **Mestre em  
Medicina Veterinária**, no curso de  
Pós-Graduação em Medicina  
Veterinária, Área de Patologia e  
Ciências Clínicas.

**Seropédica, RJ  
Fevereiro, 2022**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

BD671u      Barroso Domingues, Isabela, 1974-  
u              USO DE PROGESTERONA E ANTI-INFLAMATÓRIO DE LONGA  
                AÇÃO EM UM PROGRAMA COMERCIAL DE TRANSFERÊNCIA DE  
                EMBRIÕES EQUINO / Isabela Barroso Domingues. -  
                Seropédica, 2022.  
                41 f.

                Orientador: Julio Cesar Ferraz Jacob.  
                Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
                do Rio de Janeiro, Medicina Veterinária - Patologia e  
                Ciências Clínicas, 2022.

                1. Progesterona. 2. Meloxicam. 3. Embrião equino.  
                I. Ferraz Jacob, Julio Cesar, 1961-, orient. II  
                Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
                Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas  
                III. Título.

Ativa  
Acesse

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**ISABELA BARROSO DOMINGUES**

Dissertação submetida como requisito para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária área de Concentração em Patologia e Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 22/02/2022

**Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020**, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC.

---

Dr. Júlio Cesar Ferraz Jacob – UFRRJ  
(Orientador/Presidente da Banca)

---

Dra. Vera Lúcia Teixeira de Jesus - UFRRJ

---

Dra. Cely Marini Melo e Oña - UFMT



Emitido em 22/02/2022

TERMO Nº 168/2022 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

*(Assinado digitalmente em 22/02/2022 18:09 )*

JULIO CESAR FERRAZ JACOB  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptRAA (12.28.01.00.00.00.64)  
Matricula: 2202309

*(Assinado digitalmente em 22/02/2022 18:19 )*

VERA LUCIA TEIXEIRA DE JESUS  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptRAA (12.28.01.00.00.00.64)  
Matricula: 1201559

*(Assinado digitalmente em 22/02/2022 15:45 )*

CELÝ MARINI MELO E OÑA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 801.799.751-53

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número:  
**168**, ano: **2022**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **22/02/2022** e o código de verificação: **9002020558**

## AGRADECIMENTOS

Nesses anos de mestrado, de estudo, esforço e empenho, gostaria de agradecer a algumas pessoas que me acompanharam e foram fundamentais para a realização desse projeto. Primeiro, agradeço ao meu filho Juliano Domingues Moura pela compreensão ao ser privado em muitos momentos da minha companhia e atenção, e pela paciência em aguentar o meu nervosismo. Minha gratidão a Paula Junqueira Ferraz por ter insistido e me estimulado a fazer o mestrado. Ao meu orientador e amigo, Júlio Cezar Ferraz Jacob que sempre esteve presente na minha vida profissional desde a época da graduação, sempre me orientando, estimulando, doando seu conhecimento. Júlio é uma pessoa muito especial que sempre contagia a todos ao seu redor com sua disposição e energia para o estudo e trabalho. Agradeço a todos os professores do programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ, que contribuíram para aumentar o meu conhecimento, em especial aos professores Marco Roberto Bourg de Mello e Vera Lúcia Teixeira de Jesus. Vera sempre paciente, solícita e pronta para ajudar. Tem anjos que aparecem em nossa vida e Aline Andrade Gomes foi um deles, colega de mestrado e agora amiga de verdade, sempre ajudando, passando as informações, dando dicas, uma pessoa competente, determinada e uma grande profissional. A minha sobrinha Júlia Domingues Ferraz Jacob pela paciência e contribuição na elaboração dos slides. A Fabiana Batalha Knackfuss pela realização da estatística. Ao BET laboratories, representado pela Dra Beatriz Bringel e Dr. R. H. Douglas, que financiaram os hormônios utilizados no projeto e sempre estiveram presentes tanto no mestrado quanto na minha vida profissional, pessoas especiais e profissionais admiráveis. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

DOMINGUES, Isabela Barroso. **Uso de Progesterona e Anti-inflamatório de Longa Ação em um Programa Comercial de Transferência de Embriões Equino**. 2022. 41p. Projeto de Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2022.

A transferência de embriões (TE) é uma das biotécnicas mais utilizadas em equinos, sendo um dos seus maiores problemas a perda embrionária. Dois fatores são importantes causas dessas perdas: a disfunção do corpo lúteo (CL), com menor produção de progesterona, e a manipulação cervical no momento da TE, que pode ocasionar uma resposta inflamatória no útero, liberando PGF2 $\alpha$  e desencadeando a luteólise, acarretando a absorção do embrião. Objetivou-se com o experimento verificar a eficácia da progesterona L.A. associada ou não ao meloxicam em receptoras no dia da TE, no aumento da taxa de gestação. Foram utilizadas 78 receptoras de dois haras situados na região de Três Rios–RJ e Zona da Mata Mineira. As receptoras foram divididas em 6 grupos: 4 de cíclicas (I ao IV) e 2 de acíclicas (V e VI). Sendo um grupo controle e os demais que receberam medicação no momento da TE. GRUPO I (n=19) = controle; GRUPO II (n=22) 1,5 g de P4 L.A., GRUPO III (n=17) 1,5 g de P4 L.A. e 1,5 g de meloxicam; GRUPO IV (n=9) 1,5 g de meloxicam. Os dois grupos de acíclicas foram preparados com mesmo protocolo: receberam 5 ml de Benzoato de Estradiol no dia em que a doadora ovulou e após 48h 1,5 g de P4 L.A., após o quarto dia da P4 foi transferido o embrião. GRUPO V (n=6) 1,5g de P4 L.A. e GRUPO VI (n=5) 1,5 g de P4 e 1,5 g de meloxicam. O diagnóstico de gestação foi realizado sete dias após a TE e a confirmação da gestação com 45 dias. O presente estudo encontrou diferença significativa entre os tratamentos, tendo sido observadas maiores proporções o GRUPO V (acíclica com administração de P4); seguido do GRUPO III (cíclica com administração de P4 mais meloxicam), GRUPO IV (cíclica com administração de meloxicam), GRUPO II (cíclica com administração de P4) e por último o GRUPO VI (acíclica com administração de P4 mais meloxicam). O uso de receptoras acíclicas, preparadas com protocolo de uma dose de 5 mg de benzoato de estradiol e 1,5 g de progesterona de longa ação, é viável para utilização num programa de TE com bons resultados. Com base nos resultados do presente estudo foi possível concluir que o uso de progesterona e/ou anti-inflamatórios no momento da TE aumenta a taxa de gestação nas receptoras, sendo uma excelente ferramenta para aumentar o sucesso de um programa de TE equino.

**Palavras-chaves:** Progesterona, meloxicam, embrião equino

## ABSTRACT

DOMINGUES, Isabela, Barroso. **Use of Progesterone and Long-acting Anti-inflammatory in a Commercial Equine Embryo Transfer Program.** 2022. 41p.. Dissertation Project (Master em Medicina Veterinária, Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2022.

Embryo transfer (ET) is one of the most used biotechniques in horses, and one of its biggest problems is embryonic loss. Two factors are important causes of loss: body dysfunction (CL), with lower production of cervical prosthetics, and cervical manipulation at the momenter, which can cause a non-inflammatory response, releasing PGF<sub>2</sub> and triggering luteolysis, increasing absorption in the embryo. . The aim of the experiment was to verify the attempt of progesterone L.A. associated or not with meloxicam in recipients as an increase in pregnancy rate. A total of 78 recipients from two stud farms located in the region of Três Rios-RJ and Zona da Mata Mineira were used. As receptors, they were strongholds in 6 groups: 4 of cyclic (I to IV) and 2 of acyclic (V and VI). Being a control group and the others who received at the time of ET. GROUP I (n=19) = control; GROUP II (n=22) 1.5 g of P4 L.A., GROUP III (n=17) 1.5 g of P4 L.A. and 1.5 g meloxicam; GROUP IV (n=9) 1.5 g of meloxicam. The two groups of acyclics were prepared with the same protocol: they received 5 ml of Estradiol Benzoate on the day the donor ovulated 48h 1.5 g of P4 L.A., after the fourth day of P4 was transported after transport. GROUP V (n=6) 1.5 g of P4 L.A. and GROUP VI (n=5) 1.5 g of P4 and 1.5 g of meloxicam. Pregnancy diagnosis was performed seven days after ET and pregnancy confirmation at 45 days. The present study was altered between treatments, observing the highest proportions of GROUP V (acyclic with P4 administration); followed by GROUP III (cyclic administration of P4 plus meloxicam), GROUP IV (cyclic administration of P4 plus meloxicam), GROUP II (cyclic administration of P4 plus meloxicam) and finally GROUP VI (acyclic administration of P4 plus meloxicam). The use of acyclic receptors, prepared with a protocol of a dose of 5 mg of estradiol benzoate and 1.5 g of long-acting progesterone, is viable for use in an ET program with good results. With the results of the present study, it was possible to implement the use of progesterone and/or anti-inflammatory drugs at the time of pregnancy in recipients, being an excellent tool to increase the success of an equine ET program.

**Key words:** Progesterone, meloxicam, equine embryo

## LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

<b>TE</b>	Transferência de embrião
<b>CL</b>	Corpo lúteo
<b>FM</b>	Flunixin meglumine
<b>AINES</b>	Anti-inflamatório não esteroidais
<b>COX</b>	Ciclooxigenase
<b>COX-1</b>	Ciclooxigenase 1
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenase 2
<b>P4</b>	Progesterona
<b>PGF2<math>\alpha</math></b>	Prostaglandina F2 $\alpha$
<b>PGE2</b>	Prostaglandina E2
<b>PGI2</b>	Prostaciclina

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Número de embriões transferidos e taxa de gestação de éguas receptoras aos 15 e 45 dias, grupo controle e submetidas a 5 diferentes tipos de tratamento.....	29
---	----

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Esquema de preparação de receptoras cíclicas e acíclicas e dias onde foram transferidos os embriões.....	27
<b>Figura 2:</b> Valores médios entre as gestações aos 15 dias e 45 dias .....	33

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1. Ciclo Estral .....	14
2.2. Progesterona .....	15
2.3. Transferência de Embrião.....	16
2.4. Receptoras Acíclicas.....	21
2.5. Anti-inflamatórios .....	23
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	26
3.1. Animais.....	26
3.2. Tratamento Hormonal para preparo das receptoras cíclicas e acíclicas .....	26
3.3. Divisão dos grupos no momento da TE e tratamentos utilizados.....	27
3.4. Análise Estatística .....	28
<b>4 RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	29
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	34
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países, junto com Argentina e Estados Unidos, que mais realiza transferência de embriões (TE) no mundo. A última revisão do estudo “Complexo do Agronegócio do Cavalo” no Brasil, publicada em 2016, aponta que a indústria equestre movimenta, todos os anos, 16,5 bilhões de reais no Brasil. São 5,4 milhões de animais e mais de mil propriedades rurais focadas na equideocultura, gerando aproximadamente três milhões de empregos diretos e indiretos. Sendo assim, estudos relacionados ao aumento de produtividade na equideocultura são de suma importância. A TE em equinos aumenta a produtividade e maximiza o melhoramento genético. A Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Mangalarga Marchador (ABCCMM), maior entidade de criadores de equinos de uma mesma raça na América Latina, divulgou o número de 24034 comunicações de cobrições no primeiro trimestre de 2021 e conseguiu a normatização da produção, controle e exportação de embriões equinos congelados para os Estados Unidos. O setor está sempre em crescimento, havendo a necessidade de mais estudos científicos.

A TE tem como principal objetivo a produção de mais produtos de uma doadora, levando a uma grande demanda de receptoras. Por anos foi subjugada a importância das receptoras em programas de TE, levando a uma discrepante diferença no manejo nutricional, fazendo com que as doadoras comecem a ciclar meses antes das receptoras, algumas doadoras ciclam o ano todo. No programa de TE é necessário uma média de 3 receptoras para cada ciclo de uma doadora, porém a manutenção de um número maior de éguas é financeiramente oneroso. Sendo assim, o ideal seria maximizar o uso das receptoras, que seria ter uma receptora para cada prenhez desejada. Hoje é possível utilizar éguas em anestro (acíclicas), induzidas farmacologicamente, propiciando um ambiente uterino ideal para o desenvolvimento da prenhez a partir da utilização de estrógeno e progesterona, o que contribuiu para a diminuição do número de receptoras.

No entanto, a perda embrionária na receptora continua sendo o maior problema. Na tentativa de diminuir essa perda, é usual a administração de progesterona e anti-inflamatórios no momento da TE. No momento da TE, a progesterona é usada para garantir um ambiente uterino favorável ao desenvolvimento do embrião. Ela já está sendo produzida pelo corpo lúteo (CL), quando a receptora está cíclica, mas não é possível garantir que a concentração está adequada para manter a gestação. A mensuração da progesterona sérica se torna inviável

devido aos custos e manejo. Os anti-inflamatórios, como flunixin meglumine, fenilbutazona, meloxicam e firocoxib foram testados em alguns estudos. Flunixin meglumine e fenilbutazona, por não serem seletivos da Ciclooxigenase 2 (COX2), inibem também a Ciclooxigenase 1 (COX1), que é responsável pela mobilidade embrionária, essencial para o reconhecimento materno da gestação. O Meloxicam é mais seletivo para COX2, assim como o firocoxib, não alterando a mobilidade embrionária. O uso do Meloxicam diminuiu a mobilidade embrionária nas primeiras 24 horas de sua aplicação em alguns estudos, mas estes não fizeram uso concomitante com a progesterona. Não foi investigado se a diminuição da mobilidade afetou a gestação. Neste contexto, objetivou-se avaliar, a eficácia do meloxicam e da progesterona, associados ou não, na redução das taxas de perda embrionária.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Ciclo Estral

Éguas são consideradas poliéstricas sazonais cuja estação reprodutiva está compreendida nos meses de maior incidência luminosa e a fase de repouso, ou anestro, corresponde aos meses de menor incidência luminosa, essa variação é o fator ambiental de maior importância na atividade do eixo hipofisário-gonadal. (HAFEZ, 2004). Em éguas, está bem documentado que os processos reprodutivos são afetados pelas mudanças sazonais no fotoperíodo. O pico da função ovariana ocorre no verão, é ausente ou mínima durante o inverno e é caracterizada por irregularidade durante a primavera e o outono, períodos de transição (GINTHER, 1992; MALPAUX et al., 1999; NAGY et al., 2000).

O ciclo estral pode ser dividido em duas fases, fase folicular/estro e fase luteal/diestro. No estro a égua está sob o efeito do estrogênio, apresentando receptividade ao garanhão, no diestro o hormônio predominante é a progesterona liberada pelo corpo lúteo formado pela ovulação. Na fase folicular o trato genital é preparado para transporte do espermatozoide até o oviduto para fertilização, o que envolve o processo de ovulação (BLANCHARD et al., 2003).

Durante o estro a progesterona está em nível basal  $< 1,0$  ng/ml, permitindo que as éguas exibam estrogênio e com isso o comportamento estral, receptividade ao garanhão. O estrogênio aumenta aproximadamente 6 a 8 dias até a ovulação, com pico 2 dias antes. Altas concentrações de estrogênio durante o estro estão positivamente correlacionadas com o aumento de receptores de progesterona no endométrio (McKINNON, 2011).

Na fase luteal ocorre a preparação para aceitação e maturação do concepto (BLANCHARD et al., 2003). Dentro de 24-48 horas após a ovulação, o nível de progesterona sobe acima de 1,0 ng/ml, o que é suficiente para bloquear o comportamento de estro (McKINNON, 2011). A fase luteal termina com a regressão do corpo luteo, quando não ocorre a gestação, e início de uma nova onda folicular (BLANCHARD et al., 2003).

A regressão do corpo luteo ocorre devido a ação luteolítica da prostaglandina F2 $\alpha$  que é secretada pelo endométrio nos dias 14-16 pós ovulação. A queda da progesterona a níveis basais (<1,0 ng/ml) faz com que a égua retorne ao cio (McKINNON, 2011). A duração média do ciclo estral é de 22 dias, sendo sete dias em estro e 15 dias no diestro (GINTHER, 1992).

## **2.2. Progesterona**

A progesterona é fundamental para a manutenção da gestação, em qualquer espécie doméstica há necessidade de constante produção desta e de seus metabólitos biológicos, para garantir um ambiente uterino favorável ao desenvolvimento do feto (SILVA, 2012). . Alguns dos principais fatores fisiológicos regulados pela progesterona incluem a secreção de gonadotrofinas pela glândula pituitária anterior; tônus uterino e cervical; edema endometrial; e atividade secretora da genitália tubular (McKINNON, 2011).

Alterações sazonais na função ovariana não se limitam à dinâmica folicular, mas também incluem a função lútea. Concentrações menores de P4 durante o outono em comparação com a primavera e o verão foram observadas em éguas (KING et al., 1993; NEQUIN et al., 2000; IRVINE et al., 2000; KING et al., 2010). Adicionalmente, a luteólise começou mais cedo durante o período de transição da estação reprodutiva do que durante o verão (IRVINE et al., 2000; GINTHER et al., 2007; GINTHER et al., 2011).

O corpo luteo (CL) é uma pequena glândula endócrina de transição, formada após a ovulação das células secretoras dos folículos ovarianos. A principal função é a produção de progesterona, um hormônio que regula várias funções reprodutivas. A progesterona (P4) tem um papel chave na regulação da duração do ciclo estral e implantação do blastocisto (TOMAC et al.; 2011).

A produção inadequada de P4 é a maior causa de infertilidade e perda embrionária, uma vez que a P4 é essencial para o crescimento do endométrio e sobrevivência do embrião. Durante o período pré-implantação, o útero sofre importantes mudanças de desenvolvimento estimuladas pela progesterona; portanto, distúrbios relacionados à sua secreção provavelmente afetarão o resultado das gestações (NISWENDER et al.; 2005).

Com aplicações semanais de progesterona exógena é possível manter níveis séricos compatíveis com a manutenção da gestação (LOSINNO et al., 2006). É difícil falar de progesterona sem falar em estrogênio, este estimula a formação de receptores de progesterona

(sinergismo), enquanto a progesterona pode regular negativamente receptores de estrogênio (efeito antagonista) (McKINNON, 2011).

Com progesterona é possível a indução do ciclo estral artificial em receptoras de embriões garantindo níveis de progesterona compatíveis para o desenvolvimento do feto (FARIA E GRADELA, 2010).

Em relação ao manejo das éguas receptoras, muitos programas de transferência de embrião equino administram progesterona para fornecer suporte progesteronal adequado compatível com a gestação (FOSS & CRANE, 2004; FOSS, R. 2008).

O corpo lúteo primário da gestação é a principal fonte de secreção de progesterona até aproximadamente 40<sup>o</sup> dia de gestação, quando começam a formação de corpos luteos acessórios, estimulados pelos hormônios folículo-estimulante (FSH) e gonadotrofina coriônica equina (ECG). Após 70 dias de gestação, o complexo feto-placenta começa a secretar progesterona e essa secreção se torna adequada para manter a gestação por volta de 100 dias de gestação. Por volta de 180<sup>o</sup> de gestação todos os corpos luteos regridem (McKINNON, 2011).

No início da gestação, a mobilidade embrionária é um aspecto fundamental na égua e é impulsionada por prostaglandinas derivadas de embriões que estimulam contratilidade uterina, a produção de prostaglandina endometrial é temporariamente atenuada. Isso se refere a sequência de eventos pelos quais os sinais derivados do embrião prolongam a função lútea, garantindo secreção de progesterona pelo corpo lúteo (CL) além sua vida normal do ciclo estral. Na presença de um embrião, a vida útil do CL primário é estendida na égua, tornando-se a única fonte de progesterona nos primeiros 40 dias de gestação (KLEIN, 2016).

### **2.3. Transferência de Embrião**

A transferência de embrião (TE) na espécie equina é uma biotécnica de suma importância para a indústria do cavalo. Uma vez que a versatilidade desta espécie é o principal fator responsável pelo crescimento mundial da equideocultura, esta biotecnologia possibilita, através do ganho na eficiência reprodutiva e no incremento do melhoramento genético, maior desenvolvimento do setor, favorecendo o aprimoramento das raças e seus cruzamentos (HURTGEN, 2008).

A técnica de TE consiste na coleta de um ou mais embriões de uma égua de melhor potencial genético (doadora) coberta ou inseminada com um garanhão geneticamente

superior, e a transferência desse embrião para o útero de uma égua receptora que irá gestá-lo. A constituição genética do potro e, portanto, suas características, são determinadas pela doadora que produziu o óvulo e pelo garanhão cujo espermatozoide foi utilizado para fertilizá-lo (DAVIES MOREL, 2003).

A coleta de embriões equinos geralmente é realizada no dia sete ou oito após a ovulação porque o embrião sai do oviduto e entra no útero até o dia seis ou sete pós ovulação (BATTUT et al., 1997; 2001) e embriões D9 são mais propensos a danos durante a coleta e transferência (McKINNON E SQUIRES 1988; CARNAVALE et al. 2000).

Jacob et al.; (2010); em 809 lavados, foram colhidos 504 (62%) embriões. As taxas de recuperação embrionária para os seguintes dias foram: Dia 6 (42%, 16/38), Dia 7 (61%, 159/262), Dia 8 (66%, 285/434), Dia 9 (59%, 39/66) e Dia 10 (56%, 5/9). Uma menor taxa de recuperação embrionária ( $P < 0,03$ ) foi observada para o Dia seis (D6) quando comparada com os outros dias. No entanto, foram observadas taxas de recuperação semelhantes entre os dias D7, D8, D8 e D10.

Os fatores mais importantes que afetam a recuperação embrionária são o momento da inseminação e a fertilidade dos doadores: da égua e do garanhão (SQUIRES et al., 1999; STOUT, 2003); quando a inseminação artificial é empregada, a fertilidade do garanhão, e, portanto, a recuperação do embrião, é ainda influenciada pela dose, qualidade e método de conservação do sêmen. No caso de éguas jovens férteis inseminadas com sêmen fresco de garanhões férteis, mais de 70% dos fluxos devem produzir um embrião (LOSINNO et al., 2001).

O sucesso de um programa de transferência de embriões é afetado por vários fatores, como o manejo e a fertilidade materna e paterna, a experiência do (s) profissional (ais) que coletam e transferem embriões e a qualidade e manejo das éguas receptoras (SQUIRES et al., 1999; McKINNON et al., 1988; MACCUE e SQUIRES, 2015; STOUT, 2006).

A idade da doadora, categoria reprodutiva, qualidade do embrião, idade e diâmetro embrionário, são outros fatores que interferem (STOUT, 2006; PANZANI, 2016).

Consta também a dificuldade na indução de superovulação de éguas; elevado percentual de doadoras idosas e éguas problemáticas e manipulação inadequada do sêmen (ALVARENGA, 2017).

Doadoras mais velhas, 13 a 25 anos (385/701, 54,9%), tem uma taxa de recuperação embrionária significativamente inferior a doadora nova, 3 a 4 anos (171/244, 70,1%), e de

meia idade, 5 a 10 anos (774/1081, 71,6%). Mas não diferiram significativamente na taxa de gestação (MARINONE et al., 2015).

A fertilidade da égua começa a declinar após 13-17 anos de idade (GINTHER, 1992). As falhas reprodutivas observadas em éguas velhas estão normalmente associadas à degeneração do oócito, distúrbios da ovulação e maturação oocitária, associadas ou não à endometrite crônica e distúrbios hormonais (MONTECHIESI, 2015).

Embriões recuperados de éguas com mais de 20 anos resultam em uma taxa de perda gestacional significativamente maior do que aquelas recuperadas de éguas mais jovens. O mesmo ocorre para embriões provenientes de éguas que apresentam patologias reprodutivas em comparação com éguas saudáveis praticando atividade esportiva (PANZANI et al., 2015).

Doadoras que se exercitam, moderada ou intensamente, aumentam a concentração de cortisol sérico, diminuem a taxa de recuperação e qualidade embrionária (SMITH, 2012). Também apresentam menores concentrações de pico de LH e alteram a dinâmica folicular ovariana, alteram o intervalo interovulatório. (KELLEY, 2011).

Pessoa et al., 2011, não encontraram diferença significativa entre a recuperação embrionária e taxa de gestação de éguas atletas e não atletas. Um total de 138 coletas de embriões de doadoras em treinamento e 657 reprodutoras foram realizadas, com um total de 105 (76%) e 466 (71%) embriões coletados, respectivamente ( $P > 0,05$ ). Da mesma forma, não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) nas taxas de gestação das éguas em treinamento e reprodutoras no dia 15 (82/105, 78% vs. 370/466, 79%) e dia 40 (73/105, 69% vs. 328/466, 70%). Concluindo que esse resultado se deve as condições e treinamento adequado das éguas de esporte.

Apoiando esses achados, Vazquez et al.; (2010); relataram uma melhora nas taxas de recuperação de embriões (76% vs. 61%) para éguas em treinamento em comparação com éguas reprodutoras. Eles também observaram que o número de embriões de boa qualidade tendeu a ser maior (94% vs. 89%) para éguas exercitadas.

A temperatura e umidade do ar elevadas, diminuem a taxa de recuperação embrionária e de gestação (OLIVEIRA, 2011).

De longe, o fator mais importante que afeta a taxa de gestação após TE é sincronia doadora receptora. Apesar da grande variabilidade no comprimento do estro entre éguas complicar o procedimento de sincronização, isso é até certo ponto contrabalançado o fato de que a sincronia exigida na égua é consideravelmente menor que em outras espécies de animais (ALLEN, 2005). A sincronização da ovulação das doadoras e receptoras é necessária

antes da TE, embora algum grau de assincronia entre os dias de ovulação seja aceitável. (WILSHER, S.; LEFRANC, A.C., ALLEN, WR, 2012).

A sincronização é realizada através do controle folicular, por meio de ultrassonografia e tratamentos hormonais. (JACOB, et al., 2012). Em receptoras cíclicas, a sincronização pode ser realizada com o uso de exame ultrassonográfico dos ovários combinado com o uso de um análogo de PGF2 $\alpha$  e/ou HCG. Os análogos de PGF2 $\alpha$  podem ser administrados a uma égua com corpo luteo funcional com pelo menos cinco dias de ovulada, onde o tempo de administração para doadora e receptora, é baseado no tamanho de seu maior folículo.

Uma vez que as éguas estão em estro, o desenvolvimento folicular deve ser monitorado regularmente e a sincronização pode ser realizada usando hCG para garantir a ovulação de um folículo  $\geq 35$  mm de diâmetro dentro de 48 horas; isso pode ser extremamente útil para garantir que a receptora não ovule mais de um dia antes da doadora (ou seja, tratar a doadora se a receptora apresentar sinais de ovulação iminente), mas não ovular dentro de dois dias após (ou seja, tratar a receptora assim que a ovulação é detectada na doadora) (STOUT, 2006).

Para estudar o efeito do dia de pós-ovulação da receptora nas taxas de gestação, 454 embriões foram transferidos para receptoras entre os dias dois e oito. A taxa geral de gestação em 60 dias foi de 60% (274/454). As taxas de gestação considerando o dia pós-ovulação da égua receptora foram as seguintes para cada dia: D2 (33%, 07/21), D3 (66%, 49/74), D4 (66%, 65/98), D5 (62%, 62/100), D6 (55%, 43/78), D7 (58%, 35/60) e D8 (56%, 13/23). A taxa de gestação para receptoras com embriões transferidos no D2 foi menor ( $P < 0,0002-0,05$ ) do que para aqueles transferidos nos dias, D3–D5, e D7 e tendiam ( $P < 0,08-0,1$ ) a ser menor do que para aqueles nos dias, D6 e D8. Nenhuma diferença significativa na gestação foi observada quando a transferência de embriões foi realizada entre os dias, D3 a D8 pós-ovulação. No entanto, as receptoras que receberam embrião nos dias, D3-D5 (dados agrupados) ( $P < 0,09$ ) tiveram taxa de gestação mais alta (65%, 176/272) do que as receptoras que receberam embrião nos dias, D6-D8 (56%, 91/161) (JACOB et al., 2010).

Camargo et al.; (2013); em um estudo de 396 coletas de embriões de doadoras Brasileiro de Hípismo, de 2003 a 2007, utilizando receptoras das raças crioula, campolina, bretã e mestiças, encontrou a seguinte taxa de gestação, levando em consideração a diferença entre o tempo de ovulação entre doadora e receptora, D-1 12,5%(1/8), D0 73%(22/30), D1 60,2%(41/68), D2 61%(58/95), D3 57,2% (59/103), D4 59,4%(41/69), D5 35,2%(6/17) e D6 33,3%(2/6).

Panzani et al.; (2015); durante 11 estações de monta, transferiram 351 embriões, e foram encontradas as seguintes taxas de gestação em 14 e 40 dias 77,8% (273/351), 69,2% (243/351), respectivamente e a seguinte taxa de parto 64,4% (226/351). A perda gestacional entre 14 e 40 dias foi de 11% (30/273) e entre 40 dias e parto foi de 7% (17/243). Sendo que nas receptoras acíclicas, éguas na fase de transição da primavera e que apresentavam edema grau dois-três, tratadas duas vezes ao dia com altrenogest, a partir do terceiro dia após a ovulação da doadora até o diagnóstico de gestação, a taxa de gestação foi de 90,9% (10/11) aos 14 dias e 81,8% (9/11) aos 40 dias. E as receptoras que foram tratadas com penicilina procaína, flunixin meglumine e altrenogest, tiveram uma taxa de gestação de 74,6% (47/63) e aos 40 dias 68,3% (43/63). O grupo que foi selecionado e tratado com altrenogest teve uma taxa de gestação de 75,8% (50/66) e 66,7% (44/66), aos 14 e 40 dias, respectivamente.

A viabilidade de um programa comercial de transferência de embriões depende muito da manutenção e gestão de receptoras, como cuidar desses animais representa o componente mais caro de um programa, programas de sucesso geralmente têm altas taxas de utilização de éguas receptoras com taxas de prenhez satisfatórias após a transferência de embriões (por exemplo,  $\geq 70\%$ ) (McCUE e SQUIRES, 2015). Um dos fatores mais importantes para o sucesso da técnica é a disponibilidade de receptoras (McKINNON; SQUIRES, 2007).

Por receberem manejo nutricional diferenciado as receptoras apresentam uma estação reprodutiva mais curta, ou seja, no período de transição onde a maioria das doadoras já se encontram ciclando, as receptoras ainda estão acíclicas (SILVA, 2011).

Taxas aceitáveis de gestação após a TE dependem da idade e fertilidade da égua doadora (que influenciam a qualidade do embrião), a qualidade da égua receptora (em particular sincronização adequada da ovulação) e na capacidade do operador para passar de forma asséptica e atraumática uma pipeta de transferência pelo colo em diestro (STOUT, 2006).

O procedimento de transferência transcervical de embriões pode causar luteólise em uma baixa porcentagem de éguas. A terapia com progestágenos é comumente usada na transferência de embriões para apoiar a progesterona endógena em éguas receptoras ou em gestação própria (DELUCA et al., 2011).

Segabinazzi et al.; (2018); em um estudo comparando taxa de gestação de receptoras cíclicas não tratadas; acíclicas, preparadas com 17  $\beta$  estradiol e P4LA; acíclicas, preparadas com 17  $\beta$  estradiol e implante intravaginal de progesterona, não observaram diferenças nas taxas de gestação e de perda gestacional, sendo observadas entre os grupos (Controle: 64% e

27%; P4LA: 66% e 13%; DP4: 69% e 10%, respectivamente). Em conclusão, DP4 foi eficiente para preparar éguas receptoras de embriões.

Rodrigues et al.; (2012); no seu experimento, dividiram as receptoras em três tratamentos: 55 inovulações no D2 com administração de 1500 mg P4LA no dia da ovulação (D0), 05 inovulações no D2 sem administração de P4LA e 91 inovulações do quarto (D4) ao oitavo (D8) dia após ovulação sem tratamento prévio de progestagênio, sendo que as taxas de prenhez foram de 71%, 20% e 75% respectivamente. Deste modo observa-se que a taxa de prenhez do grupo de éguas inovuladas no D2 com administração de 1500 mg P4LA no dia da ovulação (D0) e o grupo de receptoras inovuladas do quarto (D4) ao oitavo (D8) dia após ovulação sem tratamento prévio de progestagênio, não apresentam diferença estatística ( $p=0,05$ ).

#### **2.4. Receptoras Acíclicas**

Já existem alguns estudos que envolvem o uso de receptoras acíclicas, essas são preparadas com protocolos a base de estrógeno e progesterona exógenos, tornando-se uma excelente alternativa (SQUIRES EL et al., 1999). Essa abordagem é extremamente útil, principalmente no início da temporada, quando várias receptoras ainda se encontram acíclicas. (STOUT, 2006).

As éguas acíclicas são divididas em anestro onde os folículos estão com diâmetros  $\leq$  15 mm e ausência de corpo lúteo, e éguas em transição que apresentam folículos de 15 a 20mm e ausência de corpo lúteo, ou seja, ainda não tiveram a primeira ovulação. Os tratamentos hormonais a base de estrógenos e progesterona de longa ação em éguas acíclicas apresentaram resultados satisfatórios na preparação de receptoras para receber e manter a gestação dos embriões transferidos (ARISTIJBAL, et al., 2017).

Nos últimos anos, várias doses de estrógeno foram administradas em éguas receptoras acíclicas e após observação de edema uterino, progesterona de ação prolongada (P4 L.A.) (ROCHA FILHO et al., 2004; GRECO et al., 2012) ou altrenogest (SILVA et al.; 2014) tem sido administrado três a oito dias antes da transferência do embrião.

Recentemente, foi demonstrado que a administração de uma única dose de 2,5 mg de benzoato de estradiol ou doses decrescentes de 5 mg para éguas em anestro produz concentração de estrogênio semelhante a encontrada em éguas cíclicas, enquanto que doses decrescentes de 10mg, reduziu as concentrações de P4 24 horas após a aplicação de P4 L.A..

Também foi demonstrado que o mecanismo pelo qual essa redução ocorreu não foi por aumento do metabolismo de P4 para 17 $\alpha$ -OH-P (SILVA et al.; 2016).

Além disso, sabe-se que a concentração plasmática de P4 após injeção de 1500 mg de P4 L.A. em intervalos de sete dias é compatível com as concentrações de P4 encontrado em éguas cíclicas durante a fase lútea (>4 ng/mL) (BRINGEL et al., 2003).

Silva, 2017, concluiu que a dose de 2,5 mg de benzoato de estradiol, causou edema endometrial e concentrações de estrogênio semelhantes ao observado no final do estro em éguas cíclicas. A administração de 1500 mg de P4 L.A. aumentou o tônus uterino e concentração de P4 foi aceitável como o encontrado no diestro de éguas cíclicas observado durante a fase lútea precoce.

Oliveira Neto et al.; (2018); utilizaram receptoras em vários estágios do ciclo estral, anestro ou transição da primavera, sincronizadas com as éguas doadoras usando uma combinação de prostaglandina, estrogênio e progestinas. Os grupos receberam 17  $\beta$  estradiol por quatro dias consecutivos e no quinto dia, dia 0, 300mg de Altrenogest, todos os grupos de tratamento receberam prostaglandina no primeiro dia de aplicação do estrogênio, e somente um grupo de ovulação recente, recebeu duas aplicações de prostaglandina. No estudo foi encontrada uma taxa de prenhez satisfatória, não diferindo de estudo anteriores, com exceção de um grupo de receptoras ovuladas recentes que foi aplicado somente uma dose de prostaglandina, esse grupo teve edema mais discreto após a aplicação de estrogênio e taxas de prenhez baixa. Certamente porque uma dose de prostaglandina não foi suficiente para causar a lise do corpo luteo, comprovando que é necessária uma baixa de progesterona, para que haja uma resposta adequada para o tratamento com estrógeno, subsequente resposta a progesterona e taxa de gestação satisfatória após a TE. Uma das vantagens percebidas dos protocolos de sincronização descritos é a potencial redução no número de receptoras. Uma vez que essas receptoras podem ser usadas em qualquer estágio do ciclo estral, anestro ou transição, pois podem ser sincronizadas com a ovulação das doadoras, portanto, essa abordagem provavelmente ajuda a minimizar os custos de manutenção de um grande número de éguas receptoras. Outra vantagem é que as falhas de ovulação podem ser contornadas.

Em um estudo sobre longos protocolos de administração de estrógeno, antes da aplicação de progesterona em receptoras em anestro para descobrir se aumentava a expressão endometrial da uterocalina (P19), proteína lipocalina que possui atividade de ligação com lipídeos para o fornecimento ao embrião, incluindo aqueles essenciais para a morfogênese e formação de padrões (SILVA, 2021), concluiu que um protocolo de tratamento de estro longo

administrado a éguas acíclicas incluindo um total de 8 mg benzoato de estradiol dividido em cinco ou duas administrações, aumenta expressão endometrial de P19 quatro dias após o tratamento com P4 L.A.. Ambos os protocolos, com mais de uma dose de benzoato de estradiol, produziram edema uterino elevado por pelo menos seis dias. Além disso, o perfil de progesterona não foi influenciado pelo tratamento anterior com estradiol. O protocolo de duas administrações de benzoato de estradiol é mais viável para preparar éguas receptoras acíclicas em condições de campo. No entanto, um efeito positivo dos protocolos com dose única de benzoato de estradiol na sobrevivência e viabilidade embrionária em éguas em anestro ainda precisam ser confirmadas. (SILVA, 2021)

## **2.5. Anti-inflamatórios**

Outra abordagem é evitar secreção prematura de prostaglandina F2 alfa (PGF $2\alpha$ ) que pode resultar da manipulação cervical durante o procedimento de transferência de embriões. Para isso, o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), como flunixin meglumine, ácido meclofenâmico ou meloxicam, que inibem a atividade da ciclooxigenase-2 (COX-2), uma enzima importante na via de síntese da prostaglandina, pode atuar para reduzir a resposta inflamatória do endométrio após transferência embrionária transcervical (McCUE et al., 2007; McCUE et al., 2010; KOBLISCHKE et al., 2008; BURNS et al., 2010) .

Vários estudos foram feitos para demonstrar a seletividade dos anti-inflamatórios, o meloxicam foi mais seletivo para ciclooxigenase 2, como mostra esse estudo sobre a atividade inibitória dos AINEs: meloxicam, carprofeno, fenilbutazona e flunixina sobre as ciclooxigenases sanguíneas do cavalo usando ensaios enzimáticos in vitro. Como esperado, a comparação de IC $50$  indicou que meloxicam e carprofeno são inibidores mais seletivos de COX-2 do que fenilbutazona e flunixina; meloxicam foi o mais vantajoso para cavalos dos quatro AINEs (BERETTA, 2005).

No entanto, estes fármacos podem prejudicar a produção de prostaglandinas pelo concepto e alterar o mecanismo de mobilidade embrionária e reconhecimento materno fetal (OKADA, 2017). Nas éguas o concepto inicial é relativamente pequeno, a mobilidade em todo o útero ocorre durante os dias em que o embrião bloqueia a luteólise induzida pelo útero, e ao mesmo tempo, distribui uma substância que estimula gradualmente o aumento do tônus uterino. A mobilidade maior ocorre entre os dias 12 a 15. (GINTHER, 2007). O embrião equino produz as prostaglandinas PGE-2, PGF e PGI-2, responsáveis pela sinalização ao útero (WATSON; SERTICH, 1989). As prostaglandinas liberadas pelo embrião possuem ação local

e não atingem níveis séricos suficientes para induzir luteólise (STOUT; ALLEN, 2002). A partir dessa sinalização, a vesícula embrionária ativa mecanismos desencadeadores da mobilidade no período que varia de D6 a D16 dias após a ovulação, que promove o deslocamento do embrião pelo lúmen uterino. Esse fenômeno é essencial para que ocorra o reconhecimento materno da gestação (LEITH; GINTHER, 1984).

A migração do embrião por toda a superfície uterina garante a distribuição do fator anti-luteolítico adequadamente que inibe a produção de prostaglandina F<sub>2</sub>α que proporciona a manutenção da produção de progesterona e gestação (McDOWELL et al., 1985). O meloxicam (ML) pertence ao grupo dos oxicans, inibindo preferencialmente a COX-2 com meia vida de aproximadamente três horas em equinos. Esse fármaco impede a liberação de prostaglandinas e tromboxanos, com ótimas propriedades analgésicas e antipiréticas (TASAKA, 2006). Comparado ao flunixin meglumine (FM) e fenilbutazona, o ML possui afinidade cinco a 12 vezes maior pela COX-2 no equino, sua aplicação intravenosa ou oral pode ser realizada por até 14 dias consecutivos na dose de 0,6 mg/kg, considerando a meia-vida de cinco horas. Os efeitos colaterais também são diminuídos e permite a correta recuperação do sistema gastrointestinal quando há lesões (BURNS et al., 2010).

Utilizando anti-inflamatórios não esteroides associado a progesterona (PINTO et al., 2017), encontraram o seguinte resultado: Os grupos de receptoras administrados NSAIDs BioRelease em associação com progesterona tiveram melhores taxas de gestação quando comparadas com receptoras do grupo controle, não tratadas, a taxa de gestação foi significativamente mais elevada nas receptoras tratadas com Meloxicam BioRelease no momento da transferência, assim como o Flunixin meglumine (AINEs) combinado com a progesterona também aumentou a taxa de gestação pós-transferência. O resultado de gestação aos 15 dias obtido com a combinação de Meloxicam BioRelease e Progesterona BioRelease foi de 75% (15/20), para Flunixin Meglumine (FM) com Progesterona BioRelease foi de 70,8 % (17/24) e o grupo controle 47,1% (33/70). O Meloxicam BioRelease é liberado ao longo de um período de 72 horas (BURNS et al., 2016), tornando-o mais prático de usar, pois requer uma injeção única IM no momento da transferência do embrião versus as 3 injeções de Flunixin Meglumine IV.

Rodrigues et al, 2010, concluíram que o uso de Flunixin meglumine, associado ou não a progesterona, diminuíram a taxa de prenhez nas receptoras. Utilizando 86 éguas aplicando flunixim IV , imediatamente após a TE, e 79 éguas aplicando solução salina; além disso 59 que receberam solução salina, receberam P4 e das 86 que receberam flunixim, 17 receberam

P4. As taxas de prenhez foram menores ( $P < 0,0001$ ) nas éguas tratadas com FM ( $50,2 \pm 5,3\%$ ) em comparação com o controle ( $88,2 \pm 5,1\%$ ) e nas éguas tratadas com P4 ( $85,9 \pm 5,0\%$ ) em comparação com o controle ( $52,4 \pm 5,5\%$ ). Não foi observado efeito de interação entre FM e P4 ( $P < 0,49$ ). Para éguas que receberam ou não FM, a adição do protocolo P4 reduziu as taxas de prenhez. Em éguas não tratadas com FM, as taxas de prenhez foram  $81,4 \pm 5,1\%$  e  $95,0 \pm 8,8\%$  para éguas tratadas com P4 e não tratadas, respectivamente ( $P < 0,05$ ). Nas éguas tratadas com FM que não receberam P4, as taxas de prenhez foram  $76,8 \pm 4,8\%$  comparadas com  $23,5 \pm 9,6\%$  das tratadas com P4 ( $P < 0,0001$ ).

Jacob et al.; (2003); observaram uma taxa de gestação de 80% (12/15), entre as receptoras tratadas com flunixin meglumine e 46,5% (7/15) nas não tratadas, concluindo que o tratamento foi eficiente para promover o aumento da taxa de gestação e melhoria na eficiência reprodutiva.

Okada et al.; (2017); não encontraram diferença significativa entre os as éguas receptoras não tratadas e as tratadas com flunixin meglumine no momento da transferência de embrião, o grupo controle apresentou uma taxa de gestação aos 15 dias de 70,95% (127/179) e aos 60 dias 65,92% (118/230), no grupo tratado 75,22% (173/230) e aos 60 dias 65,22% (150/230). A perda embrionária aos 60 dias em éguas receptoras tratadas com FM foi de 13,29%, quase o dobro das éguas que não receberam a medicação (7,08%).

Resende, 2009, observou a partir de 165 TEs, uma diminuição significativa aos 60 dias na taxa de prenhez em éguas receptoras de embriões que foram tratadas com FM imediatamente após o procedimento, resultando em 58,13% das éguas gestantes no grupo tratado e 72,15% no controle grupo.

Caiado et al.; (2005), não observaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) aos 28 dias de gestação nas éguas que não receberam uma única aplicação de FM 15 minutos antes do TE (grupo controle 75% - 15/20) e no grupo tratado (55% - 11/20).

O tratamento de receptoras com drogas anti-inflamatórias não esteroides inibem a resposta inflamatória do endométrio no momento da TE. Ácido mefenâmico pode ter vantagens em comparação ao flunixin meglumine devido a influência na síntese de prostaglandinas que não resulta na inibição de mobilidade embrionária. (KOBLSCHKE et al.; 2008)

Andrade, 2018; estudou a interferência do ácido mefenâmico na mobilidade embrionária e concluiu que afetou a mobilidade, mas não causou efeitos remanescentes 24 horas após a aplicação.

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1. Animais**

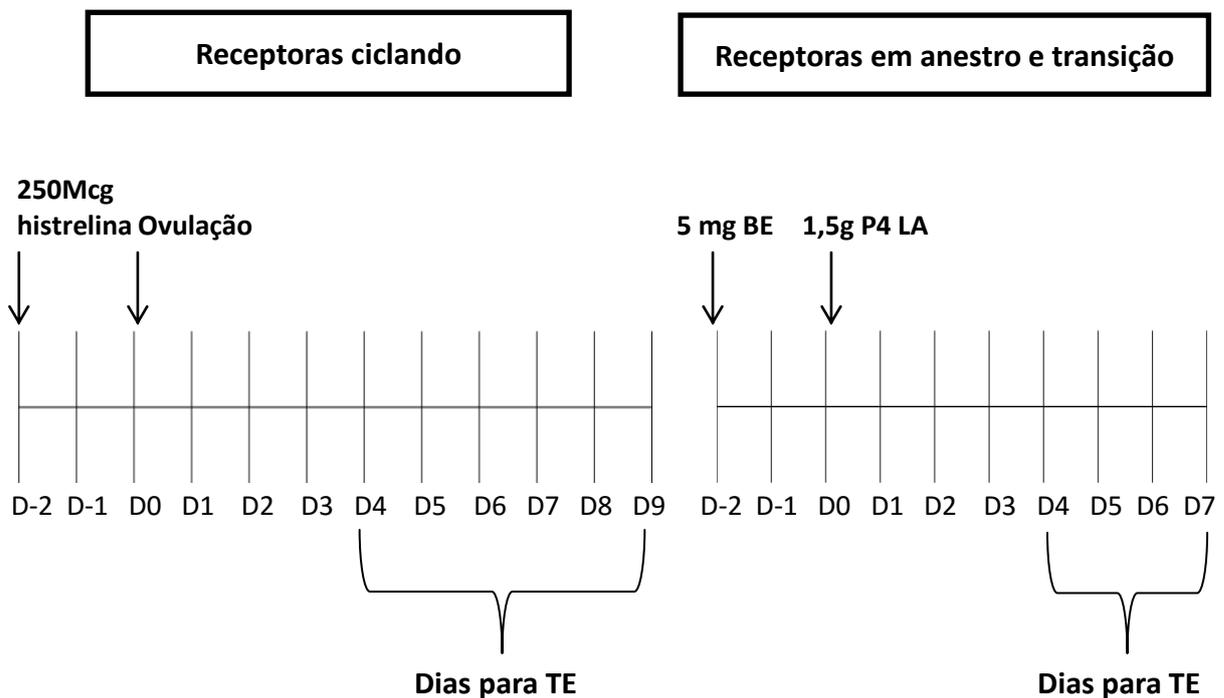
O experimento foi realizado na estação de monta 2020-2021, em dois haras, um localizado na cidade de Três Rios, RJ e outro em Belmiro Braga, MG. A presente pesquisa está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e está registrado na Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e encontra-se registrada com o número 0141-01-2022. Foram utilizadas doadoras da raça Mangalarga Marchador inseridas no programa de TE nos Haras. Foram utilizadas 30 doadoras, com idade entre 3 a 9 anos, que foram avaliadas por palpação retal e ultrassonografia diariamente, até o maior folículo atingir um diâmetro  $\geq 35$  mm, quando foram induzidas a ovulação com 250  $\mu$ g de acetato de histrelina IM (1ml de Strelin® Botupharma) e 24 horas após, foram inseminadas com uma dose de sêmen de 500 milhões de espermatozoides com movimento progressivo. Foram utilizados diversos garanhões, sêmen fresco ou refrigerado. Os embriões foram coletados oito dias após a ovulação. Foram utilizadas 78 receptoras com idade entre 3 a 15 anos, peso entre 350 e 450 kg, em boa condição corporal, score 2-3, e boa conformação vulvar. As receptoras eram mantidas a pasto com água e sal mineral à vontade. As éguas foram avaliadas por palpação retal e ultrassonografia transretal com auxílio de transdutor linear 5,0 Megahertz (Domed DM10), as receptoras que apresentaram qualquer tipo de alteração que indicasse endometrite, foram descartadas. As que estavam ciclando, foram acompanhadas diariamente até detecção da ovulação.

### **3.2. Tratamento Hormonal para preparo das receptoras cíclicas e acíclicas**

As receptoras cíclicas, éguas que apresentavam ciclos estrais regulares e folículos ovulatórios, foram induzidas a ovulação com 250  $\mu$ g de acetato de histrelina (1ml de Strelin® Botupharma) IM, quando apresentavam um folículo de no mínimo 35mm e edema uterino  $\geq 3$ , administrado em sincronia com a ovulação da doadora, geralmente no dia que a doadora ovulava.

As receptoras acíclicas ou em transição, foram éguas que apresentavam folículos < 25 mm de diâmetro e sem presença de corpo lúteo (CL), receberam 5 mg de Benzoato de Estradiol (5 ml de Estrogin® Biofarm) no dia em que a doadora ovulou e 48 horas após 1,5 g de progesterona L.A., éguas que não apresentaram edema uterino foram descartadas.

Os embriões foram transferidos, nas receptoras cíclicas de quatro a nove dias após a ovulação e nas acíclicas, quatro a sete dias após a aplicação da progesterona L.A.. Conforme a (Figura 1).



**Figura 1:** Esquema de preparação de receptoras cíclicas e acíclicas e dias onde foram transferidos os embriões.

### 3.3. Divisão dos grupos no momento da TE e tratamentos utilizados

Os grupos foram divididos de acordo com o tratamento utilizado no momento da transferência do embrião. A divisão foi aleatória, de modo que qualquer fator que pudesse interferir, como clima, embriões provenientes de doadoras problema ou velhas, fertilidade da receptora, interfeririam em todos os grupos. GRUPO I (n=19) controle, cíclicas que não foram tratadas, GRUPO II (n=22) cíclicas que receberam 1,5 g de progesterona de longa ação (5 ml de P4 L.A. 300 mg, BioRelease Technologies®); GRUPO III (n=17) cíclicas que receberam

1,5 g de progesterona de longa ação (5 ml de P4 L.A. 300 mg, BioRelease Technologies®) e 1,5 g de meloxicam (Meloxicam L.A., BioRealease Technologies®); GRUPO IV (n=9) cíclicas que receberam 1,5 g de meloxicam (Meloxicam L.A., BioRealease Technologies®); GRUPO V (n=6) acíclicas que receberam 1,5 g de progesterona de longa ação (5 ml de P4 L.A. 300 mg, BioRelease Technologies®); GRUPO VI (n=5) acíclicas que receberam 1,5 g de progesterona de longa ação (5 ml de P4 L.A. 300 mg, BioRelease Technologies®) mais 1,5 g de meloxicam (Meloxicam L.A., BioRealease Technologies®) . Os grupos V e VI de receptoras acíclicas ficaram menores, porque foram utilizadas no começo da estação de monta, e a quantidade de receptoras acíclicas encontrada foram 11 éguas. O grupo IV (n=9) que receberam somente Meloxicam também ficou menor, pois acabou o medicamento e como é importado tivemos dificuldade de receber o produto por estar retido na alfandega. O Meloxicam de longa ação BioRealease é liberado ao longo de um período de 72 horas. O diagnóstico de gestação foi realizado sete dias após a TE. E a confirmação foi com 45 dias de gestação. Nas receptoras acíclicas, após a confirmação da gestação com sete dias, a progesterona de longa ação foi mantida semanalmente até os 100 dias. Todas as transferências foram por mim realizadas.

### **3.4. Análise Estatística**

A fim de se avaliar a diferença estatística significativa entre os números de embriões em relação tratamentos em cada momento foi realizado o teste de Qui-quadrado por aderência e entre os números de embriões entre os dois tempos (momentos) de recuperação de embriões foi realizada a comparação a partir do teste não paramétrico de Wilcoxon, Para ambos os testes foi considerado o valor de 5% de significância e utilizado o programa SPSS 25.0.

#### 4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram transferidos 78 embriões e detectadas 53 gestações com 15 dias e confirmadas 45 gestações com 45 dias. Os resultados obtidos na taxa de gestação aos 15 dias, foram GRUPO I 47,4% (9/19), GRUPO II 63,6% (14/22), GRUPO III 82,4% (14/17), GRUPO IV 77,8% (7/9), GRUPO V 100% (6/6), GRUPO VI 60% (3/5) (Tabela 1).

Foram observadas diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) na taxa de gestação das éguas receptoras pelo teste de Qui quadrado entre os grupos III e V com relação ao demais aos 15 dias e entre o grupo III com relação aos demais aos 45 dias ( $p < 0,05$ ) (tabela 1).

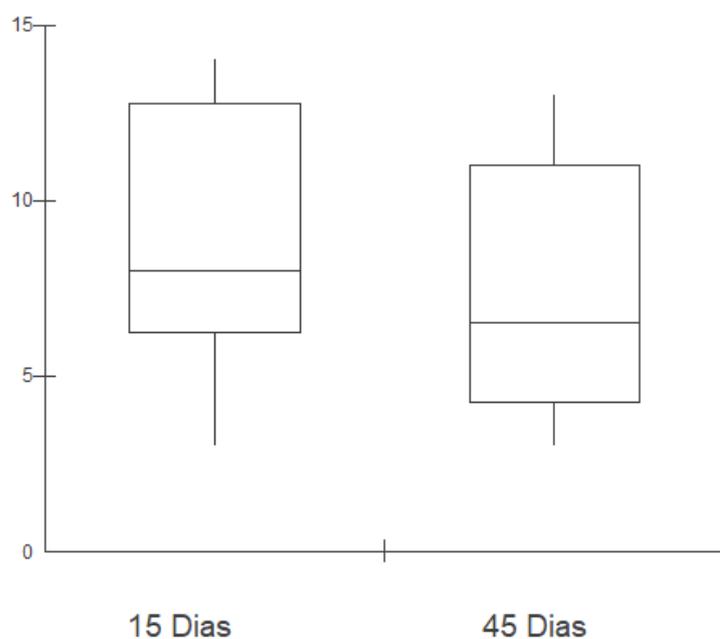
**Tabela 1:** Número de embriões transferidos e taxa de gestação de éguas receptoras aos 15 e 45 dias, grupo controle e submetidas a 5 diferentes tipos de tratamento.

	15 DIAS			45 DIAS	
	n	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
<b>GRUPO I</b>	19	9 (47,4%) <sup>a</sup>	10 (52,6%)	8 (42,1%) <sup>a</sup>	1 (57,9%)
<b>GRUPO II</b>	22	14 (63,6%) <sup>a</sup>	8 (36,4%)	13 (59,1%) <sup>a</sup>	1 (40,9%)
<b>GRUPO III</b>	17	14 (82,4%) <sup>b</sup>	3 (17,6%)	12 (70,6%) <sup>b</sup>	2 (29,4%)
<b>GRUPO IV</b>	9	7 (77,8%) <sup>a</sup>	2 (22,2%)	5 (55,6%) <sup>a</sup>	2 (44,4%)
<b>GRUPO V</b>	6	6 (100%) <sup>b</sup>	0	4 (66,7%) <sup>a</sup>	2 (33,3%)
<b>GRUPO VI</b>	5	3 (60%) <sup>a</sup>	2 (40%)	3 (60%) <sup>a</sup>	0
<b>Total</b>	78	53	25	45	6

- a, b: letra iguais na mesma coluna não existe diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ )

GRUPO I (n=19) controle, GRUPO II (n=22) cíclicas com 1,5 g de P4 LA (300 mg, BioRelease Technologies®); GRUPO III (n=17) cíclicas 1,5 g de P4 LA (300 mg, BioRelease Technologies®) mais 1,5 g de Meloxicam LA (BioRelease Technologies®); GRUPO IV (n=9) cíclicas com 1,5 g de Meloxicam LA (BioRelease Technologies®); GRUPO V (n=6) acíclicas com 1,5 g de P4 LA (300 mg, BioRelease Technologies®); GRUPO VI (n=5) acíclicas com 1,5 g de P4 LA (300 mg, BioRelease Technologies®) mais 1,5 g de Meloxicam LA, (BioRelease Technologies®).

Ao serem comparados o número de embriões entre 15 e 45 dias, foi observada diferença estatística significativa a partir do teste de Wilcoxon ( $p < 0,05$ ). A diferença observada entre os valores médios entre os dois momentos pode ser observada na (Figura 2).



**Figura 2:** Valores médios entre as gestações aos 15 dias e 45 dias.

As taxas de gestação após a transferência de embrião não cirúrgica em éguas geralmente variam entre 50% e 75% (SQUIRES et al., 2003; RAZ et al., 2011). No presente estudo, a taxas de gestação após a transferência de embriões foram aceitáveis (ou seja, maior de 50%) a média de todos os grupos foi de 71,9%. Com exceção do grupo I (controle), grupo que não recebeu nenhum tratamento no momento da TE a taxa ficou em 47,4% bem próximo de 50%. As éguas do grupo controle foram utilizadas na primavera e verão. Mesmo estando um pouco abaixo da média descrito por Squires et al.; (2003); Raz et al.; (2001); está de acordo como descrito por Pinto et al.; (2017); que foi de 47,1% (33/70).

Jacob et al.; (2010); obtiveram taxas de gestação considerando o dia pós- ovulação das éguas receptoras foram as seguintes para cada dia: Dia 2 (33%, 07/21), Dia 3 (66%, 49/74), Dia 4 (66%, 65/98), Dia 5 (62%, 62/100), Dia 6 (55%, 43/78), Dia 7 (58%, 35/60) e Dia 8 (56%, 13/23). Obtendo uma taxa média de gestação em 60 dias de 60% (274/454) o que está de acordo com os resultados dos trabalhos citados acima, assim como do presente trabalho.

Obtendo uma taxa de gestação média de 54,2% entre os dias D0 a D6, Camargo et al.; (2013), encontraram a seguinte taxa de gestação, levando em consideração a diferença entre o

tempo de ovulação entre doadora e receptora, D-1 12,5% (1/8), D0 73% (22/30), D1 60,2% (41/68), D2 61% (58/95), D3 57,2% (59/103), D4 59,4% (41/69), D5 35,2% (6/17) e D6 33,3% (2/6).

Assim como outros pesquisadores demonstraram que a taxa de gestação está de acordo com a médias das publicações, como por exemplo, Gomes et al.; (2014); testando dois meios de manutenção, TQC Holding Plus® e BotuEmbryo®, encontraram uma taxa de gestação de 75% e 83%, respectivamente.

Já Rodrigues et al.; (2012); em receptoras D2 suplementadas com P4 LA no dia da ovulação, a taxa de gestação foi de 71% (39/55), nas receptoras que receberam embrião no D4 a D8 sem aplicação de P4LA, a taxa de gestação foi de 75%. Porém no grupo que não recebeu suplementação de P4 LA no dia da ovulação e o embrião foi transferido no D2 a taxa de gestação foi 20%, muito inferior aos demais.

A taxa de perda embrionária também foi próxima ao relatado por Pessoa et al.; (2011); não encontraram diferença significativa na taxa de gestação de éguas atletas e não atletas, assim como na taxa de perda embrionária. Nas taxas de gestação das éguas em treinamento e reprodutoras no dia 15 (82/105, 78% vs. 370/466, 79%) e dia 40 (73/105, 69% vs. 328/466, 70%), obtendo uma taxa de perda embrionária de 9% para os dois grupos.

Panzani et al.; (2015); durante 11 estações de monta, transferiram 351 embriões, e foram encontradas as seguintes taxas de gestação em 14 e 40 dias 77,8% (273/351), 69,2% (243/351), respectivamente e a seguinte taxa de parto 64,4% (226/351). A perda gestacional entre 14 e 40 dias foi de 11% (30/273) e entre 40 dias e parto foi de 7% (17/243). Em nosso estudo a média de gestação aos 15 dias foi de 71,9% e aos 45 dias foi de 59,0% ocorrendo uma perda embrionária de 12,8% bem próximo ao que foi relatado no trabalho de referência. Ainda avaliando com o trabalho de Panzani et al.; (2015); que encontrou no grupo que foi selecionado e tratado com altrenogest uma taxa de gestação de 75,8% (50/66) e 66,7% (44/66), aos 14 e 40 dias, respectivamente. E no grupo controle 78,7%. Houve uma seleção das éguas do grupo controle assim como do grupo tratado, e a progesterona usada foi de curta ação. No presente trabalho as receptoras não foram selecionadas quanto a fertilidade apenas se estavam ou não aptas a receber embrião, talvez essa diferença grande das éguas do nosso controle para as do trabalho de Panzani et al.; (2015). Assim como as éguas dos demais grupos com P4 LA ou Meloxicam LA, ficaram próximo aos resultados encontrados. Porém no presente estudo quando houve a associação de P4 LA com Meloxicam LA nossos resultados foram superiores.

Aos 15 dias após a ovulação os grupos III e V obtiveram melhores taxas de gestação que os demais grupos no presente trabalho ( $p < 0,05$ ). Esses dois grupos tiveram como tratamento a associação de P4 LA com Meloxicam LA, sendo melhor que o grupo controle, e os grupos que tomaram somente P4 LA ou Meloxicam LA.

Entretanto, Pinto et al.; (2017); trabalhando com uma combinação de Meloxicam BioRelease e Progesterona BioRelease e Flunixin Meglumine com Progesterona BioRelease e o grupo controle, obtiveram uma taxa de gestação aos 15 dias, de 75% (15/20), 70,8 % (17/24) e 47,1% (33/70), respectivamente. Resultados esses, bem parecidos com os nossos, principalmente no grupo controle, porém eles não tiveram grupos para comparar somente a P4 LA ou grupo somente com anti-inflamatório.

Também de acordo com trabalho utilizando anti-inflamatório, Panzani et al.; (2015); utilizaram receptoras que foram tratadas com penicilina procaína, flunixin meglumine e altrenogest, tiveram uma taxa de gestação aos 15 dias de 74,6% (47/63) e aos 40 dias 68,3% (43/63).

O grupo controle, II, IV, não tiveram diferença significativa na taxa de gestação aos 15 dias após a ovulação. O grupo II que foi tratado somente com P4 LA e o grupo IV que foi tratado somente com Meloxicam LA, tiveram uma taxa de gestação de 63,6 e 77,8% respectivamente e o controle de 47,4%. De acordo foram os estudos de Jacob et al.; (2003); que observaram uma taxa de gestação de 80% (12/15), entre as receptoras tratadas com flunixin meglumine e 46,5% (7/15) nas não tratadas, concluindo que o tratamento foi eficiente para promover o aumento da taxa de gestação e melhoria na eficiência reprodutiva. No presente estudo o grupo IV que foi com anti-inflamatório não apresentou diferença significativa com os demais grupos, e isso pode ser devido ao número de éguas que foi bem inferior  $n=9$  que os demais, sendo que, controle  $n=19$  e grupo II com P4 LA  $n=22$ .

Porém, Okada et al.; (2017); não encontraram diferença significativa entre as éguas receptoras não tratadas e as tratadas com flunixin meglumine no momento da transferência de embrião, o grupo controle apresentou uma taxa de gestação aos 15 dias de 70,95% (127/179) e aos 60 dias 65,92% (118/230), no grupo tratado 75,22% (173/230) e aos 60 dias 65,22% (150/230).

De acordo com Caiado et al.; (2005); não observaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) aos 28 dias de gestação nas éguas que não receberam uma única aplicação de FM 15 minutos antes do TE (grupo controle 75% - 15/20) e no grupo tratado (55% - 11/20).

Resende, 2009, observou a partir de 165 TEs, uma diminuição significativa aos 60 dias na taxa de prenhez em éguas receptoras de embriões que foram tratadas com FM imediatamente após o procedimento, resultando em 58,13% das éguas gestantes no grupo tratado e 72,15% no controle grupo. Resultado difere do presente trabalho uma vez que não observamos diferença significativa na taxa de gestação aos 15 e 45 dias, com aplicações ou não de anti-inflamatório no dia da TE.

O grupo V, receptoras acíclicas, que foi realizado o preparo com 5 mg de benzoato de estradiol e 48 horas após 1,5 g de P4 L.A., teve a maior taxa de gestação 100%, mostrando que o preparo com dose única de benzoato de estradiol é viável e com excelentes resultados, como demonstrou Silva; (2016). Panzani et al.; (2015); nas receptoras acíclicas, tratadas duas vezes ao dia com altrenogest, a partir do terceiro dia após a ovulação da doadora até o diagnóstico de gestação, teve uma taxa de gestação de 90,9% (10/11) aos 14 dias e 81,8% (9/11) aos 40 dias. A taxa de gestação aos 15 dias no presente estudo foi maior, 100%, mas a taxa de gestação aos 45 dias, foi menor 67% (4/6). Porém, devido ao número reduzido de éguas, não podemos argumentar se está ou não de acordo com outros trabalhos.

Trabalhando com éguas acíclicas, Segabinazzi et al.; (2018), preparadas com 17  $\beta$  estradiol e P4 LA, observaram uma taxa de gestação de 66%, e uma perda gestacional de 13%, enquanto no grupo controle, foi 64% e 27%, respectivamente, porém não houve diferença significativa entre tratamentos.

A taxa de gestação acima da média mundial pode ter sido pelo baixo n amostral, já que só utilizamos éguas no início da estação, quando não estavam ciclando ainda.

O grupo VI, receptoras acíclicas que receberam além do P4, uma dose de Meloxicam no momento da TE, teve uma taxa de gestação de 60%, mas não diferiu do GI, GII, GIV. O que nos leva a crer que pode ter ocorrido devido ao baixo n amostral.

## **5 CONCLUSÃO**

A aplicação de P4 LA e meloxicam LA, evidência melhora nos índices de gestação, quando associados. A P4 LA, melhora o tônus uterino e mantém a concentração plasmática de progesterona e o meloxicam LA, por estar associado ao efeito anti-inflamatório seletivo COX-2. Como consequência é o aumento significativo na taxa de gestação de receptoras podendo melhorar os resultados em programas comerciais de transferência de embriões em equinos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Control of the Mare's Oestrous Cycle by Prostaglandins. **Journal of reproduction and fertility**, v. 33, p. 539–543, 1973.
- ALLEN, W.R., The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. **Reprod. domest. Anim.** 40, 310-329, 2005.
- ALVARENGA, M.A., TONGU, E.A.O; Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programa de transferência de embrião de equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.19-24, jan/mar 2017.
- ANDRADE,V.P.; Efeito do ácido mefenâmico sobre a motilidade embrionária em éguas. **Botucatu**, 45p., 2018.
- ARISTIJABAL,V.H.V.; GARCIA, H.D.M.; SILVA, E.S.M.; DELLAQUA JUNIOR, J.A.. Transferência de embriões em éguas receptoras anovulatórias. **Revista Medicina Veterinária**. 2017;(33):137-47.
- BATTUT, I., COLCHEN, S., FIENI, F., TANTURIER, D. and BRUYAS, J.F. Success rates when attempting to nonsurgically collect equine embryos at 144, 156 or 168 hours after ovulation. **Equine Veterinary Journal**, Suppl. 25, 60-62, 1997.
- BATTUT, I., GRANDCHAMP DES RAUX, A., NICAISE, J.L., FIENI, F., TANTURIER, D. and BRUYAS, J.F. When do equine embryos enter the uterine cavity? An attempt to answer. In: **Proceedings of the 5th International Symposium on Equine Embryo Transfer, Havemeyer Foundation Monograph Series 3**, Eds: T. Katila and J.F. Wade, R&W Publications, Newmarket. pp 60-61, 2001.
- BERETTA, C.; GARAVAGLIA, G.; CAVALLI, M. COX-1 and COX-2 inhibition in 19 horse blood by phenylbutazone, flunixin, carprofen and meloxicam: An in vitro analysis. **Pharmacological Research**, v. 52, n. 4, p. 302–306, 2005.
- BLANCHARD, T.L. et.al., 2003. **Manual of Equine Reproduction**, Second Edition.
- BRINGEL, B. A.; JACOB, J. C. F.; ZIMMERMAN, M. Biorelease progesterone LA 150 and its application to overcome effects of premature luteolysis on progesterone levels in mares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, p.498-500, 2003.
- BURNS; P. J.; MORROW, C.; GILLEY, R.; PAPICH, M. G. Evaluation of pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships for Biorelease meloxicam formulations in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, p.539-544, 2010.
- CARNEVALE, E.M., RAMIREZ, R.J., SQUIRES, E.L., ALVARENGA, M.A., VANDERWALL, D.K. and MCCUE, P.M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology** 54, 965-979, 2000.

CAIADO, J.R.C., FONSECA, F.A., SILVA, J.F.S., CAIADO, J.C.C., FONTES, R.S.; Aplicação do flunixin meglumine antes da transferência não-cirúrgica de embriões em éguas da raça Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira ci. Veterinária**, v.12, n. 1/3, p. 11-15, jan/dez, 2005.

CAMARGO, C.E., WEISS, R.R., KOZICKI, L.E., DUARTE, M.P., DUARTE, M.C.G., LUNELLI, D., WEBER, S., ABREU, R.A.; Some factors affecting the rate of pregnancy after embryo transfer derived from Brazilian Jumper Horse breed. **Journal of Equine Veterinary Science**, 33, 924-929, 2013.

DAVIES MOREL, M.C.G. Selection of the mare and stallion for breeding. In \_\_\_\_\_. **Equine reproductive physiology, breeding and stud management**. Wallingford, CAB International, Cap 12, p.105-130, 2003.

DELUCA, C.A., MCCUE, P.M., PATTEN, M.L., SQUIRES, E.L.; Effect of a nonsurgical embryo transfer procedure and/or altrenogest therapy on endogenous progesterone concentration in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31, 57-62, 2011.

DERCOLLI, T.E.. Efeitos do anti-inflamatório inibidor COX 2 (meloxicam) associado ao uso da hCG na gestação, características de corpo lúteo, fertilidade e desenvolvimento embrionário em éguas receptoras. Dissertação de Mestrado. **Catálogo USP - Pirassununga**. 2017.

FARIA, D.R.; GRADELA, A. Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.34, n.2, p.114-122, 2010.

FOSS R. Selection and management of equine embryo transfer recipients. In: Embryo transfer. In: **AETA Annual Meeting in conjunction with The Society For Theriogenology Convention**, Proceedings...Monterrey, Califórnia, USA; 2008 p. 11–5.

FOSS R, CRANE A. Serum progesterone changes in embryo transfer recipients. In: **50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)**, Proceedings...Denver, Colorado, USA; 2004. p. 521–4.

GINTHER, O. J.. **Reproductive Biology of the Mare: Basic and applied aspects**. 2ed. Wisconsin: Equiservices, Cross Plains, 640p, 1992.

GINTHER, O.J., 2007 **Ultrasonic IMaging and Animal Reproduction: Book 4 Color-Doppler Ultrasonography**. Equiservices Publishing Cross Plains, WI.

GINTHER,O.J., HANNAM, M.A., BEG, M.A.. Luteolysis and associated interrelationships among circulating PGF2a, progesterone, LH, and estradiol in mares. **Domestic Animal Endocrinoly** 2011;41:174e84

GOMES, L.P.M., GAVIOLLI, D., JACOB, J.C.F., CRESPILO, A.M., CARDOSO, C.E., GOMES, G.M.; Taxa de gestação de embriões equinos mantidos em dois meios comerciais diferentes de manutenção pós-transferência de embriões. *Revista Saúde*, Jan./Dez., 05(1/2); 23-27, 2014.

GRECO, G.M.; BURLAMAQUI, F.L.G., PINNA, A.E.; QUEIROZ, F.J.R., CUNHA, M.P.S.; BRANDÃO, F.Z.. Use of long acting progesterone to acyclic embryo recipient mares. **Braz Anim Sci** 2012;41:607-11

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. In: **Reprodução Animal**. 7ª ed. Editora Manole. Barueri SP, 2004.

HARTMAN D. L. Embryo transfer. In: **Equine Reproduction**. 2nd ed. Oxford: Blackweel Publissing, p. 2871-9, 2011.

HURTGEN J. P. Management of embryo donor mares with chronic infertility. In: **54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Proceedings...** San Diego, California. 2008, p.414-417

IRVINE, C.H., ALEXANDER, S.L., MCKINNON, A.O., 2000. Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. **J. Reroduction Fertl.** 118, 101-109.

JACOB, J.C.F.. Effect of embryo age and recipient asynchrony on pregnancy rates in a comercial equine embryo transfer program. **Theriogenology**, 77, 1159-1166, 2012.

JACOB, J.C.F., OLIVEIRA, J.P., PAIVA, S.O., SÁ, M.A.F.; Estratégia para aumentar a taxa de gestação em éguas receptoras de embrião utilizando flunixin meglumine (Banamine®), **Theriogenology**, v.59, p.1381-1391, 2003.

JACOB. J.C.F.; SANTOS, G.O.; OLIVEIRA, J.P.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E. I.; Evaluation of reproductive parameters in a comercial equine embryo transfer program. **Animal Reproduction Science**, v. 1215, p. 305-306, 2010.

JACOB J. C. F.; GUERSON Y. B.; FERRAZ P. J. Como melhorar os índices reprodutivos em um programa de Transferência de embrião eqüino. In: **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal** (CBRA-2019); Anais... Gramado, RS, 2019.

KELLEY, D.E.; GIBBONS, J.R.; SMITH, R.; VERNON, K.L., PRAT-PHILLIP, S.E.; MORTENSEN, C.J.. Exercise affects both ovarian follicular dynamics and hormone concentrations in mares. **Theriogenology**, v.76, n.4, p.615-622, 2011.

KING, S.S., NEUMANN. K.R., NEQUIN, L.G., WEEDMAN, B.J., 1993. Time of onset and ovarian state prior to entry into winter anestrus. **J. Equine Vet. Sci.**, 13, 512-515.

KING, S.S., DOUGLAS, B.L., ROSER, J.F., SILVIA, W.J., JONES, K.L., 2010. Differential luteolytic function between the physiological breeding season, autumn transition and persistente winter cyclicity in the mare. **Animal Reproduction Sci.**, 117, 232-240.

KLEIN, C.; Maternal Recognition of Pregnancy in the Contexto f Equine Embryo Transfer. **Journal of Equine Veterinary Science**. 41, 22-28, 2016.

KOBLISCHKE P, KINDAHL H, BUDIK S, AURICH J, PALM F, WALTER I, KOLODZIEJEK J, NOWOTNY N, HOPPEN HO, AURICH C. Embryo transfer induces

a subclinical endometrites in recipient mares, which can be prevented by treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs. **Theriogenology**, v. 70, p.1147-1158, 2008.

LOPES E. P. Transferência de embriões equinos: maximizando resultados com a escolha de receptoras. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 39, n. 1, p. 223-229, 2015.

LOSINNO, L., AGUILAR, J.J. and LISA, H. Impact of multiple ovulations in a commercial equine embryo transfer programme. In: **Proceedings of the 5th International Symposium on Equine Embryo Transfer, Havemeyer Foundation Monograph Series 3**, Eds: T. Katila and J.F. Wade, **R&W Publications, Newmarket**. pp 81-83, 2001.

LOSINNO L. E ALVARENGA, M. A. Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 34, p. 39- 49, 2006.

MALPAUX B., THIÉRY, J.C., CHEMINEAU, P., Melatonin and the seasonal control of reproduction. **Reprod. Nutr. Dev.** 39, 355-366, 1999.

MARINONE, A.I., LOSINNO, L., FUMUSO, E., RODRIGUEZ, E.M., REDOLATTI, C., CANTATORE, S., CUERVO-ARANGO, J. The effect of mare's age on multiple ovulation rate, embryo recovery, post-transfer pregnancy rate, and interovulatory interval in a commercial embryo transfer program in Argentina. **Animal Reproduction Science**, 158, 53-59, 2015.

MCCUE PM, GEE EK, MAGEE C., WOODS C., SQUIRES E.L.. Hormone and other medical therapies in embryo transfer recipient mares. In: Embryo transfer proceedings, **Society of Theriogenology**, Proceedings... Monterrey California; 2007. p. 27-35

MCCUE PM, FERRIS RA, LINDHOLM AR, DELUCA CA. Embryo recovery procedures and collection success: Results of 492 embryo-flush attempts. In: **Annual Convention of the AAEP**, Proceedings... Baltimore, MD, USA, 56; 2010. p.318-21.

MCCUE, P.M., SQUIRES, E.L.. **Equine Embryo Transfer**, 1st , ed. CRC Press, 2015.

MCDOWELL, K.J.; SHARP, D. C.; PECK, L. S.; CHEVES, L. L. Short Report - Effect of restricted conceptus mobility on maternal recognition of pregnancy in mares. **Equine veterinary journal**, 1985; 17:23-24.

MCKINNON, A.O.; SQUIRE, E.L., CARNEVALE, E.M., HERMENET, M.J.. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipient and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology** 1988;29: 1055e63

MCKINNON, A.O.; SQUIRE, E.L.; VAALA, W.E; VARNER, D.D.; 2011. **Equine Reproduction** , second edition, vol.1.

MONTECHIESI, D.F.; Transferência de embriões em equinos e os fatores relacionados as taxas de prenhez. **Ciência Animal**, 25(1); 187-194, 2015.

NAGY, P., GUILLAUME, D., DAELS, P., 2000. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Sci.** 61, 245-262

NEQUIN, L.G., KING, S.S., ROSER, J.F., SODERSTROM, B.L., CARNAVALE, E.M., NEUMANN, K.R., 2000. Uncoupling of the equine reproductive axes during transition into anoestrus, **J. Reprod. Fertil.** 153-161.

NISWENDER G D, NETT T M 2005 Control of the Menstrual Cycle and the Consequences of Fertilization on the Life of the Corpus Luteum, in Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, In: Wassarman P, Neil J, Editor., Elsevier, ACADEMIC PRESS, New, p 489-525.

OLIVEIRA, J.P.. Influência da temperatura e umidade ambiente em um programa de transferência de embriões equinos, na Baixada Fluminense - Rio de Janeiro. 2011. 46 f. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2011.**

OLIVEIRA NETO, I.V.;2018. Synchronization of cyclic and acyclic embryo recipient mares with donor mares. **Animal Reproduction Science**, 190, 1-9.

OKADA CTC, Efeito dos AINES na fertilidade, perda gestacional precoce e mobilidade embrionária de éguas receptoras de embrião; Botucatu 2017. 70p. Dissertação (Mestrado) – **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu**, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

PANZANI, D.; VANNOZZI, I.; MARMORINI, P.; ROTA, A., CAMILLO, F.. Factors Affecting Recipients' Pregnancy, Pregnancy Loss, and Foaling Rates in a Commercial Equine Embryo Transfer Program. **J Equine Vet Sci**, v.37, p.17-23, 2016

PESSOA, M.A., CANIZZA, A.P., REGHINI, M.F.S., ALVARENGA, M.A., Embryo transfer efficiency of quarter horse athletic mares, **Journal of Equine Veterinary Science**, 31, 703-705, 2011.

PINTO, M. R.; MIRAGAYA, M. H.; BURNS, P.; DOUGLAS, R.; NEILD, D. M. Strategies for increasing reproductive efficiency in a commercial embryo transfer program with high performance donor mares under training. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 54, p. 93-97, 2017.

RESENDE, Á.M.D.E., Efeito do tratamento anti- inflamatório na histologia endometrial , produção de prostaglandina e taxa de gestação após transferência de embriões e / ou manipulação cervical em éguas. Thesis. **Universidade Federal de Lavras (UFLA)**, 2009

ROCHA FILHO, A.N.; PESSOA, M.A.; GIOSO, M.M.; ALVARENGA, M.A.. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Animal reproduction**, 1, 91-5, 2004.

RODRIGUES, P.G.; RESENDE, A.M.; SOUZA, J.C.; CARVALHO, R.R.; MACULAN, R.; 151 Pregnancy rates after a nonsteroidal anti-inflammatory (Flunixin Meglumine) and Progesterone(P4) administration to Mangalarga Marchador recipient mares. **Reproduction, Fertility and Development** 23(1) 179-179, 2010.

RODRIGUES, T.G., CAIADO, J.R.C., FAGUNDES, B., SILVA, J.F.S.; Uso de progesterona de longa ação e inovação de éguas no segundo dia após a ovulação. **Acta Biomedica Brasileira**, vol. 3, n 1 , junho, 2012.

SEGABINAZZI, L.G., ANDRADE JR, L.R.P., CRESPILO, A.M., OBA, E., DELLAQUA, J.A., PAPA, F.O., ALVARENGA, M.A.; Use of progesterone-releasing intravaginal device to prepare embryo-recipient mares. **Journal of Equine Veterinary Science**.66, 154, 2018.

SILVA, E.S.M.; FRADE, S.; FERREIRA, J.C.; PUOLI FILHO, J.N.P.; MEIRA, C.; Effect of interrupting altrenogest treatment in non-cyclic recipient mares on pregnancy maintenance: partial results. **Resúmenes del II Congreso Argentino de Reproducción Equina**, 1º Ed. Editorial Universidad Nacional de Rio Cuarto, p.551-553, 2011

SILVA, E.S.M.; IGNÁCIO, F.S.; PANTOJA, J.C.F.; PUOLI FILHO, J.N.P., MEIRA, C.. Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of pregnancy in non-cyclic recipient mares. **Animal Reproduction Sci**; 144-122-8, 2014.

SILVA, E.S.M.; PANTOJA, J.C.F., PUOLLI FILHO, J.N.P.; MEIRA, C.. Ultrasonography of the conceptus development from days 15 to 60 of pregnancy in non-cyclic recipient mares, **Cien Rural**, 45-512, 8, 2015.

SILVA, E.S.M.; ROSER, J.F.; GOMES, A.R.C., FRITSCH, S.C.; PANTOJA, J.C.F., OLIVEIRA FILHO, J.P., et. al.; Comparison of different regimens of estradiol benzoate treatments followed by long-acting progesterone to prepare noncycling mares as embryo recipients. **Theriogenology**, 86, 1-8 , 2016.

SILVA, E.S.M.; IGNÁCIO, F.S.; FRITSCH, S.C.; ZANONI, D.S.; PANTOJA, J.C.F.; OLIVEIRA FILHO, J.P.; MEIRA, C.. Administration of 2.5 mg of estradiol followed by 1,500 mg of progesterone to anovulatory mares promote similar uterine morphology, hormone concentrations and molecular dynamics to those observed in cyclic mares. **Theriogenology** 97, 159-169, 2017.

SILVA, E.S.M.; VAZ, I.S.; RODRIGUES, T.S. et. al.; **Journal of Equine Veterinary Science**, 2021.

SMITH, R.L.; VERNON, K.L.; KELLEY, D.E.; GIBBONS, J.R.; Mortensen CJ. Impact of moderate exercise on ovarian blood and early embryonic outcomes in mares. **J Anim Sci**, v.90, n.11, p.3770-3777, 2012

SQUIRES, E.L., MCCUE, P.M., VANDERWALL, D. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology** 1999;51:91-104

SQUIRES, E.L., CARNEVALE, E.M., MCCUE, P.M. and BRUEMMER, J.E.; Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**. 59, 151-170, 2003.

STOUT, T. A. E.; ALLEN, W. R. Prostaglandin E2 and F2 $\alpha$  production by equine conceptuses and concentrations in conceptus fluids and uterine flushings recovered from early pregnant and dioestrous mares. **Reproduction**, v. 123, n. 2, p. 261-268, 2002.

STOUT, T.A.E.. Selection and management of the embryo transfer donor mare. **Pferdeheilkunde** 19, 685-688, 2003.

STOUT, T.A.E.; Review article, Equine embryo transfer: review of developing potential. **Equine Veterinary Journal**, 38 (5), 467-478, 2006.

TASAKA, A. C. Antiinflamatórios não-esteroidais. In: SPINOSA, H.; GÓRNIAK, S.; BERNARDI, M. M. (Ed.). **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária**. quarta edição. Guanabara koogan, p. 257–271, 2006.

TOMAC J., CEKINOVIC D, ARAPOVIC J. Biology of the Corpus luteum. **Periodicum Biologorum**, v.113, n 1, 43-49, 2011.

VAZQUEZ. J.J., GARCIA, A., KASS, P.H., LIU, I.K.M., BALL, B.A. Influence of environmental temperature, exercise, semen type and ovulation characteristics on reproductive performance in a commercial embryo transfer program. **Animal Reproduction Science**;121S: 284-5, 2010.

WATSON, E. D.; SERTICH, P. L. Prostaglandin production by horse embryos and the effect of co-culture of embryos with endometrium from pregnant mares. **Journal of reproduction and fertility**, 1989; 87: 331–336.