



MARCELO SIQUEIRA EL AZZI

**COMPARAÇÃO DE DINOPROSTE TROMETAMINA E
ACETATO DE DESLORELINA COMO INDUTORES DE
OVULAÇÃO EM ÉGUAS**

Lavras-MG

2018

MARCELO SIQUEIRA EL AZZI

**COMPARAÇÃO DE DINOPROSTE TROMETAMINA E
ACETATO DE DESLORELINA COMO INDUTORES
OVULATÓRIOS EM ÉGUAS**

**COMPARISON OF DINOPROST TROMETHAMINE AND
DESLORELIN ACETATE AS OVULATORY GUIDELINES
IN MARES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Zootecnia, área de concentração em Fisiológicos e Metabólicos na Reprodução e Produção de animais não-Ruminantes, para obtenção do título de “Mestre”.

Prof. Dr. José Camisão de Souza

Orientador

LAVRAS - MG

2018

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

El Azzi, Marcelo Siqueira.

Comparação de dinoprote trometamina e acetato de
deslorelina como indutores ovulatórios em éguas / Marcelo Siqueira
El Azzi. - 2018.

62 p. : il.

Orientador(a): José Camisão de Souza.

.
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. ovulação. 2. equinos. 3. prostaglandina. I. de Souza, José
Camição. . II. Título.

MARCELO SIQUEIRA EL AZZI

**COMPARAÇÃO DE DINOPROSTE TROMETAMINA E ACETATO
DE DESLORELINA COMO INDUTORES OVULATÓRIOS EM
ÉGUAS**

**COMPARISON OF DINOPROST TROMETHAMINE AND
DESLORELIN ACETATE AS OVULATORY GUIDELINES IN
MARES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Zootecnia, área de concentração em Fisiológicos e Metabólicos na Reprodução e Produção de Animais não-Ruminantes, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 08 de Maio de 2018

Prof^(a)Dr^(a) Raquel Silva de Moura UFLA

Prof. Dr. Antônio Carlos Cunha Lacrete Junior UFLA

Dr^(a) Lourenya Tatiana Flora Chalfun Faz. DF

Prof. Dr. José Camisão de Souza

Orientador

LAVRAS - MG

2018

À minha família!

Principalmente ao meu pai, que me ensinou que juntos somos fortes.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Nesse momento de conclusão de mais uma etapa da minha vida, só tenho a agradecer, pois foram pontuais e de imensa importância as ajudas recebidas. Assim meus sinceros agradecimentos...

À Universidade Federal de Lavras, instituição que me forneceu formação e conhecimentos necessários para alcançar mais essa etapa de vida.

Ao meu pai Seymer Paiva El Azzi, por sempre me incentivar a seguir estudando.

Aos meu irmão Thiago Siqueira El Azzi, por me apoiar em vários.

Aos meus tios padrinhos, Sandra Paiva El Azzi e Antônio Alves Duarte, por serem exemplos de vida, amigos e segundos pais.

Ao meus amigos e irmãos de coração da república Villa Veba, que fiz durante o bacharelado em Medicina Veterinária e que permaneceram da mesma forma durante essa etapa de mestrado.

Aos meus amigos Pedro e Fábio, que foram de enorme importância em momentos de estruturação de ideias para a confecção do projeto.

Ao meu amigo Bruno, pela ajuda nas análises dos dados.

Ao meu amigo Gustavo, pela ajuda nas coletas dos dados, sempre disposto quando requisitado.

Aos meus amigos, Adeilson e Elisângela, por cederem os animais para pesquisa, sempre solícitos a ajudar em tudo que fosse necessário e por me acolherem de forma carinhosa e atenciosa, agradeço de coração.

Ao meu orientador José Camisão de Souza, pela amizade, ajuda, conselhos, paciência e por ter me ajudado a crescer como pesquisador.

Aos professores Nadja, Lacrete, Raquel e Norberto por me aconselharem no trabalho e buscarem auxiliar sempre que puderam.

Aos criadores Luciano, Eduardo, Célio e novamente Adeilson, pelo apoio financeiro.

Aos animais, pois sem eles nada disso seria possível.

À Cnpq, por ter me auxiliado com a bolsa de estudos.

À Coordenação do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFLA, representada pelos professores Matheus e Vinícius e pelo secretário Carlos.

A todos, muito obrigado!

“All these years the people said he's actin like a kid.

He did not know he could not fly, so he did.”

(Guy Clarck)

RESUMO GERAL

Dentre os hormônios indutores da ovulação equina, destaca-se o Acetato de Deslorelina (AD; Sincrorrelin[®], Ouro Fino, Brasil), análogo sintético ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), com comprovada eficácia em programas de estação reprodutiva equina. As prostaglandinas desempenham diversas funções no organismo animal, sendo a prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) um potente agente luteolítico, e suas funções biológicas no mecanismo da ovulação vem sendo estudadas. O Dinoprost trometamina (DT; Lutalyse[®], Pfizer, EUA), análogo à PGF_{2α}, pode apresentar benefícios quando utilizado em associação com outros hormônios em programas de estação reprodutiva equina. O objetivo foi determinar a eficiência do DT e sua associação com o análogo sintético da GnRH, o AD na indução da ovulação de éguas cíclicas e na melhora da taxa de gestação. Éguas Mangalarga (n = 30), com idade entre 4 - 15 anos e escore de condição corporal 5 - 6 foram examinadas diariamente através de ultrassonografia transretal. Edema 2, cérvix aberto e diâmetro folicular de pelo menos 35 mm foram condições mínimas de inclusão das éguas neste estudo. Ciclos estrais (n = 52) foram distribuídas em um dos cinco tratamentos: tratamento 1 (n = 17) 7,5 mg de DT; tratamento 2 (n = 10), 1,0 mg de AD (controle positivo); tratamento 3 (n = 4), 0,5 mg de AD (controle negativo); tratamento 4 (n = 7), 1,0 mg de AD + 7,5 mg de DT e tratamento 5 (n = 14), 0,5 mg de AD + 7,5 mg DT. Os animais foram examinados a cada 6 horas - o diâmetro do folículo dominante e o edema endometrial foram registrados até o diagnóstico da ovulação e a gestação registrada aos 12 dias pós-ovulação. O número de tratamentos (52) e de diagnósticos gestacionais (52) foram analisados por SAS[®] (Cary - NC, EUA). Os dados da gestação foram submetidos à análise do chi-quadrado utilizando o procedimento GENMOD com a opção binomial. As taxas de ovulação (%) foram 62.5, 90, 75, 100 e 92.31 para os tratamentos. 1-5, respectivamente, havendo diferiram entre o tratamento 1 para com os demais somente, sendo considerados significativos os efeitos do tratamento, período transicional, edema pré-ovulatório e classe dominante, quando $p < 0,05$. O tempo médio entre indução e ovulação foi de $54,52 \pm 5,19$ h (17- 184 h). O diâmetro do folículo pré-ovulatório médio ($39,71 \pm 0,23$ mm e mediana 39,7 mm) e não diferiu entre os tratamentos. Não houve efeito do tratamento ($p = 0,67$) e período de transição ($p = 0,81$) na taxa de gestação. As taxas de gestação não foram afetadas pelo edema no momento da indução ($p = 0,66$), classe de diâmetro do folículo pré-ovulatório ($p = 0,96$) e edema pré-ovulatório ($p = 0,45$). As taxas de ovulação similares, obtidas neste estudo, confirmam a hipótese de que as associações entre os análogos da prostaglandina e GnRH podem sustentar o mecanismo ovulatório comparado ao uso individual do último. Esse efeito complementar pode reduzir o custo dos protocolos de sincronização atualmente utilizados, que dependem exclusivamente dos análogos de GnRH, de custo elevado. Os resultados corroboram o papel ativo das prostaglandinas no mecanismo de ovulação.

Palavras-chave: análogos da GnRH, ovulação, equinos, prostaglandina, folículo ovulatório.

GENERAL ABSTRACT

Among the inducing hormones of equine ovulation, deslorelin acetate (DA; Sincrorrelin[®], Ouro Fino, Brasil), a synthetic analogue of gonadotrophin releasing hormone (GnRH), is well known, with proven efficacy in equine reproductive season programs. Prostaglandins play several roles in the animal body, with prostaglandin F₂-alfa (PGF_{2α}) being a potent luteolytic agent, and its biologic functions in the ovulation mechanism have been studied. Dinoprost tromethamine (DT; Lutalyse[®], Pfizer, EUA), analogous to PGF_{2α}, may have benefits when used in combination with other hormones in equine reproductive season programs. This dissertation presents a chapter. The objective was to determine the efficiency of DT and its association with the synthetic analogue of GnRH, DA in inducing ovulation of cyclic mares and in improving gestational rate. *Mangalarga* mares (n=30), aged between 4 - 15 years and body condition score 5 - 6 were examined daily via transrectal ultrasonography. Edema 2, open cervix and a follicular diameter of at least 35 mm were minimum conditions of mares inclusion in this study. Estrous cycles (n=52) were allocated to one of five treatments: treatment 1 (n= 17) 7.5 mg of DT treatment 2 (n= 10), 1.0 mg of DA (positive control); treatment 3 (n= 4), 0.5 mg of DA (negative control); treatment 4 (n= 7), 1.0 mg of DA + 7.5 mg of DT and treatment 5 (n = 14), 0.5 mg of DA + 7.5 mg DT. The animals were examined every 6 hours – Dominant follicle diameter and endometrial edema were recorded until ovulation and pregnancy diagnosis performed at 12 days post ovulation. Number of treatments performed (52) and number of gestational diagnoses were recorded (52). Data were analyzed by SAS[®], (Cary - NC, USA) procedures. Gestation data were submitted to chi-square analysis using the GENMOD procedure with the binomial option. Ovulation rates (%) were 62.5, 90, 75, 100 and 92.31 for treatments 1-5, respectively and differ among treatments 1 to others. Effects of treatment, transitional period, pre-ovulation edema and dominant follicle class were considered significant if p<0.05. The mean time-interval between induction and ovulation was 54.52 ± 5.19 h (17-184 h). Mean pre-ovulatory follicle diameter (39.71±0.23 mm and median 39.7mm) did not differ among treatments. There was no effect of treatment (p= 0.67) and transitional period (p= 0.81) on gestation rate. Gestation rates were not affected by edema at the time of induction (p= 0.66), pre-ovulatory follicle diameter class (p= 0.96) and pre-ovulatory edema (p= 0.45). The similar ovulation rates obtained in this trial, support the hypothesis that the associations between prostaglandin and GnRH analogues may sustain the ovulatory mechanism compared to the individual use of the latter. This complimentary effect may reduce the cost of synchronization protocols currently used which rely solely in the more expensive GnRH analogues. The results corroborate the active role of prostaglandins in the ovulation mechanism.

Key-words: GnRH-analogues, ovulation, equines, prostaglandin, ovulatory follicle.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 – Moléculas de Dinoprost trometamina e Cloprostenol, análogos sintéticos de $PGF_{2\alpha}$	22
---	-----------

CAPÍTULO I – ARTIGO 1

Figura 1 – Diâmetro folicular e escore de condição de edema endometrial, via ultrassonográfica, transdutor linear transretal, modo M, no momento de indução hormonal.....	57
--	-----------

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – ARTIGO 1

- Tabela 1** – Taxa de ovulação (%) observada em diferentes ciclos estrais em até 72 horas após tratamentos hormonais ovulatórios em éguas Mangalarga..... **55**
- Tabela 2** – Taxa de gestação (%) observada em diferentes tratamentos hormonais ovulatórios em éguas Mangalarga..... **55**
- Tabela 3** – Taxa de gestação (%) observada em diferentes períodos da estação reprodutiva de éguas Mangalarga submetidas à protocolos ovulatórios..... **55**
- Tabela 4** – Taxa de gestação (%) observada em diferentes edemas no momento da indução hormonal ovulatória em éguas Mangalarga. **56**
- Tabela 5** – Taxa de gestação (%) observada em diferentes diâmetros de folículos pré-ovulatórios classificados em folículos dominantes em éguas Mangalarga. . **56**
- Tabela 6** – Taxa de gestação (%) observada em diferentes edemas pré-ovulatórios em éguas Mangalarga submetidas à indução hormonal ovulatória..... **56**

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Fisiologia reprodutiva equina	14
2.1.1 Dinâmica folicular	14
2.1.2 Mecanismos da ovulação	15
2.2 Indutores de Ovulação Equina	18
3.2.1 Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) como indutor da ovulação	18
2.2.2 Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH): seus análogos na reprodução equina	18
2.2.3 Prostaglandina F-2_α (PGF2_α): seus análogos na reprodução equina	19
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos	23
4 REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO I	34
ii. Resumo	37
iii. Introdução	37
iv. Materiais e Métodos.....	39
v. Resultados	42
vi. Discussão	43
vii. Referências	47
ANEXO A – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS.....	55
ANEXO B – INPUT ESTATÍSTICO SAS®	60

1 INTRODUÇÃO

O Brasil lidera a produção de embriões equinos respondendo por cerca de 50% dos embriões transferidos no mundo (LOSINNO e UROSEVIC, 2015), sendo a indução da ovulação um componente muito importante nesse processo. Este procedimento é necessário em programas de reprodução sincronizada, que utilizam sêmen congelado ou transportado a fresco; tanto para a obtenção de gestação direta em matrizes como para fertilização de doadoras e sincronização de receptoras nas transferências de embriões. Além disso, a indução da ovulação permite a diminuição do número de vezes que as éguas são cobertas, diminuindo custos e desgaste de reprodutores e matrizes com manejos adicionais devido ao aumento do período de ciclicidade da égua e diminuição dos ciclos estrais, levando à eficiências reprodutivas, número de embriões recuperados em transferências de embriões e de prenhez (FARIA e GRADELA, 2010; ALVARENGA e TONGU, 2017).

As éguas são poliéstricas estacionais e seu ciclo reprodutivo é dividido em estação reprodutiva, com receptividade sexual durante primavera/verão e de estação não reprodutiva, no outono/inverno, controladas por diversos fatores, sendo o principal a variação do fotoperíodo anual (ROMANO et. al., 1998). Conhecendo a fisiologia reprodutiva equina, os hormônios indutores são empregados de diversas formas, com ações centrais e respostas diversas, afim de maximizar a estação reprodutiva equina (FARIA e GRADELA, 2010; MCCUE, 2016).

Um dos hormônios comumente utilizados, como indutor ovulatório em éguas em estágio reprodutivo é a gonadotrofina corônica humana (hCG). Esse indutor ovulatório, injetado na fase inicial de estro de éguas exerce função semelhante ao hormônio luteinizante (LH), culminando na ovulação dentro de 24 a 48 horas. Estudos anteriores comprovaram que existe um fator limitante na utilização, pois este leva, em alguns casos, ao surgimento de concentrações elevadas de anticorpos anti-hCG, o que pode favorecer retardo no tempo ovulatório em alguns animais após três ou mais utilizações (WILSON et. al., 1990). Além do hCG, outros hormônios naturais ou sintéticos podem ser utilizados no manejo reprodutivo de éguas, sendo o Acetato de Deslorelina o principal indutor de ovulação. O GnRH (acetato de Deslorelina) sintético estimula a secreção do hormônio luteinizante (LH) da hipófise, aumentando as taxas circulantes desse hormônio até 12 horas após uma única aplicação intramuscular (KINO et. al., 2014).

Porém outros indutores ovulatórios, em substituição aos já conhecidos hCG e Acetato de Deslorelina vem sendo pesquisados, afim de aumentar as opções de escolha em eficiência e economia. A prostaglandina F-2_α endógena tem ação na ovulação (KIENER, 2010), quando utilizada de forma exógena, de seus agonistas e análogos em diversas categorias animais, tem

sua função luteolítica comprovada na reprodução (ALLEN e COOPER, 1975; NEELY, 1983) e possivelmente pode ser uma ferramenta importante na indução da ovulação em equinos em estação reprodutiva.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fisiologia reprodutiva equina

As éguas são poliéstricas sazonais e seus ciclos estrais tem duração média de 21 a 22 dias e demonstram receptividade sexual durante os períodos do ano de maior incidência luminosa, na primavera e verão, e diferentemente, no período de menor incidência solar ocorre o período anovulatório de anestro (GINTHER et. al., 2004). Essa característica estacionária ocorre devido às características dependentes de luminosidade, de fotoperíodo positivo da espécie, que por meio do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, ativa o sistema neuro-endócrino desencadeando a ciclicidade e as respostas reprodutivas (FITZGERALD e MCMANUS, 2000).

O fator de maior importância para desencadear as respostas reprodutivas estacionárias em éguas é a melatonina, liberada pela glândula pineal. Há uma grande relação entre hipotálamo, glândula pineal e liberação de hormônios da reprodução (GINTHER et. al., 2004). Um impulso nervoso gerado através da estimulação da retina, se dirige ao núcleo supraquiasmático, gânglio cervical superior e finalmente à glândula pineal, pelas terminações neurais adrenérgicas, com isso, um neurotransmissor, serotonina, é liberado, transformado em normelatonina e ao se juntar com N-acetilserotonina o-metiltransferase (ASMT) sintetiza a melatonina (SATUÉ e GARDÓN. 2013). Após a liberação de melatonina há a inibição de GnRH e conseqüentemente hormônios gonadotróficos, com supressão da ciclicidade equina em períodos prolongados de baixa luminosidade (NAGY et. al., 2000).

A égua apresenta duas fases do ciclo estral, com duração média de 22 dias, quando em dias longos. Uma fase quando em níveis crescentes de estrógeno, apresentando receptividade à copula, com condições de útero, vagina e endométrio favoráveis ao acolhimento do sêmen e fertilização do oócito, com duração média de 5 – 7 dias, outra fase, a égua, quando na presença do corpo lúteo, não apresenta receptividade à cópula com aumento da atividade das glândulas endometriais e é caracterizada por concentrações elevadas de progesterona circulante, com concentrações máximas próximos ao dia 8 e o sistema reprodutivo está apto ao desenvolvimento embrionário e fetal, com duração média de 15 dias finalizando a fase na ausência da fixação do embrião e secreções subsequentes de PGF_{2α} (AURICH, 2011).

2.1.1 Dinâmica folicular

O desenvolvimento folicular em éguas se dá em ondas (BERGFELT e GINTHER, 1993), o primeiro tipo de onda folicular é denominada onda maior, que por sua vez é dividida

em onda primária, com ocorrência após a metade do diestro. A onda primária dá origem ao folículo ovulatório, ao atingir diâmetro ≥ 35 mm. A segunda forma de ocorrência da onda maior é denominada secundária, no estro, originando folículos anovulatórios, com diâmetro ≥ 20 mm (GINTHER et. al., 1989). As ondas menores que possam ocorrer, não apresentam folículos dominantes (GINTHER e BERGFELT, 1992). Embora vários folículos possam estar presentes nos ovários, normalmente somente um ou dois crescem um diâmetro de 35 mm ou mais, são selecionados, estabelecem dominância e ovulam, os subordinados sofrem atresia (HINRICHS, 1990).

A onda folicular na égua está associada a um pico de FSH, três dias antes do desvio folicular, correspondente a 13 dias pós-ovulação, em média e quando os folículos quiescentes estão com cerca de 13 mm (GINTHER, 2017). O início da divergência ocorre quando há uma diminuição de FSH, logo após o pico, durante o diestro (ADAMS et. al., 1992), devido à inibina e estrógeno, liberados principalmente pelo folículo dominante, exercendo feedback negativo sobre a liberação dessa gonadotrofina (DONADEU e GINTHER, 2001; GINTHER e BERGFELT, 1993) e atresia dos folículos subordinados (MCCUE, 1996; DONADEU & GINTHER, 2001). Com baixas concentrações de FSH, o folículo dominante é capaz de continuar a crescer numa proporção maior que seu competidor devido a maior quantidade de receptores (GINTHER et. al., 2003).

A elevação passageira de LH plasmático ocorre durante a divergência, iniciando-se a um ou dois dias antes da sua ocorrência, como parte da onda ovulatória de LH (GASTAL et al., 1999; 2000; BERGFELT et. al., 2001). Diferente de outras espécies domésticas, em éguas não há um pico pré ovulatório de LH, no entanto, a concentração de LH é mantida elevada por alguns dias até a ovulação (GASTAL et al 1999; GINTHER, 2000; AURICH, 2011).

2.1.2 Mecanismos da ovulação em éguas

A ovulação é definida como a liberação do ovócito II, a partir de uma sequência de acontecimentos bioquímicos, morfológicos e biológicos necessários para que ocorra liberações hormonais desencadeando na cascata ovulatória até a ruptura do ovócito maduro (KIENER, 2010). Essa cascata ovulatória é mediada por mudanças hormonais, com respostas vasculares e estruturais (AZNAR et. al., 2007). Nas éguas, os folículos se desenvolvem de forma central, com revestimento do ovário por tecido conjuntivo resistente, com único ponto de ruptura, chamada fossa da ovulação (YOON, 2012).

O folículo atinge diâmetro médio de 22 cm, sendo considerado o folículo dominante, após concentrações de FSH atingirem os valores máximos (GASTAL, 1999), havendo a supressão dos demais folículos e das concentrações de FSH circulantes (GINTHER et. al., 2003). Logo após a seleção, o LH controla o crescimento folicular e a secreção estrogênica, ao adquirir nas células da granulosa, receptores LH (RAWLINGS et. al., 2003) no folículo pré-ovulatório (HSIEH et. al., 2007). O LH está diretamente envolvido com os mecanismos da ovulação, por mudanças estruturais das células da granulosa, esteroidogênese e atividade proliferativa, e expressão e síntese de receptores para fatores de crescimento (SHAO et. al., 2004). Fatores de crescimento semelhante à insulina (IGFs) do tipo 1 e 2 estimulam tanto a atividade mitogênica quanto esteroidogênica no folículo dominante, em células da teca e da granulosa (VOGE et al., 2004), além de serem fatores de indução da ciclooxigenase 2 (Cox-2), com ação no fluxo sanguíneo do folículo pré-ovulatório, juntamente com promotores de tumores, gonadotrofinas e interleucina 1 β (KIENER, 2010). O IGF-1 livre, a inibina A e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) tem suas concentrações aumentadas na divergência do folículo e diminuem na eminência da ovulação, sugerindo que possam estar envolvidos no crescimento e na sua posterior cessação (BASHIR et. al., 2016).

Após atingir um diâmetro maior que 40mm, o folículo dominante tem a sua integridade no tecido ovariano comprometida, com diminuição da dependência de FSH (GINTHER et. al., 2008) e aumento progressivo das concentrações de LH (BOAKARI et. al., 2017). Juntamente com o aumento de LH há o aumento da liberação de endotelina 1, angiotensina II e peptídeo natriurético atrial, com interação na camada das células da granulosa dos folículos maduros, promovendo alterações no fluxo sanguíneo, com ação no processo ovulatório, por modularem o tônus vascular (ACOSTA et al., 1999).

Primeiramente as mudanças vasculares ocorrem pela histamina e posteriormente é assumida pela bradicinina e prostaglandinas (KIENER, 2010). As bradicinina e histamina têm sua liberação estimulada pela interleucina 1 β , com a degranulação dos mastócitos (GRAZUL-BILSKA et. al., 2006). A histamina induz, juntamente com demais fatores, a ruptura do folículo e extrusão do oócito maduro (ESPEY, 1992) e a bradicinina aumenta consideravelmente quando na eminência da ruptura folicular, sendo um fator permissivo à estimulação das prostaglandinas, promovendo a biossíntese destas, por meio da ativação da fosfolipase A2, liberando o ácido araquidônico e levando à conversão das prostaglandinas pelas ciclooxigenases (YOSHIMURA et. al., 1988). As prostaglandinas iniciam o processo de lise da parede do folículo (ACOSTA et. al., 1999), com o aumento da presença de receptores na teca

interna de folículos pré-ovulatórios (BERISHA et. al., 2004), com possível ação na remodelação e na determinação do local de ruptura destes folículos (FIELD et. al., 2014). A PGE₂ induz a hiperemia no ovário, especificamente no folículo dominante, com aumento do fluxo sanguíneo à medida que a ruptura do folículo se aproxima e a PGF₂ α aumenta as concentrações no folículo, com conseqüente vasoconstrição e redução do fluxo sanguíneo no ápice do folículo (YOON, 2012).

A liberação de prostaglandinas intrafolicular também está associada a liberação da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS_e) (ACOSTA et. al., 1999) que sintetiza o óxido nítrico (NO) (GRAZUL-BILSKA et. al., 2006), nas células da granulosa dos folículos, com funções variadas. O NO dilata a musculatura lisa e vasos sanguíneos, libera PGE₂ e prostaciclina pelas ciclooxigenases (KIENER, 2010), porém seus mecanismos nos ovários não são totalmente conhecidos. Sugere-se que NO module a esteroidogênese folicular, com ação na progesterona, sendo demonstrada sua relação positiva ao estradiol pelas células da granulosa, podendo ter ação direta, quando em altas concentrações, na modulação da enzima aromatase, envolvida na conversão da androstenediona em estradiol (KHAN et. al., 2015), no começo da divergência folicular, de modo a não interferir no crescimento folicular por inibir que os folículos subordinados adquiram dominância (FORTUNE, 2003).

O aumento de LH leva à liberação de fator de necrose tumoral tipo alfa (TNF- α), ocasionando a indução de colagenases, com a degeneração da base da membrana que sustenta o epitélio e também da granulosa do folículo, dessa forma formando o estigma por estreitamento da parede ovariana, considerados resultantes da transdução dos sinais apoptóticos. O conjunto desses diversos fatores leva ao contato íntimo das células do ovário com as células epiteliais do folículo, caracterizando a ruptura folicular e conseqüente ovulação (SOUZA et. al., 2010).

2.2 Indutores de Ovulação Equina

3.2.1 Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) como indutor da ovulação

A hCG é uma glicoproteína produzida e secretada por células da placenta humana e, quanto utilizada no estro de éguas se comporta de forma semelhante ao LH (WILSON et. al., 1990), sendo o medicamento mais utilizado em programas de indução de ovulações e redução de duração do estro em éguas (McCUE et. al., 2004; KUHL et. al., 2017).

A hCG contém duas cadeias peptídicas, com galactose e hexosamina, e meia-vida de oito a 12 horas (VOSS et. al., 1993). Devido a sua semelhança com o LH, o hCG estimula os receptores foliculares, com mesma ação de maturação e ovulação (WILSON et. al., 1990), essa semelhança se dá devido as sub-unidade alfa e seqüência de aminoácidos da sub-unidade beta, em parte similares às da gonadotrofina coriônica equina (eCG) e outras gonadotrofinas (SUGINO et. al., 1987).

O tratamento com hCG se dá quando os folículos se apresentam 35 mm ou mais de diâmetro (NEWCOMBE et. al., 2011). O sucesso é relatado quando utilizada via intramuscular, intravenosa ou subcutânea, com doses variando de 1000 a 5000 UI, com uma taxa de ovulação variando entre 70 a 100% (BARBACINI et. al., 2000; AWAN et. al., 2016) e tempo de resposta entre 24 e 48 horas (SAMPER et. al., 2002). Porém, foi relatada eficácia em doses de tratamento de hCG mais baixas, como 750 UI (MOREL e NEWCOMBE, 2008).

O uso repetido desta gonadotrofina implica na redução de sua eficácia, pela formação de anticorpos após repetidas aplicações (WILSON et. al., 1990; BARBACINI et. al., 2000), com variação de resposta na estação de monta, com menor eficácia no período de transição e em éguas mais velhas (BARBACINI et. al., 2000).

2.2.2 Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH): seus análogos na reprodução equina

O GnRH natural (gonadorrelina) e seus análogos, por meio da liberação de LH endógeno, levam à ovulação (BARRIER-BATTUT et. al., 2001), porém o uso do GnRH natural, em éguas nas quais se pretende sincronizar a ovulação, não se mostra uma ferramenta viável devido à sua curta meia-vida e potência (SAMPER, 2008). Análogos de GnRH são utilizados na indução de éguas, que apresentam folículos maiores que 35 mm, favorecendo a utilização de inseminações com melhor assertividade (BOTT et. al., 1996). Quando utilizados diferentes análogos de GnRH, não houve diminuição na variabilidade do intervalo de ovulação

utilizando gonadorelina (BENTON et. al., 2010) e da mesma forma fertirelina (MARCHIORI et. al., 2009).

O análogo Acetato de Deslorelina, um peptídeo sintético é um dos mais utilizados na reprodução equina, estimulando a liberação de LH e FSH a partir da glândula hipófise anterior (CAMPBELL, 2012). Sua ação na diminuição do tempo de ovulação se dá por interação com receptores de GnRH (GnRHr), estimulando a liberação de gonadotrofinas pela hipófise. Quando utilizado análogos ao GnRH de forma contínua há redução da regulação de GnRHr, com diminuição da sensibilidade da hipófise ao GnRH endógeno e consequente diminuição da pulsatilidade do LH (SCHNEIDER et. al., 2006).

O Acetato de Deslorelina parece ser, aproximadamente, 100 vezes mais potente que o GnRH (PADULA, 2005), acelerando a ovulação de folículos pré-ovulatórios menores (CUERVO-ARANGO e NEWCOMBE, 2008). Ao realizar a administração do agonista no momento adequado, a indução da ovulação se dá em intervalo muito estreito, de 40-46 horas, quanto utilizada na forma injetável, lenta (I.M.) e na concentração de 1,5 mg (MCCUE et. al., 2007).

Melo et. al. (2012), sincronizou éguas com Acetato de Deslorelina e observou que apenas 6,9% não responderam ao tratamento em até 48 horas, mostrando que esse agente indutor funciona de forma eficaz na indução da ovulação de éguas em período fértil. Esses autores utilizaram 1,0 miligrama (mg) de deslorelina em veículo injetável de liberação lenta (I.M.), detectaram ovulações em 79,3% das éguas entre 24 e 48 horas após sua aplicação, quando estas apresentavam um folículo ≥ 35 mm.

A hCG, comparativamente à deslorelina parece funcionar melhor no início da estação reprodutiva. Essa diferença pode estar relacionada ao fato de que a hCG atua diretamente no ovário, enquanto a Deslorelina estimula a hipófise anterior e com isso estimula maior liberação de LH (SQUIRES, 2008). Porém os dados são poucos e divergentes quanto às respostas, não havendo diferença entre as taxas de ovulação obtidas com Deslorelina e hCG no período transicional ou na estação ovulatória (GOMES et. al., 2014).

2.2.3 Prostaglandina F-2 α (PGF2 α): seus análogos na reprodução equina

As prostaglandinas são moléculas de lipídeos pequenas, que no organismo exercem diversas funções, reprodutivas, imunológicas, renais, dentre outras (HARRIS et. al., 2002). As prostaglandinas são sintetizadas por ácidos graxos essenciais, principalmente derivada do ácido

araquidônico (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenóico) e sua reação é catalisada pela Prostaglandina endoperoxídeo sintase, produzindo endoperoxídeos PGG-2 e PGH-2. Estes degradam espontaneamente levando à formação das prostaglandinas (GRÉEN et. al., 1981). A PGH-2 é convertida em várias prostaglandinas, incluindo PGI₂, PGF_{2α}, PGD₂ e PGE₂ (HARRIS et. al., 2002).

A PGF_{2α}, um ácido graxo de cadeia longa modificado (GINTHER, 1971), é um potente agente luteolítico (ALLEN e COOPER, 1975; KINDAHL et. al., 1976; NEELY, 1983). A luteólise fisiológica, é iniciada aproximadamente 14 dias após a ovulação e com tempo médio de 23 horas. Após a síntese e secreção pelas células endometriais uterinas, a PGF_{2α} chega aos ovários pela via simples, artéria uterina que irriga diretamente os ovários (GINTHER et. al., 2011). Levando ao declínio da produção e secreção de progesterona e perda dos componentes e integridade celulares pela apoptose celular, concomitante à luteólise morfológica, onde a estrutura do corpo lúteo é quebrada. Esta etapa é marcada pela redução do suprimento vascular, proliferação do tecido conjuntivo, aumento da desorganização celular, degeneração e fagocitose das células luteais (MIYAMOTO et. al., 2009).

Como forma de diminuir o tempo de permanência das éguas em diestro (ALLEN e COOPER, 1975; COFFMAN e PINTO, 2016) e potencializar seu uso reprodutivo, o uso de PGF_{2α} exógenos na luteólise do CL resulta em concentrações menores de progesterona circulante, com consequente aumento das concentrações de LH e FSH, e retorno ao estro entre 2 e 4 dias e posterior ovulação em média aos 7 dias após administração no oitavo dia do diestro (NETT et. al., 1979; WITHERSPOON et. al., 1975).

A PGF_{2α} pode ser administrada pelas vias intramuscular (IM), intravenosa (IV), intra-uterina (IU) ou intra-luteal, a via IM é a de maior praticidade e que apresenta menores efeitos colaterais. Estudos mostram que a égua é muito mais sensível à ação da PGF_{2α} em relação às outras espécies (ALCANTARA et. al., 2005; ALLEN e WILSHER, 2017). Os efeitos colaterais são observados em 10% das éguas, poucos minutos após a administração com sinal clínico mais frequente de sudorese, podendo haver também taquicardia, distúrbios abdominais, incoordenação motora e prostração (Lutalyse®, Pfizer Saúde Animal).

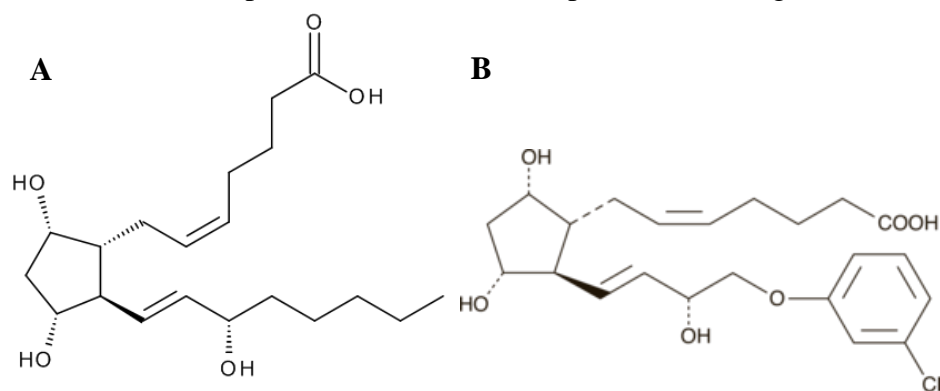
Novos questionamentos quanto às atribuições das prostaglandinas no ciclo reprodutivo em éguas vem sendo levantados. Estas são parte essencial da ovulação (ROBKER et. al., 2000). Em um estudo realizado com ratas, comparando-se diferentes prostaglandinas, PGE₂ e PGF_{2α} na ovulação (GAYTAN et. al., 2002), a PGE₂ se mostrou superior na ruptura de folículos dominantes em comparação à PGF_{2α}, porém quando avaliadas concentrações de

prostaglandinas no líquido folicular de éguas tratadas com hCG (WATSON e HINRICHS, 1988; GINTHER et. al., 2009) houve uma proporção de 4:1 de PGE₂ e PGF_{2α}, sugerindo que ambas prostaglandinas desempenham papel na ovulação equina. Mais recentemente, em um trabalho retrospectivo (BURDEN et. al., 2015), onde foram avaliadas éguas tratadas com cloprostenol, um análogo sintético de PGF_{2α}, observou-se um intervalo de ovulação inverso ao diâmetro folicular, com um menor tempo de ovulação às aquelas com diâmetro maior que 35 milímetros. Um análogo PGF_{2α}, Fenprostaleno, na concentração de 250 microgramas, foi utilizado em éguas com três dias de estro, para ovulação, havendo 80% das éguas ovuladas com 48 horas, diminuindo também a duração do estro, diferindo do controle à base de solução salina, demonstrando que análogos de PGF_{2α} podem ser eficientes indutores (SAVAGE e LIPTRAP, 1986). Em contraste, quando utilizado Luprostiol, outro análogo de PGF_{2α}, em comparação com um análogo de GnRH e hCG, houve diferença entre os indutores, sendo o Luprostiol menos eficaz em diminuir o tempo entre tratamento e ovulação, sugerindo que esse análogo de PGF_{2α} não induz a liberação de LH e FSH suficientes para estimular a ovulação na espécie equina (HARRISON et. al., 1991).

Em uma série de estudos em relação à ocorrência de folículos hemorrágicos anovulatórios (FHA), a PGF_{2α}, na forma de seu análogo cloprostenol aplicada de forma sistêmica logo após o surgimento dessa patologia, teve resultados promissores na indução ovulatória (CUERVO-ARANGO e NEWCOMBE, 2008). Porém quando induzido o HAF por meio de inibidor de síntese de prostaglandina, a aplicação sistêmica de cloprostenol teve resultados desapontadores (CUERVO-ARANGO e NEWCOMBE, 2012). E quando utilizado a administração intrafolicular da associação de PGF_{2α} e PGE₂ em éguas com HAF induzido, as ovulações e prenhez subsequentes ao tratamento foram satisfatórias (MARTÍNEZ-BOVÍ e CUERCO-ARANGO, 2016).

Duas preparações comerciais são utilizadas em tratamentos hormonais em éguas: o cloprostenol sódico e a dinoprost trometamina (Figura 2), ambas são análogos sintéticos da PGF_{2α}. Dinoprost trometamina têm a mesma forma molecular da ocorrência natural da molécula de PGF_{2α}, enquanto cloprostenol sódico é considerado agonista (EMEA, 2004a, b; ESTERMAN et al., 2016). O tempo de meia-vida dessas substâncias sintéticas é diferente, cloprostenol sódico aproximadamente 3 horas, enquanto Dinoprost trometamina minutos (EMEA, 2004a, b).

Figura 1 – Moléculas de Dinoprost trometamina e Cloprostenol, análogos sintéticos de $\text{PGF}_2\alpha$



A: forma molecular de Dinoprost trometamina; B: forma molecular de Cloprostenol
Fonte: <pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> Acessado em: 21 mar. 2017)

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A capacidade de iniciar a ciclicidade estral das éguas é influenciada por fatores ambientais, como a incidência luminosa das estações sazonais. Devido a essa influência é necessária a maximização do período reprodutivo desses animais, sendo utilizado diferentes hormônios sintéticos análogos aos hormônios reprodutivos endógenos.

Aa prostaglandinas endógenas são importantes substâncias na cascata ovulatória e a utilização destas na formas de análogos sintéticos podem ter função similar ou somatória, como no caso do análogo sintético Dinoprost trometamina, de forma molecular semelhante à $PGF_{2\alpha}$ endógena na espécie equina.

Dessa forma os objetivos propostos são:

3.1 Objetivo geral

Conduzir uma análise das respostas à indução da ovulação em éguas, comparando os efeitos do Dinoprost Trometamina, do Acetato de Deslorelina e de suas associações.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar o efeito de indução ovulatória do Dinoprost Trometamina com o tempo de ovulação;
- Verificar o efeito de indução ovulatória do Acetato de Deslorelina com o tempo de ovulação;
- Verificar o efeito de indução ovulatória da associação do Dinoprost Trometamina e Acetato de Deslorelina com o tempo de ovulação;
- Verificar o efeito de indução ovulatória do Dinoprost Trometamina sobre as taxas de gestação quando utilizados esses diferentes indutores da ovulação em monta natural;
- Verificar o efeito de indução ovulatória de Acetato do Deslorelina sobre as taxas de gestação quando utilizados esses diferentes indutores da ovulação em monta natural;
- Verificar o efeito de indução ovulatória da associação de Dinoprost Trometamina e Acetato de Deslorelina sobre as taxas de gestação quando utilizados esses diferentes indutores da ovulação em monta natural;
- Avaliação da ação desses diferentes indutores hormonais em animais com diferença na condição do ambiente em que os animais estarão submetidos, afim de registrar a eficiência dos fármacos envolvidos.

4 REFERÊNCIAS

ACOSTA, T. J. et al. Evidence for a local endothelin-angiotensin-atrial natriuretic peptide system in bovine mature follicles in vitro: effects on steroid hormones and prostaglandin secretion. **Biology of reproduction**, v. 61, n. 6, p. 1419–25, 1999.

ADAMS, G. P. et al. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of reproduction and fertility**, v. 94, n. 1, p. 177-188, 1992.

ALCÁNTARA, B.; BOETA, M.; PORRAS, A. Luteolysis, estrus induction, and clinical side effects in mares treated with a PDF2 α analog, cloprostenol (Sinocrel 11-21). **Journal of equine veterinary science**, v. 25, n. 9, p. 384-386, 2005.

ALCÁNTARA, B.; BOETA, M.; PORRAS, A. Luteolysis, estrus induction, and clinical side effects in mares treated with a PDF2 α analog, cloprostenol (Sinocrel 11-21). **Journal of equine veterinary science**, v. 25, n. 9, p. 384-386, 2005.

ALLEN, T. W. R.; WILSHER, S. Half a century of equine reproduction research and application: A veterinary tour de force. **Equine Veterinary Journal**, 2017.

ALLEN, W. R.; COOPER, M. J. The use of synthetic analogues of prostaglandins for inducing luteolysis in mares. In: **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**. EDP Sciences. p. 461-469, 1975.

ALVARENGA, M. A.; TONGU, E. A. O. Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferência de embrião de equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, p. 19–24, 2017.

AURICH, C. Reproductive cycles of horses. **Animal reproduction science**, v. 124, n. 3, p. 220-228, 2011.

AWAN, Fayzan Sultan et al. Comparative efficacy of hCG or GnRH analogue (lecirelin acetate) on follicular dynamics, degree of endometrial edema, sexual behavior, ovulation and pregnancy rate in crossbred broodmares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 41, p. 71-72, 2016.

AZNAR, F.; BOTIJA, J.; LORENTE, J. Regulación neurohormonal de la función reproductora. El eje diencéfalo-hipófisis-gónadas. **Fundamentos de Obstetricia. Madrid: SEGO**, p. 79-84, 2007.

BARBACINI, S.; ZAVAGLIA, G.; GULDEN, P. Retrospective study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen semen. **Equine Veterinary Journal**, v. 12, p. 312–317, 2000.

BARRIER-BATTUT, I. et al. Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. **Theriogenology**, v. 55, n. 8, p. 1679–1695, 2001.

BASHIR, S. T. et al. Changes in intrafollicular concentrations of free IGF-1, activin A, inhibin A, VEGF, estradiol, and prolactin before ovulation in mares. **Theriogenology**, v. 85, n. 8, p. 1491-1498, 2016.

BENTON, J. et al. Induction of Ovulation and LH Response in Cyclic Mares Treated with Gonadorelin Diacetate Tetrahydrate. **Animal Industry Report**, v. 656, n. 1, p. 56, 2010.

BERGFELT, D. R.; GASTAL, E. L.; GINTHER, O. J. Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. **Biology of reproduction**, v. 65, n. 2, p. 426-432, 2001.

BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Relationships between FSH surges and follicular waves during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v. 39, n. 4, p. 781-796, 1993.

BERISHA, B.; SINOWATZ, F.; SCHAMS, D. Expression and localization of fibroblast growth factor (FGF) family members during the final growth of bovine ovarian follicles. **Molecular reproduction and development**, v. 67, n. 2, p. 162-171, 2004.

BOAKARI, Y. L. et al. Influence of two ovulation-inducing agents on the pituitary response and follicle blood flow in mares. **Theriogenology**, v. 100, p. 95–99, 2017.

BOTT, R. M. et al. Induction of ovulation in the mare with the synthetic GnRH analogue Leuprolide. **Equine practice (USA)**, 1996.

BURDEN, C. A.; MCCUE, P. M.; FERRIS, R. A. Effect of Cloprostenol Administration on Interval to Subsequent Ovulation and Anovulatory Follicle Formation in Quarter Horse Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 6, p. 531–535, 2014.

BURDEN, C. A.; MCCUE, P. M.; FERRIS, R. A. Effect of cloprostenol administration on interval to subsequent ovulation and anovulatory follicle formation in Quarter horse mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 6, p. 531-535, 2015.

CAMPBELL, M. It's all in the timing: ovulation induction in the mare. **The Veterinary record**, v. 170, n. 21, p. 538-9, 2012.

CHRISTENSEN, N.; BYGDEMAN, M. chemistry and pharmacology of prostaglandins , with reference to human reproduction. v. 2, 1981.

CLARK, M. R. et al. Prostaglandins in ovulation. **Annales de biologie animale, biochimie, biophysique**, v. 18, p. 427-434, 1978.

COFFMAN, E. A.; PINTO, C. R. A Review on the Use of Prostaglandin F2 alfa for Controlling the Estrous Cycle in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 40, p. 34-40, 2016.

CUERVO-ARANGO, J. The effect of systemic administration of cloprostenol on ovulation in mares treated with a prostaglandin synthetase inhibitor. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 1, p. 32-38, 2012.

CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J. R. Relationship Between Dose of Cloprostenol and Age of Corpus Luteum on the Luteolytic Response of Early Dioestrous Mares: A Field Study. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 4, p. 660-665, 2012.

CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J. R. Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. **Theriogenology**, v. 69, n. 6, p. 681-687, 2008.

CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J. R. Risk factors for the development of haemorrhagic anovulatory follicles in the mare. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 3, p. 473-480, 2010.

DONADEU, F. X.; GINTHER, O. J. Effect of number and diameter of follicles on plasma concentrations of inhibin and FSH in mares. **Reproduction**, v. 121, n. 6, p. 897-903, 2001.

EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products). 2004a. Dinoprost tromethamine summary report. Accessed Nov. 2015. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500013902.pdf.

EMA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products). 2004b. Cloprostenol and R-cloprostenol summary report. Accessed Nov. 2015. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500012621.pdf.

ESPEY, L. L. A review of factors that could influence membrane potentials of ovarian follicular cells during mammalian ovulation. **Acta endocrinologica**, v. 126, n. 4 Suppl, p. NP-S31, 1992.

ESTERMAN, R. D. et al. Cloprostenol sodium and dinoprost tromethamine result in similar artificial insemination pregnancy rates in *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *Bos indicus* × *Bos taurus* cattle synchronized with a Select Synch and CIDR plus timed–artificial insemination protocol. **The Professional Animal Scientist**, v. 32, n. 5, p. 636–646, 2016.

FARIA, D. R.; GRADELA, A. Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 2, p. 114-22, 2010.

FIELD, S. L. et al. Cytokines in ovarian folliculogenesis, oocyte maturation and luteinisation. **Molecular reproduction and Development**, v. 81, n. 4, p. 284-314, 2014.

FITZGERALD, B. P.; MCMANUS, C. J. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. **Biology of Reproduction**, v. 63, n. 1, p. 335-340, 2000.

FORTUNE, J. E. The early stages of follicular development: Activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3–4, p. 135–163, 2003.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 109–126, 2004.

GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; GINTHER, O. J. Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. **Reproduction**, v. 131, n. 4, p. 699-709, 2006a.

GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; GINTHER, O. J. Serrated granulosa and other discrete ultrasound indicators of impending ovulation in mares. **Journal of equine veterinary science**, v. 26, n. 2, p. 67-73, 2006b.

GASTAL, E.L. Selection of the dominant follicle in mares: role of follicle – diameter differences, gonadotropins, and estradiol. 1999. 258f. **Thesis (PhD) - University of Wisconsin**, Madison, WI, 1999.

GAYTÁN, F. et al. Prostaglandin E(1) inhibits abnormal follicle rupture and restores ovulation in indomethacin-treated rats. **Biology of reproduction**, v. 67, p. 1140–1147, 2002.

GAYTÁN, F. et al. Prostaglandin E1 inhibits abnormal follicle rupture and restores ovulation in indomethacin-treated rats. **Biology of reproduction**, v. 67, n. 4, p. 1140-1147, 2002.

GINTHER, O. J. et al. Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. **Theriogenology**, v. 69, n. 5, p. 583–590, 2008.

GINTHER, O. J. et al. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal reproduction science**, v. 78, n. 3, p. 239-257, 2003.

GINTHER, O. J. et al. Treatment with human chorionic gonadotropin (hCG) for ovulation induction is associated with an immediate 17 β -estradiol decrease and a more rapid LH increase in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 114, n. 1–3, p. 311–317, 2009.

GINTHER, O. J. Follicle Selection in Mares: 90 Years from Observation to Theory. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 54, p. 24-31, 2017.

GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O. J., GASTAL, E. L., GASTAL, M. O., Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Anim Reprod**, v. 1, n. 1, p. 31-44, 2004.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R. Associations between FSH concentrations and major and minor follicular waves in pregnant mares. **Theriogenology**, v. 38, n. 5, p. 807-821, 1992.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R. Ultrasonic characterization of follicular waves in mares without maintaining identity of individual follicles. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 12, n. 6, p. 349-354, 1992.

GINTHER, O. J.; FIRST, N. L. Maintenance of the corpus luteum in hysterectomized mares. **Amer J Vet Res**, 1971.

GINTHER, O. J.; HANNAN, M. A.; BEG, M. A. Luteolysis and associated interrelationships among circulating PGF₂ α , progesterone, LH, and estradiol in mares. **Domestic animal endocrinology**, v. 41, n. 4, p. 174-184, 2011.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, n. 1, p. 223-230, 1989.

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. **Journal of equine veterinary science**, v. 9, n. 1, p. 4-12, 1989.

GOMES, R. G. et al. Effect of Deslorelin and/or Human Chorionic Gonadotropin on Inducing Ovulation in Mares During the Transition Period Versus Ovulatory Season. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 9, p. 1140–1142, 2014.

GRAZUL-BILSKA, A. T. et al. Expression of endothelial nitric oxide synthase in the ovine ovary throughout the estrous cycle. **Reproduction**, v. 132, n. 4, p. 579–587, 2006.

GRÉEN, K.; CHRISTENSEN, N.; BYGDEMAN, M. The chemistry and pharmacology of prostaglandins, with reference to human reproduction. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, n. 1, p. 269-281, 1981.

HARRIS, S. G. et al. Prostaglandins as modulators of immunity. v. 23, n. 3, p. 144–150, 2002.

HARRISON, L. A.; SQUIRES, E. L.; MCKINNON, A. O. Comparison of HCG, buserelin and luprostitol for induction of ovulation in cycling mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 11, n. 3, p. 163–166, 1991.

HINRICHS, K. Ultrasonographic assessment of ovarian abnormalities. In: **Proceedings of the annual convention of the American Association of Equine Practitioners (USA)**. 1990.

HSIEH, M. et al. Luteinizing hormone-dependent activation of the epidermal growth factor network is essential for ovulation. **Molecular and cellular biology**, v. 27, n. 5, p. 1914-1924, 2007.

JOHNSON, A. L. Intracellular mechanisms regulating cell survival in ovarian follicles. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3–4, p. 185–201, 2003.

KHAN, F. A.; SCHOLTZ, E. L.; CHENIER, T. S. The nitric oxide system in equine reproduction: current status and future directions. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 6, p. 481-487, 2015.

KIENER, M. Mecanismos y Mediadores Químicos Involucrados en la Ovulación en Animales Domésticos. **FAVE Sección Ciencias Veterinarias**, v. 9, n. 1, p. 39-48, 2010.

KINDAHL, H. et al. The release of prostaglandin F_{2α} as reflected by 15-keto-13, 14-dihydroprostaglandin F_{2α} in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers. **Prostaglandins**, v. 11, n. 5, p. 871-878, 1976.

KINO, S. et al. Effect of Postbreeding Intramuscular Administration of Deslorelin Acetate on Plasma LH and Progesterone Concentrations and Conception Rate in Mares. **J. Equine Sci.**, v. 25, n. 1, p. 23–27, 2014.

KUHL, J.; AURICH, J.; AURICH, C. Effects of the prostaglandin F_{2α} analogues cloprostenol and luprostirol in combination with hCG on synchronisation of oestrus and ovulation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, 2017.

LEMES, K. M. et al. Follicular dynamics, ovarian vascularity and luteal development in mares with early or late postpartum ovulation. **Theriogenology**, v. 96, p. 23–30, 2017.

LOSINNO L, UROSEVIC IM. Equine embryo transfer . Technical and practical considerations for application on horse production programs. Proceedings...19th **International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction (ICBAR)**. Novi Sad, Serbia, p.23-30, 2015.

MARCHIORI, M. O. et al. Efficiency of Fertigen®(fertirelin acetate) in the induction of ovulation in mares. **A Hora Veterinária**, v. 29, n. 169, p. 13-15, 2009.

MARTÍNEZ-BOVÍ, R.; CUERVO-ARANGO, J. Intrafollicular treatment with prostaglandins PGE₂ and PGF_{2α} inhibits the formation of luteinised unruptured follicles and restores normal ovulation in mares treated with flunixin-meglumine. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, n. 2, p. 211–217, 2016.

MCCUE, P. M. et al. Efficacy of hCG at inducing ovulation: a new look at an old issue. In: **Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine**

Practitioners, Denver, Colorado, USA, 4-8 December, 2004. American Association of Equine Practitioners (AAEP), p. 510-513, 2004.

MCCUE, P. M. Hormone Therapy in Clinical Equine Practice. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 32, n. 3, p. 425–434, 2016.

MCCUE, P. M. Reproductive Evaluation of the Mare. **Equine Reproductive Procedures**, 2014.

MCCUE, P. M.; MAGEE, C.; GEE, E. K. Comparison of Compounded Deslorelin and hCG for Induction of Ovulation in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, n. 2, p. 58–61, 2007.

MELO, C. M. et al. Eficiência do acetato de deslorelina e do extrato de pituitária equina na indução da ovulação em éguas. **Veterinária e Zootecnia**, p. 392-398, 2012.

MIYAMOTO, A. et al. Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. **Anim Reprod**, v. 6, p. 47-59, 2009.

MOREL, M. C. G. D.; NEWCOMBE, J. R. The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. **Animal reproduction science**, v. 109, n. 1, p. 189-199, 2008.

NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 245-262, 2000.

NEELY, D. P. Reproductive endocrinology and fertility in the mare. **Equine reproduction**. Nutley, NJ: p.50-52. 1983.

NETT, T. M.; PICKETT, B. W.; SQUIRES, E. L. Effects of equimate (ICI-81008) on levels of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and progesterone during the estrous cycle of the mare. **Journal of animal science**, v. 48, n. 1, p. 69-75, 1979.

NEWCOMBE, J. R.; PACCAMONTI, D.; CUERVO-ARANGO, J. Reducing the examination interval to detect ovulation below 12h does not improve pregnancy rates after postovulatory insemination with frozen/thawed semen in mares. **Animal reproduction science**, v. 123, n. 1, p. 60-63, 2011.

- PADULA, A. M. GnRH analogues - Agonists and antagonists. **Animal Reproduction Science**, v. 88, n. 1–2 SPEC. ISS., p. 115–126, 2005.
- RAWLINGS, N. C. et al. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. **Animal reproduction science**, v. 78, n. 3, p. 259-270, 2003.
- ROBKER, R. L. et al. Ovulation: A multi-gene, multi-step process. **Steroids**, v. 65, n. 10–11, p. 559–570, 2000.
- ROMANO, M. A.; MUCCIOLO, R. G.; SILVA, A. E. D. F. Reproductive biology of the mare: oestrous cycle and ovulation time. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 00-00, 1998.
- SAMPER, J. C. et al. Timing of induction of ovulation in mares treated with ovuplant or chorulon. **Journal of equine veterinary science**, v. 22, n. 7, p. 320-323, 2002.
- SAMPER, J. C. Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 445–447, 2008.
- SATUÉ, K.; GARDÓN, J. C. A review of the estrous cycle and the neuroendocrine mechanisms in the mare. **J Steroids Horm Sci**, v. 4, n. 2, p. 115, 2013.
- SAVAGE, N. C.; LIPTRAP, R. M. Induction of ovulation in cyclic mares by administration of a synthetic prostaglandin, fenprostalene, during oestrus. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 35, p. 239-243, 1986.
- SCHAUER, S. N. et al. Effect of luteinizing hormone overstimulation on equine follicle maturation. **Theriogenology**, v. 79, n. 3, p. 409–416, 2013.
- SCHNEIDER, F.; TOMEK, W.; GRÜNDKER, C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: a review. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 691-709, 2006.
- SHAO, R.. et al. Inhibition of Small Ubiquitin-Related Modifier-1 Expression by Luteinizing Hormone Receptor Stimulation is Linked to Induction of Progesterone Receptor during Ovulation in Mouse Granulosa Cells. **Endocrinology**, v. 145, n. 1, p. 384–392, 2004.
- SOUZA, F. A. et al. Dinâmica folicular ovariana na égua. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 13, n. 1/2/3, p. 17-23, 2010.

- SQUIRES, E. L. Hormonal Manipulation of the Mare: A Review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 11, p. 627–634, 2008.
- SUGINO, H. et al. Structural studies on equine glycoprotein hormones. Amino acid sequence of equine chorionic gonadotropin beta-subunit. **Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 18, p. 8603-8609, 1987.
- VOGE, J. L. et al. Effect of insulin-like growth factors (IGF), FSH, and leptin on IGF-binding-protein mRNA expression in bovine granulosa and theca cells: Quantitative detection by real-time PCR. **Peptides**, v. 25, n. 12, p. 2195–2203, 2004.
- VOSS, J. L. McKINNOW, A. O., VOSS, J. L. Breeding efficiency. **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- WATSON, E. D.; HINRICHS, K. Changes in the concentrations of steroids and prostaglandin F in preovulatory follicles of the mare after administration of hCG. **Journal of reproduction and fertility**, v. 84, n. 2, p. 557–61, 1988.
- WILSON, C. G. et al. Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 10, n. 4, p. 301–308, 1990.
- WITHERSPOON, D. M. et al. Efficacy of a prostaglandin analogue in reproduction in the cycling mare. **Theriogenology**, v. 3, n. 1, p. 21-30, 1975.
- YOON, Min-Jung. The estrous cycle and induction of ovulation in mares. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 54, n. 3, p. 165-174, 2012.
- YOSHIMURA, Y. et al. The effects of bradykinin on ovulation and prostaglandin production by the perfused rabbit ovary. **Endocrinology**, v. 122, n. 6, p. 2540-2546, 1988.

CAPÍTULO I

Artigo 1 Comparação da eficiência de dinoprost trometamina e acetato de deslorelina como indutores ovulatórios em éguas

Este artigo foi redigido segundo as normas para submissão na revista *ANIMAL
REPRODUCTION* (ISSN: 1984-3143)

1 **Comparação da eficiência de dinoprost trometamina e acetato de Deslorelina e**
2 **suas associações como indutores ovulatórios em éguas**

3 Marcelo Siqueira El Azzi¹, José Camisão de Souza¹

4 ¹ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais –
5 Brasil

6 Rua Geraldo Pereira da Silva, 210, Bairro Jardim Campestre 2, Lavras, Minas Gerais,
7 Brasil, Cep 37200-000. Telefone: +55 35 991745672. E-mail:

8 marceloelazzi@gmail.com

9 Tipo de artigo: Pesquisa aplicada.

10 **ii. Resumo**

11 O objetivo foi determinar a eficiência do dinoprost trometamina (DT; Lutalyse[®], Pfizer,
12 EUA) e sua associação com o análogo sintético da GnRH, o acetato de deslorelina
13 (AD; Sincrorrelin[®], Ouro Fino, Brasil) na indução da ovulação de éguas cíclicas e na
14 melhora da taxa de gestação. Éguas Mangalarga (n = 30), com idade entre 4 - 15 anos e
15 escore de condição corporal 5 - 6 foram examinadas diariamente através de
16 ultrassonografia transretal. Edema 2, cérvix aberto e diâmetro folicular de pelo menos 35
17 mm foram condições mínimas de inclusão da égua neste estudo. Ciclos estrais (n = 52)
18 foram distribuídas em um dos cinco tratamentos: tratamento 1 (n = 17) 7,5 mg de DT; 2
19 (n = 10), 1,0 mg de AD (controle positivo); tratamento 3 (n = 4), 0,5 mg de AD (controle
20 negativo); tratamento 4 (n = 7), 1,0 mg de AD + 7,5 mg de DT e tratamento 5 (n = 14),
21 0,5 mg de AD + 7,5 mg DT. Os animais foram examinados a cada 6 horas - o diâmetro
22 do folículo dominante e o edema endometrial foram registrados até o diagnóstico da
23 ovulação e a gestação registrada aos 12 dias pós-ovulação. O número de tratamentos (52)
24 e de diagnósticos gestacionais (52) foram analisados por SAS[®] (Cary - NC, EUA). Os
25 dados da gestação foram submetidos à análise do chi-quadrado utilizando o procedimento
26 GENMOD com a opção binomial. As taxas de ovulação (%) foram 62,5, 90, 75, 100 e
27 92,31 para os tratamentos. 1-5, respectivamente diferindo entre o tratamento 1 dos
28 demais, sendo considerados significativos os efeitos do tratamento, período transicional,
29 edema pré-ovulatório e classe dominante, quando $p < 0,05$. O tempo médio entre indução
30 e ovulação foi de $54,52 \pm 5,19$ h (17- 184 h). O diâmetro do folículo pré-ovulatório médio
31 ($39,71 \pm 0,23$ mm e mediana 39,7 mm) e não diferiu entre os tratamentos. Não houve
32 efeito do tratamento ($p = 0,67$) e período de transição ($p = 0,81$) na taxa de gestação. As
33 taxas de gestação não foram afetadas pelo edema no momento da indução ($p = 0,66$),
34 classe de diâmetro do folículo pré-ovulatório ($p = 0,96$) e edema pré-ovulatório ($p = 0,45$).
35 As taxas de ovulação similares, obtidas neste estudo, confirmam a hipótese de que as
36 associações entre os análogos da prostaglandina e GnRH podem sustentar o mecanismo
37 ovulatório comparado ao uso individual do último. Esse efeito complementar pode
38 reduzir o custo dos protocolos de sincronização atualmente utilizados, que dependem
39 exclusivamente dos análogos de GnRH, de custo elevado. Os resultados corroboram o
40 papel ativo das prostaglandinas no mecanismo de ovulação.

41 Palavras-chave: análogos da GnRH, ovulação, equinos, prostaglandina, folículo
42 ovulatório.

43 **iii. Introdução**

44 A indução hormonal é uma importante ferramenta usada em programas de
45 reprodução assistida equina, permitindo a diminuição do número de vezes que éguas são
46 cobertas, redução de custos e desgaste de reprodutores e matrizes com manejos

47 adicionais. Com destaque no aumento do período de ciclicidade da égua e diminuição dos
48 ciclos estrais, levando à maior eficiência reprodutiva, número de embriões recuperados e
49 de prenhez (Faria e Gradela, 2010). Esses tratamentos farmacológicos, juntamente com
50 métodos de diagnósticos (Allen e Wilsher, 2018) e predição de parto (Ewert et. al., 2018),
51 são ferramentas importantes para a eficácia e economia desses programas.

52 A gonadotrofina coriônica humana (hCG) é uma glicoproteína que se comporta
53 de forma semelhante ao hormônio luteinizante (LH) na espécie equina (Wilson et. al.,
54 1990), sendo o medicamento mais utilizado em programas de indução de ovulações e
55 redução de duração do estro em éguas (McCue et. al., 2004; Kuh et. al., 2017). Seu
56 sucesso é relatado em programas de estação reprodutiva com taxas de ovulação variando
57 entre 70 a 100% (Barbacini et. al., 2000; Awan et. al., 2016) e tempo de resposta entre 24
58 e 48 horas (Samper et. al., 2002; Phetudomsinsuk, 2017), porém com eficácia reduzida
59 quando aplicada em repetidas vezes no mesmo animal, pela formação de anticorpos
60 (Wilson et. al., 1990; Barbacini et. al., 2000).

61 Outros indutores ovulatórios vem sendo criados a fim de fornecer opções de
62 utilização em diferentes situações e programas de reprodução assistida equina e com isso,
63 novos questionamentos quando às atribuições das prostaglandinas, não somente como
64 potente indutor luteolítico (Allen e Cooper, 1975; Kindahl, 1976; Neely, 1979) mas
65 também em outras funções no ciclo reprodutivo em éguas, vem sendo levantados. Estas
66 são parte essencial da ovulação (Robker et. al., 2000), porém questiona-se a atribuição de
67 análogos de $PGF2_{\alpha}$ como indutor ovulatório pela não indução à liberação de LH e FSH
68 suficientes para estimulação da ovulação na espécie equina (Harrison et. al., 1991).

69 O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), leva à ovulação de éguas em
70 estágio reprodutivo por meio da liberação de LH endógeno (Barrier-Battut et. al., 2001)
71 e sua utilização se dá na forma de análogo, Acetato de Deslorelina, sendo um peptídeo
72 sintético e um dos fármacos mais utilizados na reprodução equina. O Acetato de
73 Deslorelina estimula a liberação de LH e FSH (Campbell, 2012), com resultado
74 ovulatório de aproximadamente 80% das éguas entre 24 e 48 horas após sua aplicação
75 (McCue et. al., 2007). A hCG, quando comparada ao Acetato de Deslorelina parece
76 funcionar melhor no início da temporada reprodutiva. Essa diferença pode estar
77 relacionada ao fato de que a hCG atua diretamente no ovário enquanto o Acetato de
78 Deslorelina estimula a hipófise anterior e com isso estimula maior liberação de LH
79 (Squires, 2008).

80 O objetivo nesse estudo foi determinar a eficiência reprodutiva da prostaglandina
81 $F2_{\alpha}$ associada ou não ao análogo sintético de GnRH, Acetato de Deslorelina, em induzir
82 a ovulação de éguas cíclicas e promover aumento na melhoria da taxa gestacional destas.

83 **iv. Materiais e Métodos**

84 Este estudo foi realizado respeitando-se os princípios éticos da experimentação
85 animal (Lei 11.794/2008) e a Declaração Universal dos Direitos dos Animais da
86 UNESCO (Organização das Nações Unidas para Educação, a Ciência e a Cultura). Além
87 disso, o presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)
88 da Universidade Federal de Lavras (Protocolo número 058/17).

89 Um total de 30 éguas reprodutoras Mangalarga, idade entre 4 e 15 anos, com
90 escore de condição corporal de 5 e 6 (escala de 1 a 9) (Henneke et. al., 1983) e peso de

91 420-500 Kg, foram examinadas para comprovação da higidez, e posteriormente
92 submetidas ao delineamento experimental.

93 As éguas se encontravam em uma latitude 21° 14' 43 sul e a uma longitude 44°
94 59' 59 oeste em uma mesma fazenda. Em relação aos períodos na estação de monta, foram
95 considerados para efeitos de análises os seguintes períodos, 1- transição inicial- início de
96 setembro a final de outubro de 2017; 2- estação reprodutiva- início de novembro de 2017
97 a final de fevereiro de 2018 e 3- transição final- início de março a final de abril de 2018.
98 Os períodos estacionais foram definidos de acordo com dados climáticos adquiridos junto
99 ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, Brasil): temperatura máxima entre
100 indução e ovulação; temperatura mínima entre indução e ovulação; precipitação chuvosa
101 em milímetros cúbicos entre indução e ovulação; tempo (horas) de insolação entre
102 indução e ovulação.

103 Os animais foram examinados diariamente via ultrassonográfica (Aloka, SSD
104 500, transdutor linear 5.0Mhz), até características indutoras presentes de edema uterino 2
105 (escala de 0 a 3; Ginther e Bergfelt, 1992), cérvix aberta e diâmetro folicular mínimo de
106 35 mm (Ginther e Pierson, 1989). Para fim de exemplificação de parâmetros indutores e
107 ovulatórios, foram salvas imagens ultrassonográficas de diferentes estádios uterinos e
108 foliculares (Mindray DP-20, transdutor linear 5.0Mhz). Em desenho experimental
109 *change-over* os animais foram designados aleatoriamente para tratamentos de indução da
110 ovulação a cada ciclo estral (tab. 1).

111 Os hormônios utilizados foram: Acetato de Deslorelina (Sincrorrelin[®], Ouro Fino,
112 Brasil) e Dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Pfizer, EUA). No tratamento 1 (n = 17
113 estros) os animais receberam 1,0mg de Acetato de Deslorelina, no tratamento 2 (n= 10

114 estros), 7,5 mg de Dinoprote trometamina (controle positivo), no tratamento 3 (n= 4
115 estros) 0,5mg de Acetato de Deslorelina (controle negativo), no tratamento 4 (n= 7
116 estros), 1,0mg de Acetato de Deslorelina + 7,5 mg de Dinoprote trometamina e no
117 tratamento 5 (n= 14 estros), 0,5mg de Acetato de Deslorelina + 7,5 mg de Dinoprote
118 trometamina. Todos os tratamentos foram administrados via intramuscular profunda.

119 A primeira hora dos tratamentos hormonais foram consideradas H0 e primeiro dia
120 D0 e os animais foram examinados via ultrassonografia transretal a cada 6 horas, com o
121 registro das imagens, até a detecção da ovulação e posteriormente a partir de 12 dias de
122 cobertura para confirmação gestacional. Os animais foram encaminhados para cobertura
123 direcionada com garanhão testado quando observadas características de ovulação
124 eminente (Gastal et. al., 2006a; Gastal et. al., 2006b). Os animais que não foram
125 diagnosticados como gestantes foram designados aleatoriamente para um dos cinco
126 tratamentos, de formas que, um mesmo animal poderia receber o mesmo tratamento em
127 ciclos estrais distintos.

128 As seguintes variáveis foram avaliadas em cada ciclo estral: ocorrência de
129 ovulação (até 72 horas após a indução; Harrison et. al. 1991; Samper, 2008), intervalo
130 (horas) da indução ovulatória até a ovulação; diâmetro do maior folículo no momento da
131 indução; diâmetros do crescimento folicular a cada 6 horas a partir da indução ovulatória;
132 diâmetro do folículo pré-ovulatório, que foi classificado como folículos dominantes:
133 classe 1- <38mm; classe 2- 38-40mm e classe 3- > 40mm; escore de edema endometrial
134 no momento da indução ovulatória, dicotomizados em duas classes: 1 e 2, sendo edemas
135 0-1 e 2-3, respectivamente; escore de edema endometrial no momento da última avaliação
136 do folículo pré-ovulatório; ocorrência de ovulação até 48h após a indução; gestação entre
137 os dias 12-18 (sim/não) e ocorrência de anomalias de desenvolvimento folicular, tais

138 como, folículo hemorrágico anovulatório, cistos ovarianos e endometriais. O método de
139 mensuração dos folículos e estimação do escore de edema endometrial no momento da
140 indução hormonal estão apresentados na figura 1.

141 Os dados de intervalo ovulatório foram submetidos ao teste de normalidade de
142 Kolmogorov-Smirnov do procedimento UNIVARIATE (SAS[®], Cary - NC, USA) e
143 constatados como distribuição anormal tendo sido transformados em Log e quando
144 constatada a normalidade foram submetidos a análise de variância, via procedimento
145 GLM (SAS[®]). Os dados de gestação foram submetidos a análise de chi-quadrado via
146 procedimento GENMOD (SAS[®]) com a opções de distribuição binomial e *p*scale. Os
147 efeitos de tratamento, período, edemas inicial e final (pré-ovulação) e classe de folículo
148 dominante (segundo o diâmetro) foram considerados significativos se $p < 0,05$. Os dados
149 de diâmetro do folículo dominante foram analisados descritivamente pelo procedimento
150 UNIVARIATE.

151 **v. Resultados**

152 A taxa de ovulação foi de 62.5% no tratamento 1, 90% no tratamento 2, 75% no
153 tratamento 3, 100% no tratamento 4 e 92.31% o tratamento 5, havendo diferença entre o
154 tratamento 1 e 4 e 1 e 5 ($p < 0.05$) e não havendo diferença entre tratamento 2-5 ($p > 0.05$).
155 O maior tempo de crescimento folicular, a partir da indução com edema endometrial igual
156 a 2, foi de 184 horas (Trat. 1), correspondendo a 7 dias, com medida folicular indutora de
157 42,5mm. O menor tempo observado entre indução e ovulação foi de 17 horas (Trat. 1),
158 dia 1 de indução, com diâmetro folicular de 33,5mm e edema endometrial 1. O tempo
159 médio em horas entre indução e ovulação de todos os tratamentos foi de $54,52 \pm 5,19$
160 (média \pm e.p.m) e tempo mediano de 44,00 ($p < 0.0001$), enquanto a média em milímetros

161 dos folículos pré-ovulatórios, denominados folículos dominantes foi de $39,71 \pm 0,23$
162 (média \pm e.p.m) e diâmetro mediano de 39,70 ($p < 0.0001$). Não foram observadas
163 anomalias de desenvolvimento folicular e uterinas.

164 Não houve efeito ($p=0,67$) dos tratamentos sobre a taxa de gestação (Tabela 2).
165 Não houve efeito ($p = 0.81$) do período reprodutivo sobre a gestação (Tabela 3). Da
166 mesma forma, as taxas de gestação não diferiram entre as classes de edema no momento
167 da indução hormonal ($p = 0.66$; Tabela 4), classes de diâmetro do folículo pré-ovulatório
168 ($p = 0.96$; Tabela 5) e classes de edema no momento pré-ovulatório ($p = 0.45$; Tabela 6).

169 **vi. Discussão**

170 Esse trabalho foi o primeiro a utilizar Dinoprote trometamina em associação com
171 um análogo de GnRH como indutor ovulatório em éguas cíclicas em período reprodutivo.

172 As taxas de ovulação após indução com acetato de deslorelina do presente trabalho
173 foram consistentes com aquelas dos demais trabalhos na literatura (Gomes et. al., 2014;
174 Burden et. al., 2015). O tempo médio de ovulação após indução com 1,0 mg de acetato
175 de deslorrelina e sua associação, de mesma dosagem, com 7,5 mg de dinoprote
176 trometamina, está de acordo com outros trabalhos, onde houve resposta à dosagem
177 utilizada normalmente (1,0 mg/animal) de Acetato de Deslorelina em aproximadamente
178 48 horas após indução (McCue et al., 2007; Melo et al., 2012; Azevedo et al., 2015;
179 Boakari et. al., 2017). No tratamento 3, onde se utilizou 0,5 mg de Acetato de Deslorelina,
180 abaixo da dosagem indicada para desencadear ruptura folicular, o tempo médio de
181 resposta foi o mesmo dos demais tratamentos. Agonistas de GnRH, reagem com potencial
182 ovulatórios quando utilizados em dosagem de 0,5 mg por animal, diminuindo tempo de
183 ciclicidade das éguas (Lindholm et al., 2010), porém, De Almeida Silva et. al. (2016), ao

184 comparar Acetato de Deslorelina a 0,75 mg com diferentes indutores, obteve tempo de
185 ovulação superior ao tratamento com doses elevadas desse agonista, diferente do presente
186 estudo.

187 Estudos demonstram que quando utilizado prostaglandinas como indutores
188 ovulatórios, as respostas condizem com demais tratamentos estimuladores da ovulação
189 (Andrade et. al., 2017), da mesma forma, quando estudado os mecanismos da ovulação
190 (Hourvitz et. al., 2018) a ausência de transportadores para as prostaglandinas inibem a
191 ovulação. Os tempos médios das ovulações dos tratamentos 4 e 5 (1,0 mg de Acetato de
192 Deslorelina + 7,5 mg de Dinoprost trometamina; 0,5 mg de Acetato de Deslorelina + 7,5
193 mg de Dinoprost trometamina) não diferiram dos tempos de ovulação da deslorelina
194 isoladamente. Segundo Cuervo-Arango e Martínez-Boví (2016), as prostaglandinas são
195 dependentes do processo desencadeado pelas gonadotrofinas, principalmente o LH, para
196 ação ovulatória. Dessa forma, seria de se esperar que os tratamentos 4 e 5 tivessem ação
197 ovulatória no tempo esperado de 48 horas ou menos, devido a aplicação precoce de
198 Acetato de Deslorelina, indutor da liberação das gonadotrofinas. Essa associação,
199 portanto, parece desacoplar essa dependência da ação sobre o LH.

200 O crescimento final do folículo pré-ovulatório e sua circunferência são
201 considerados preditores da taxa gestacional, porém não de taxas ovulatória, em induções
202 hormonais. No momento da ovulação induzida por Acetato de Deslorelina, as
203 concentrações plasmáticas de LH se encontram elevadas, característica presente logo
204 após aplicação hormonal e que se prolonga até a ovulação, (Boakari et. al., 2017). A
205 concentração elevada de LH normalmente ocorre de 1 a 2 dias antes do desvio folicular
206 do futuro folículo dominante (Ginther, 2017^a) e suas concentrações estão relacionadas
207 diretamente com o desvio e crescimento folicular e maturação oocitária (Bashir et. al.,

208 2016). Não houve diferença nos diâmetros das classes dos folículos ovulatórios e taxas
209 ovulatórias e gestacionais e suas médias são similares à literatura (Elmetwally et al., 2017;
210 Ishak et. al., 2017; Tazawa et. al., 2017), não sendo o crescimento final do folículo pré-
211 ovulatório um parâmetro de êxito na ovulação ou taxa gestacional no presente estudo.

212 As taxas de gestação desse trabalho foram superiores do que as relatadas por De
213 Leal Fonseca et. al., (2016), onde os autores apresentam um estudo retrospectivo de éguas
214 submetidas à indução hormonal com diferentes tratamentos. As taxas de ovulação foram
215 respectivamente: Controle– 54,71%; 100 UI de hCG– 59,3%; 5,0mg de Dinoprote
216 trometamina– 49,55% e Dinoprote trometamina+hCG– 59,41%. O dinoprote
217 trometamina foi utilizado somente para indução do ciclo no dia 7 do diestro, o que
218 justifica, segundo os pesquisadores a formação de folículos hemorrágicos anovulatórios,
219 como descrito em outros trabalhos (Cuervo-Arango e Newcombe, 2009). Porém, no
220 presente estudo, não houve a formação dessa patologia, o que pode ser devido ao tempo
221 de aplicação e dosagem utilizada, já que a aplicação desse agonista de PGF 2α foi feita na
222 presença de características ovulatórias.

223 As taxas de gestação nas classes de edema endometrial no momento da indução
224 foram similares. Seria esperado, que a gestação fosse menor na classes de edema 2, pois,
225 nesse momento já seria ideal que estivesse em queda. De acordo com a literatura (McCue,
226 2014), os folículos induzidos no presente estudo corresponderam ao decréscimo do escore
227 de edema endometrial em todos os tratamentos, o que é consistente com a indicação para
228 indução hormonal, de escore decaindo de 3 para 2, sendo mais indicado a indução
229 hormonal com edema endometrial 2, o que corresponde a diâmetros foliculares maiores
230 que 35 mm (Samper, 2008; Pinto et. al. 2017).

231 As prostaglandinas podem ser um fator potencializador da ação ovulatória, uma vez que
232 componentes determinísticos para que ela ocorra são encontrados em concentrações
233 elevadas no fluido folicular de folículos dominantes (Kiener, 2010; Ginther, 2017^b).
234 Sugere-se mais estudos sobre o mecanismos em diferentes associações hormonais
235 contendo prostaglandinas em éguas, pois estas além de estarem presentes nos mecanismos
236 ovulatórios (Acosta et al., 1999; Robker et al., 2000; Gaytan, 2002; Kiener, 2010; Yoon,
237 2012), estimulam fatores mediadores na produção de corticosterona (Hindawi et. al.,
238 1985; Kuhl et. al., 2016), precursor de concentrações elevadas de aldosterona no fluido
239 folicular de folículos em crescimento e folículos pré-ovulatórios, com possível função de
240 desenvolvimento e maturação de oócitos por ação no sistema renina-angiotensina
241 ovariana (Raposo-Costa e Reis, 2000; Sneeringer et. al., 2011; Satué et. al., 2013), o que
242 poderia explicar a elevada taxa gestacional mesmo em condições climáticas em diferentes
243 períodos estacionais, não somente dos tratamentos contendo apenas análogos de GnRH,
244 mas também com prostaglandina F2 α .

245 Os resultados do presente estudo sugerem que a associação desse hormônio com
246 Acetato de Deslorelina poderia exercer igual função ovulatória aos demais indutores
247 hormonais usualmente utilizados em programas de estação reprodutiva equina. Em
248 conclusão, as associações entre os análogos da prostaglandina e GnRH podem sustentar
249 o mecanismo ovulatório comparado ao uso individual do último. Esse efeito
250 complementar pode reduzir o custo dos protocolos de sincronização atualmente
251 utilizados, que dependem exclusivamente dos análogos de GnRH, de custo elevado. Além
252 do mais, resultados corroboram o papel ativo das prostaglandinas no mecanismo de
253 ovulação.

254 **vii. Referências**

- 255 **Acosta, T. J., Berisha, B., Ozawa, T., Sato, K., Schams, D., & Miyamoto, A.** 1999.
256 Evidence for a local endothelin-angiotensin-atrial natriuretic peptide system in bovine
257 mature follicles in vitro: effects on steroid hormones and prostaglandin secretion. *Biology*
258 *of Reproduction*, 61(6), 1419-1425.
- 259 **Allen, T. W., & Wilsher, S.** 2018. Half a century of equine reproduction research and
260 application: A veterinary tour de force. *Equine veterinary journal*.
- 261 **Allen, W. R., & Cooper, M. J.** 1975. The use of synthetic analogues of prostaglandins
262 for inducing luteolysis in mares. In *Annales de Biologie Animale Biochimie*
263 *Biophysique* (Vol. 15, No. 2, pp. 461-469). EDP Sciences.
- 264 **Andrade, J. D. S., Zuliani, J. P., Setubal, S. D. S., & Pfeifer, L. F. M.** 2017. Effect of
265 prostaglandin E2 dose on ovulation in prepubertal mice: a pilot study. *PUBVET*, 11(12),
266 1280-1284.
- 267 **Awan, F. S., Mehmood, M. U., Sattar, A., & Ahmad, N.** 2016. Comparative efficacy
268 of hCG or GnRH analogue (lecirelin acetate) on follicular dynamics, degree of
269 endometrial edema, sexual behavior, ovulation and pregnancy rate in crossbred
270 broodmares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 41, 71-72.
- 271 **Azevedo, M. V., Souza, N. M., Ferreira-Silva, J. C., Batista, I. O., Moura, M. T.,**
272 **Oliveira, M. A., & Lima, P. F.** 2015. Induction of multiple ovulations in mares using
273 low doses of GnRH agonist Deslorelin Acetate at 48 hours after
274 luteolysis. *Pferdeheilkunde*, 31, 160-164.

275 **Barbacini, S., Zavaglia, G., Gulden, P., Marchi, V., & Necchi, D.** 2000. Retrospective
276 study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen
277 semen. *Equine veterinary education*, 12(6), 312-317.

278 **Barrier-Battut, I., Le Poutre, N., Trocherie, E., Hecht, S., des Raux, A. G., Nicaise,**
279 **J. L., & Renault, A.** 2001. Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic
280 mare. *Theriogenology*, 55(8), 1679-1695.

281 **Bashir, S. T., Ishak, G. M., Gastal, M. O., Roser, J. F., & Gastal, E. L.** 2016. Changes
282 in intrafollicular concentrations of free IGF-1, activin A, inhibin A, VEGF, estradiol, and
283 prolactin before ovulation in mares. *Theriogenology*, 85(8), 1491-1498.

284 **Boakari, Y. L., Ferreira, J. C., Canesin, H. S., Thompson, D. L., Lima, F. S., Pantoja,**
285 **J. C. F., & Meira, C.** 2017. Influence of two ovulation-inducing agents on the pituitary
286 response and follicle blood flow in mares. *Theriogenology*, 100, 95-99.

287 **Burden, C. A., McCue, P. M., & Ferris, R. A.** 2015. Effect of cloprostenol
288 administration on interval to subsequent ovulation and anovulatory follicle formation in
289 Quarter horse mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(6), 531-535.

290 **Campbell, M.** 2012. It's all in the timing: ovulation induction in the mare.

291 **Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. R.** 2009. The effect of hormone treatments (hCG
292 and cloprostenol) and season on the incidence of hemorrhagic anovulatory follicles in the
293 mare: a field study. *Theriogenology*, 72(9), 1262-1267.

294 **Cuervo-Arango, J., & Martínez-Boví, R.** 2016. The role of PGE2 and PGF2 alpha in
295 follicle wall rupture and their implications in the development and treatment of luteinized
296 unruptured follicles. *PFERDEHEILKUNDE*, 32(1), 54-56.

297 **de Almeida Silva, P. C., Oliveira, J. P., Paiva, S. O., Caram, D. F., de Castro**
298 **Junqueira, R. G., Jacob, J. C. F., & Sá, M. A. F.** 2016. Comparison between two
299 ovulation-inducing drugs in mares. *Brazilian Journal of Veterinary*
300 *Medicine*, 38(a00101s1), 45-48.

301 **de Leal Fonseca, F. C. V., Jacob, J. C. F., Sá, M. A. F., Dutra, G. A., Guerson, Y. B.,**
302 **& de Jesus, V. L. T.** 2016. Effect of the use dinoprost tromethamine on pregnancy rate
303 in Mangalarga Marchador mares. *Brazilian Journal of Veterinary*
304 *Medicine*, 38(a00101s1), 164-168.

305 **Elmetwally, M. A., El-Adl, M. A. M., Marghani, B. H., Ali, H. E., El-Domany, W.**
306 **B., & Zaabel, S. M.** 2017. Preovulatory dominant follicular size and serum nitric oxide
307 can predicate the conception rate after foaling heat in straight Egyptian Arabian
308 mares. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 55(2), 154-161.

309 **Ewert, M., Lüders, I., Böröcz, J., Uphaus, H., Distl, O., & Sieme, H.** 2018.
310 Determinants of gestation length in Thoroughbred mares on German stud farms. *Animal*
311 *reproduction science*, 191, 22-33.

312 **Faria, D. R., & Gradela, A.** 2010. Hormonioterapia aplicada à ginecologia
313 equina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 34(2), 114-22.

314 **Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Ginther, O. J.** 2006a. Relationships of changes in B-
315 mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to
316 changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic
317 gonadotrophin in mares. *Reproduction*, 131(4), 699-709.

318 **Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Ginther, O. J.** 2006b. Serrated granulosa and other
319 discrete ultrasound indicators of impending ovulation in mares. *Journal of equine*
320 *veterinary science*, 26(2), 67-73.

321 **Gaytán, F., Tarradas, E., Bellido, C., Morales, C., & Sánchez-Criado, J. E.** 2002.
322 Prostaglandin E1 inhibits abnormal follicle rupture and restores ovulation in
323 indomethacin-treated rats. *Biology of reproduction*, 67(4), 1140-1147.

324 **Ginther, O. J.** 2017a. Follicle Selection in Mares: 90 Years from Observation to
325 Theory. *Journal of Equine Veterinary Science*, 54, 24-31.

326 **Ginther, O. J.** 2017b. Systemic and intrafollicular components of follicle selection in
327 mares. *Domestic animal endocrinology*, 59, 116-133.

328 **Ginther, O. J., & Bergfelt, D. R.** 1992. Ultrasonic characterization of follicular waves
329 in mares without maintaining identity of individual follicles. *Journal of Equine Veterinary*
330 *Science*, 12(6), 349-354.

331 **Gomes, R. G., Oliveira, R. L., de Castro Schutzer, C. G., Barreiros, T. R. R., &**
332 **Seneda, M. M.** 2014. Effect of deslorelin and/or human chorionic gonadotropin on
333 inducing ovulation in mares during the transition period versus ovulatory season. *Journal*
334 *of Equine Veterinary Science*, 34(9), 1140-1142.

335 **Harrison, L. A., Squires, E. L., & McKinnon, A. O.** 1991. Comparison of hCG,
336 buserelin and luproliol for induction of ovulation in cycling mares. *Journal of Equine*
337 *Veterinary Science*, 11(3), 163-166.

338 **Harrison, L. A., Squires, E. L., & McKinnon, A. O.** 1991. Comparison of hCG,
339 buserelin and luprostirol for induction of ovulation in cycling mares. *Journal of Equine*
340 *Veterinary Science*, 11(3), 163-166.

341 **Hindawi, R. K., Al-Dujaili, E. A., & Padfield, P. L.** 1985. The role of prostaglandins
342 in aldosterone and corticosterone secretion by isolated perfused rat zona glomerulosa
343 cells. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*, 20(2), 121-128.

344 **Hourvitz, A., Yung, Y., Markman, S., & Yerushalmi, G.** 2018. U.S. Patent Application
345 No. 15/538,569.

346 **Ishak, G. M., Bashir, S. T., Gastal, M. O., & Gastal, E. L.** 2017. Pre-ovulatory follicle
347 affects corpus luteum diameter, blood flow, and progesterone production in
348 mares. *Animal reproduction science*, 187, 1-12.

349 **Kiener, M.** 2010. Mecanismos y Mediadores Químicos Involucrados en la Ovulación en
350 Animales Domésticos. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 9(1), 39-48.

351 **Kindahl, H., Edqvist, L. E., Granström, E., & Bane, A.** 1976. The release of
352 prostaglandin F_{2α} as reflected by 15-keto-13, 14-dihydroprostaglandin F_{2α} in the
353 peripheral circulation during normal luteolysis in heifers. *Prostaglandins*, 11(5), 871-878.

354 **Kuhl, J., Nagel, C., Ille, N., Aurich, J. E., & Aurich, C.** 2016. The PGF_{2α} agonists
355 luprostirol and d-cloprostenol reliably induce luteolysis in luteal phase mares without
356 evoking clinical side effects or a stress response. *Animal reproduction science*, 168, 92-
357 99.

358 **Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L., & Yeates, B. F.** 1983. Relationship
359 between condition score, physical measurements and body fat percentage in
360 mares. *Equine veterinary journal*, 15(4), 371-372.

361 **Lindholm, A. R. G., Bloemen, E. H. G., Brooks, R. M., Ferris, R. A., & McCue, P.**
362 **M.** 2010. Comparison of deslorelin and buserelin in mares: LH response and induction of
363 ovulation. *Anim Reprod Sci*, 121, 68-70.

364 **McCue, P. M., Hudson, J. J., Bruemmer, J. E., & Squires, E. L.** 2004. Efficacy of
365 hCG at inducing ovulation: a new look at an old issue. In *Proceedings of the 50th Annual*
366 *Convention of the American Association of Equine Practitioners, Denver, Colorado,*
367 *USA, 4-8 December, 2004 (pp. 510-513). American Association of Equine Practitioners*
368 *(AAEP).*

369 **McCue, P. M., Magee, C., & Gee, E. K.** 2007. Comparison of compounded deslorelin
370 and hCG for induction of ovulation in mares. *Journal of equine veterinary science*, 27(2),
371 58-61.

372 **McCue, P. M.** 2014. Hormone Therapy in Cycling Mares. *Equine Reproductive*
373 *Procedures*, 149-154.

374 **Melo, C. M., Papa, F. O., Puoli Filho, J. N. P., Araujo, G. H. M., Dell'Aqua Junior,**
375 **J. A., & Alvarenga, M. A.** 2012. Eficiência do acetato de deslorelina e do extrato de
376 pituitária equina na indução da ovulação em éguas. *Veterinária e Zootecnia*, 392-398.

377 **Neely, D. P.** 1983. Reproductive endocrinology and fertility in the mare. *Equine*
378 *reproduction*, 12-22.

379 **Phetudomsinsuk, K.** 2017. Investigation into the effect of prostaglandin F2a, GnRH
380 analogue and hCG on induction of ovulation in mares. The Thai Journal of Veterinary
381 Medicine, 47(4), 493-499.

382 **Pinto, M. R., Miragaya, M. H., Burns, P., Douglas, R., & Neild, D. M.** 2017. Strategies
383 for increasing reproductive efficiency in a commercial embryo transfer program with high
384 performance donor mares under training. Journal of Equine Veterinary Science, 54, 93-
385 97.

386 **Raposo-Costa, A. P., & Reis, A. M.** 2000. O sistema renina-angiotensina em
387 ovário. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, 44(4), 306-313.

388 **Robker, R. L., Russell, D. L., Yoshioka, S., Sharma, S. C., Lydon, J. P., O'Malley,
389 B. W., & Richards, J. S.** 2000. Ovulation: a multi-gene, multi-step
390 process. Steroids, 65(10-11), 559-570.

391 **Samper, J. C., Jensen, S., Sergeant, J., & Estrada, A.** 2002. Timing of induction of
392 ovulation in mares treated with ovuplant or chorulon. Journal of equine veterinary
393 science, 22(7), 320-323.

394 **Samper, J. C.** 2008. Induction of estrus and ovulation: why some mares respond and
395 others do not. Theriogenology, 70(3), 445-447.

396 **Satué, K., Montesinos, P., & Gardon, J. C.** 2014. Association between aldosterone
397 and cortisol levels during the ovulatory period in spanish purebred mares. Reproduction,
398 Fertility and Development, 26(1), 146-146.

- 399 **Sneeringer, R., Penzias, A. S., Barrett, B., & Usheva, A.** 2011. High levels of
400 mineralocorticoids in preovulatory follicular fluid could contribute to oocyte
401 development. *Fertility and sterility*, 95(1), 182-187.
- 402 **Squires, E. L.** 2008. Hormonal manipulation of the mare: a review. *Journal of Equine*
403 *Veterinary Science*, 28(11), 627-634.
- 404 **Tazawa, S. P., Gastal, M. O., Silva, L. A., Evans, M. J., & Gastal, E. L.** 2017.
405 Preovulatory Follicle Dynamics, and Ovulatory and Endometrial Responses to Different
406 Doses of hCG and Prediction of Ovulation in Mares. *Journal of Equine Veterinary*
407 *Science*, 56, 40-51.
- 408 **Wilson, C. G., Downie, C. R., Hughes, J. P., & Roser, J. F.** 1990. Effects of repeated
409 hCG injections on reproductive efficiency in mares. *Journal of Equine Veterinary*
410 *Science*, 10(4), 301-308.
- 411 **Yoon, M. J.** 2012. The estrous cycle and induction of ovulation in mares. *Journal of*
412 *Animal Science and Technology*, 54(3), 165-174.

Tabela 1 – Taxa de ovulação (%) observada em diferentes ciclos estrais em até 72 horas após tratamentos hormonais ovulatórios em éguas Mangalarga.

Tratamento*	Nº de animais	Ciclos Estrais	Ovulação (%)
1	13	17	62.50 ^a
2	9	10	90.00 ^{ab}
3	4	4	75.00 ^{ab}
4	5	7	100.00 ^b
5	11	14	92.31 ^b
Total	42	52	81.63

Letras diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo teste chi-quadrado ($p < 0.05$).

Tabela 2 – Taxa de gestação (%) observada em diferentes tratamentos hormonais ovulatórios em éguas Mangalarga.

Resultado		Tratamento*					Total
		1	2	3	4	5	
Gestante	Ciclos Estrais	13	9	3	4	9	38
	Taxa de Gestação (%)	25.00	17.31	5.77	7.69	17.31	73.08
Não Gestante	Ciclos Estrais	4	1	1	3	5	14
	Taxa de Gestação por trat.	7.69	1.92	1.92	5.77	9.62	26.92
Total		17	10	4	7	14	52
%		32.69	19.23	7.69	13.46	25.42	100

* Tratamento 1 = 1,0mg de Acetato de Deslorelina (Sincrorrelin, Ouro Fino, Brasil); tratamento 2 = 7,5 mg de Dinoprost trometamina (Lutalyse, Pfizer, EUA) (controle positivo); tratamento 3 = 0,5mg de Acetato de Deslorelina (controle negativo); tratamento 4 = 1,0mg de Acetato de Deslorelina + 7,5 mg de Dinoprost trometamina; tratamento 5 = 0,5mg de Acetato de Deslorelina + 7,5 mg de Dinoprost trometamina. $\chi^2 = 2.34$, gl = 4, $p = 0.67$

Tabela 3 – Taxa de gestação (%) observada em diferentes períodos da estação reprodutiva de éguas Mangalarga submetidas à protocolos ovulatórios.

Resultado		Período*			Total
		1	2	3	
Gestante	Frequência	8.00	23.00	7.00	38.00
	Taxa de Gestação por trat.	15.38	44.23	13.46	73.08
Não Gestante	Frequência	5.00	8.00	1.00	14.00
	Taxa de Gestação por trat.	9.62	15.38	1.92	26.92
Total		13	31	8	52
%		25.00	59.62	15.38	100

* 1= período de transição inicial (início de setembro a final de outubro); 2= período de estação reprodutiva (início de novembro a final de fevereiro); 3= período de transição final (início de março a final de abril). Definidos de acordo com dados climáticos adquiridos junto ao INMET, Brasil. $\chi^2 = 0.41$, gl = 2, $p = 0.81$

Tabela 4 – Taxa de gestação (%) observada em diferentes edemas no momento da indução hormonal ovulatória em éguas Mangalarga.

Resultado		Edema indutório*		Total
		1	2	
Gestante	Frequência	11.00	27.00	38.00
	Taxa de Gestação por trat. (%)	21.15	51.92	73.08
Não Gestante	Frequência	5.0	9.0	14.00
	Taxa de Gestação por trat. (%)	9.62	17.31	26.92
Total		16	36	52
%		30.77	69.23	100

* Escore de edema endometrial no momento da indução ovulatória, dicotomizados em grupos 1 e 2, sendo edemas 0-1 e 2-3 respectivamente (escala 0-3).

$\chi^2 = 0.19$, gl = 1, p = 0.6*

Tabela 5 – Taxa de gestação (%) observada em diferentes diâmetros de folículos pré-ovulatórios classificados em folículos dominantes em éguas Mangalarga.

Resultado		Classe FD*			Total
		1	2	3	
Gestante	Frequência	16.00	5.00	17.00	38.00
	Taxa de Gestação por trat. (%)	30.77	9.62	32.69	73.08
Não Gestante	Frequência	7.00	2.00	5.00	14.00
	Taxa de Gestação por trat. (%)	13.46	3.85	9.62	26.92
Total		23	7	22	52
%		44.23	13.46	42.31	100.00

$\chi^2 = 0.06$, gl = 2, p = 0.96

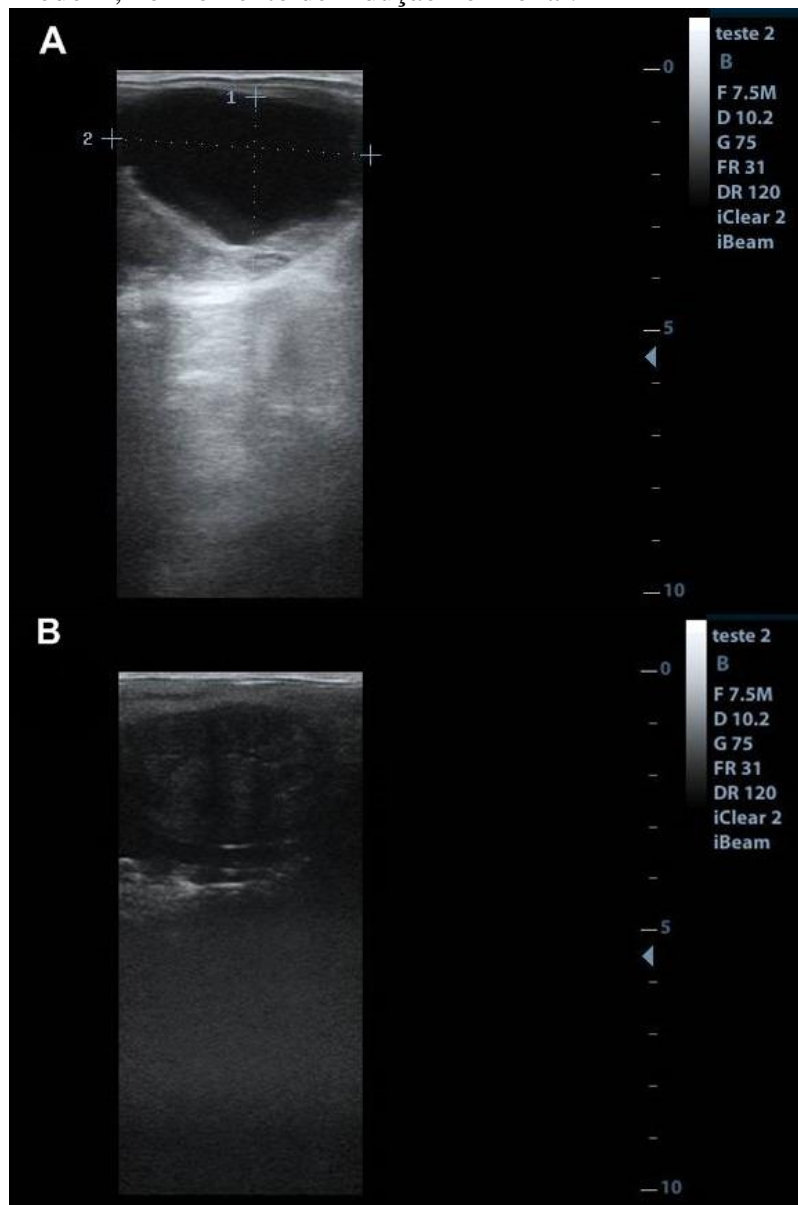
Tabela 6 – Taxa de gestação (%) observada em diferentes edemas pré-ovulatórios em éguas Mangalarga submetidas à indução hormonal ovulatória.

Resultado		Edema PO			Total
		0	1	2	
Gestante	Frequência	25.00	11.00	2.00	38.00
	Taxa de Gestação por trat.	48.08	21.15	3.85	73.08
Não Gestante	Frequência	8.00	4.00	2.00	14.00
	Taxa de Gestação por trat.	15.38	7.69	3.85	26.92
Total		33	15	4	52
%		63.46	28.85	7.69	100.00

*Edemas classificados em escala de 0-3, dicotomizados, onde edemas 0 e 1 correspondem a classe 1 e edemas 2 e 3 correspondem a classe 2.

$\chi^2 = 1.57$, gl = 2, p = 0.45

Figura 1 – Diâmetro folicular e escore de condição de edema endometrial, via ultrassonográfica, transdutor linear transretal, modo B, no momento de indução hormonal.



A: Diâmetro folicular de 35.5 por 37.8 / 2 = 36.65 milímetros;
B: Edema endometrial 2 (escala de 0 a 3).

**ANEXO A – Certificado da COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS da
Universidade Federal de Lavras**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Comparação da eficiência de diferentes indutores de ovulação em éguas", protocolo nº 058/17, sob a responsabilidade de José Camisão de Souza e Marcelo Siqueira El Azzi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em reunião de 16/10/2017.

Vigência da autorização: de 01/12/2017 a 30/12/2018

Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica

Espécie/linhagem/raça: Equídeo / Mangalarga e Mangalarga Machador

Número de animais aprovados: 100

Peso/Idade: 500kg / 4-20 anos

Sexo: fêmea

Origem dos animais (documento apresentado pelo pesquisador responsável e arquivado pela CEUA): Proprietário: Adeílson Carvalho; RG: M7194618 SSP-MG, CPF: 737.090.936-00, residente em Campus UFLA, nº 13, Lavras -MG.



Prof. Juliano Vogas Peixoto
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes
Campus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 - Lavras, MG - Brasil
Tel.: +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICATE

We certify that the proposal entitled "Comparison of the efficiency of different ovulation inductors in mares" Protocol No. 058/17, under the responsibility of José Camisão de Souza and Marcelo Siqueira El Azzi, which involves the production, maintenance and / or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except man), for purposes of teaching and / or scientific research, is in accordance with the provisions of Law No. 11.794, of October 8, 2008, Decree No. 6899 of July 15, 2009, and with the standards required by the National Council Animal Experimentation Control (CONCEA), the Ministry of Science, Technology and Innovation (MCTI), and was approved by ETHICS COMMITTEE ON ANIMAL USE (CEUA) of the Dean of Research / UFLA in meeting 10/16/2017.

Authorization validity: 12/01/2017 to 12/30/2018

Finality: () Teaching (x) Scientific research

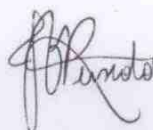
Species / strain / breed: Equine / Mangalarga e Mangalarga Machador

Number of approved animals: 15

Weight / Age: 500kg / 4-20 years

Sex: female

Origin of animals (document presented by the responsible researcher and filed by CEUA): Proprietário: Adeilson Carvalho; RG: M7194618 SSP-MG, CPF: 737.090.936-00, residente em Campus UFLA, nº 13, Lavras -MG.



Prof. Juliano Vogas Peixoto
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes
Campus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 - Lavras, MG - Brasil
Tel.: +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

ANEXO B – Input comandos estatísticos SAS®

```
data mar;
```

```
input
```

```
Estro IntOv Gest Induc Trat Per Dia ho FD Perdas EdemaI ClasseFD EdemaPO;
```

```
lintov = log(intov);
```

```
cards;
```

```
;
```

```
proc univariate data=mar normal;
```

```
var intov ;
```

```
histogram intov / normal;
```

```
run;
```

```
proc univariate data=mar normal;
```

```
var lintov ;
```

```
histogram lintov / normal;
```

```
run;
```

```
proc univariate data=mar normal;
```

```
var fd ;
```

```
histogram fd/ normal;
```

```
run;
```

```
proc genmod ;
```

```
class trat per edemaI classeFD edemaPO;
```

```
model gest= trat per edemaI classeFD edemaPO /dist=bin type3 pscale ;
```

```
run;
```

```
proc freq ;
```

```

tables gest*trat / chisq;

run;

proc freq ;

tables gest*per / chisq;

run;

proc freq ;

tables gest*edemaI / chisq;

run;

proc freq ;

tables gest*classeFD / chisq;

run;

proc freq ;

tables gest*edemaPO / chisq;

run;

proc glm;

class trat per edemaI classeFD edemaPO;

model lintov= trat per edemaI classeFD edemaPO ;

run;

proc glm;

class trat per edemaI classeFD edemaPO;

model intov= trat per edemaI classeFD edemaPO ;

lsmeans trat per edemaI classeFD edemaPO / stderr ;

means intov;

run;

```

