

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**AMANDA CARDOSO**

**EFEITO DO TRATAMENTO COM ESTRADIOL NO ÚTERO DE ÉGUAS COM  
FOLÍCULO PRÉ-OVULATÓRIO E EDEMA UTERINO BAIXO OU AUSENTE**

**UBERLÂNDIA  
JUNHO DE 2023**

**AMANDA CARDOSO**

**EFEITO DO TRATAMENTO COM ESTRADIOL NO ÚTERO DE ÉGUAS COM FOLÍCULO PRÉ-OVULATÓRIO E EDEMA UTERINO BAIXO OU AUSENTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária – FAMEV da Universidade Federal de Uberlândia – UFU, como requisito parcial à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

**Orientadora: Profa. Dra. Elisa Sant’AnnaMonteiro da Silva**

**UBERLÂNDIA**

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.  
(Madre Teresa de Calcutá)

## RESUMO

Tratamentos hormonais em éguas cíclicas e acíclicas são muito utilizados para que mais produtos sejam gerados durante o ano. Além disso, tornaram-se métodos-chave para contornar situações fisiológicas que desfavorecem a sua fertilidade. O edema endometrial está relacionado ao nível de estrógeno e, segundo estudos recentes, associado também a fertilidade e aumento nas taxas de prenhez. Objetiva-se avaliar o efeito do tratamento com estrógeno,  $17\beta$  estradiol, sobre um edema baixo ou ausente em éguas que apresentam folículo pré-ovulatório, além da interferência desse hormônio sobre a ovulação. As éguas também foram avaliadas quanto aos níveis de progesterona, o que incluíram avaliação do relaxamento da cérvix e ausência de corpo lúteo remanescente confirmada por ultrassonografia. Oito animais e 39 estros foram avaliados durante 6 meses. Os animais que apresentaram folículos pré-ovulatórios e edema baixo ou ausente, entraram para o grupo tratamento e foi administrado 0,7 a 1mg de  $17\beta$  estradiol, além da avaliação de cérvix e presença ou não de corpo lúteo remanescente. O animal tratado foi avaliado no dia seguinte, e na presença de edema moderado a alto (2 e 3), foi administrado indutor de ovulação 24 após a detecção do edema e acompanhado até a ovulação. Nos casos em que se observou a permanência do edema baixo, o animal ainda assim recebeu o indutor para que a ovulação fosse controlada. Dos 39 estros avaliados, 20% se encaixaram nos requisitos citados acima; desse total, 50% responderam positivamente ao tratamento com aumento de edema. Todos os animais tratados foram induzidos e ovularam, com exceção de um cuja ovulação já havia ocorrido previamente a aplicação do indutor. A ocorrência da ovulação apresentou variações entre 2 e 4 dias após o tratamento e a indução, de 0 a 2 dias. Em suma, conclui-se que como metade das éguas responderam ao tratamento, outros fatores individuais e ambientais podem ser causas de interferência nesse resultado. Por ser um estudo preliminar são necessários experimentos futuros para que se compreenda de forma mais precisa os possíveis fatores interferentes no tratamento com  $17\beta$  estradiol sobre o edema endometrial baixo ou ausente.

**Palavras-chave:** Protocolo hormonal; Estrógeno; Edema endometrial; Ovulação.

## **ABSTRACT**

*Hormonal treatments in cyclic and acyclic waters are widely used so that more products are generated during the year. In addition, key methods have been achieved to circumvent regulations that are detrimental to your fertility. Endometrial edema is related to estrogen levels and, according to recent studies, is also associated with fertility and increased pregnancy rates. The objective is to evaluate the effect of treatment with estrogen,  $17\beta$  estradiol, on a low or absent edema in mares that have a preovulatory follicle, in addition to the interference of this hormone on ovulation. Mares were also assessed for progesterone levels, which included assessment of cervix elongation and absence of remaining corpus luteum confirmed by ultrasonography. Eight animals and 39 estrus were evaluated during 6 months. The animals that presented pre-ovulatory follicles and low or absent edema entered the treatment group and were administered 0.7 to 1mg of  $17\beta$  estradiol, in addition to the evaluation of the cervix and the presence or absence of a remaining corpus luteum. The treated animal was evaluated the following day, and in the presence of moderate to high edema (2 and 3), an ovulation inducer was administered 24 after edema detection and followed up until ovulation. In cases where low edema was observed, the animal still received the inducer so that ovulation could be controlled. Of the 39 evaluated estros, 20% fit the requirements mentioned above; of this total, 50% responded positively to the treatment with increased edema. All treated animals were induced and ovulated, with the exception of one whose ovulation had already occurred prior to the application of the inducer. The occurrence of ovulation showed variations between 2 and 4 days after treatment and induction, from 0 to 2 days. In short, it is concluded that as half of the waters responded to the treatment, other individual and environmental factors may be causes of interference in this result. Since this is a preliminary study, future experiments are needed to better understand the possible interfering factors in the treatment with  $17\beta$  estradiol on low or absent endometrial edema.*

**Keywords:** *Hormonal protocol; Estrogen; Endometrial edema; Ovulation.*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 – Fluxograma do tratamento do Grupo Tratamento.....                     | 9  |
| Figura 2 – Porcentagens de estros com edema baixo .....                          | 11 |
| Figura 3 – Dias decorrentes entre o Estradiol e Deslorelina até a ovulação ..... | 11 |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....                        | <b>1</b>  |
| 1.1. Justificativa .....                          | 2         |
| 1.2. Hipótese .....                               | 2         |
| 1.3. Objetivos.....                               | 2         |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....             | <b>3</b>  |
| 2.1 Regulação endócrina do ciclo estral.....      | 3         |
| 2.1.1. Função hipotalâmica e hipofisária .....    | 3         |
| 2.1.2. Dinâmica folicular .....                   | 3         |
| 2.1.3. Esteroidogênese .....                      | 4         |
| 2.2. Estradiol.....                               | 5         |
| 2.2.1 Avaliação de edema uterino em éguas . ..... | 6         |
| 2.2.2. Útero em estro .....                       | 6         |
| 2.2.3 Correlação edema e fertilidade .....        | 7         |
| 2.2.4 Tratamentos hormonais .....                 | 7         |
| <b>3. METODOLOGIA</b> .....                       | <b>8</b>  |
| 3.1 Animais.....                                  | 8         |
| 3.2 Tratamento.....                               | 9         |
| 3.3 Avaliação ultrassonográfica.....              | 10        |
| 3.4 Análise estatística .....                     | 10        |
| <b>4. RESULTADOS</b> .....                        | <b>10</b> |
| <b>5. DISCUSSÃO</b> .....                         | <b>12</b> |
| <b>6. CONCLUSÃO</b> .....                         | <b>16</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....                          | <b>17</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Com cerca de 5.777.046 animais, o Brasil se encaixa na quarta maior população nacional de equinos do mundo (IBGE, 2021). Através de biotécnicas como a inseminação artificial (IA) e a transferência de embriões (TE), tornou-se possível aumentar a eficiência reprodutiva e o progresso genético do plantel de forma satisfatória e com boa viabilidade econômica (CHALHOUB, 1996). Além disso, essas biotécnicas estão intimamente relacionadas com bons índices de fertilidade e conseqüentemente bons produtos.

As fêmeas equinas apresentam estacionalidade reprodutiva, iniciando sua atividade estral nos dias longos, mais especificamente entre os meses de outubro a março, entre a primavera e o verão (AURICH, C *et al.*, 2011). Apresentam o ciclo dividido em duas fases, sendo o estro com duração de 5 a 7 dias e o diestro com 14 a 15 dias, aproximadamente (MCKINNON & VOSS, 1993a HUGHES *et al.*, 1972). A duração do estro pode variar de maneira significativa entre éguas, e pode ser influenciada também pelo estágio reprodutivo em que as fêmeas se encontram (AURICH, C *et al.*, 2011).

O estro, também chamado de fase folicular, é caracterizado pela alta secreção de estrógeno pelo folículo pré-ovulatório, hormônio responsável pelo comportamento de estro nas éguas e aumento da vascularização uterina, o que ocasiona o edema uterino por extravasamento de líquido para o interstício através do ingurgitamento das pregas endometriais (BERGFELT, 2000; SATUÉ; GARDÓN, 2013).

O edema uterino é um excelente indicativo da competência estrogênica dos folículos, assim como um sinal confiável do estro em éguas saudáveis e cíclicas. A formação do edema está intimamente correlacionada ao início do estro, assim como o seu desaparecimento correlaciona-se com a ovulação. Entretanto, nem sempre a duração do edema endometrial é equivalente a duração do estro, visto que alguns animais apresentam poucos dias de edema antes de ovularem (GINTHER, 2007). Dessa forma, éguas em condições fisiológicas que interfiram na produção adequada do edema uterino, podem apresentar baixas taxas de prenhez e interferir negativamente no sucesso da inseminação artificial (WATSON, E. D, 2003).

Em virtude de estudos realizados Cuervo-Arango *et al.* (2015), estabeleceu-se uma correlação positiva entre a duração do edema uterino durante a fase folicular e a taxa de fertilidade de éguas receptoras. Mateu-Sánchez *et al.* (2016), também observou um impacto negativo sobre a fertilidade de éguas que apresentaram menos de quatro dias de edema uterino. Complementando os estudos citados acima, a duração do estro em éguas acíclicas e a

expressão gênica endometrial foi estudada por Silva *et al.* (2019; 2021). De um perfil de 17 genes analisados, apenas dois (P19 e FGF-2) foram claramente associados com a duração do estrógeno sobre o útero. A uterocalina (P19) é uma proteína potencialmente associada a nutrição e sobrevivência do embrião nos estágios iniciais da gestação. Apesar de ser tentador sugerir que um período de estro prolongado possa resultar em um endométrio mais receptivo devido ao aumento da síntese de P19, é plausível considerar que outros genes e/ou vias também possam contribuir para os efeitos aparentemente benéficos da exposição ao estrogênio, sendo necessários estudos futuros para confirmar essa correlação.

### 1.1. Justificativa

Pelo exposto, a ausência de edema uterino em éguas com folículos pré-ovulatórios constitui uma provável redução de fertilidade. Com o crescimento constante da equinocultura no Brasil, problemas reprodutivos tornam-se obstáculos notáveis para que o médico veterinário alcance os objetivos reprodutivos do proprietário em obter produtos de maneira satisfatória.

### 1.2. Hipótese

Hipotetiza-se que éguas em condições de edema uterino baixo ou ausente, na presença de folículos pré-ovulatórios de no mínimo 35mm e ausência de corpo lúteo (CL) funcional respondam ao tratamento hormonal com  $17\beta$  estradiol aumentando a intensidade do edema.

### 1.3. Objetivos

Objetiva-se avaliar o efeito do hormônio  $17\beta$  estradiol com relação a intensidade do edema uterino em éguas cíclicas com edema uterino baixo ou ausente associado a presença de folículo pré-ovulatório, e também avaliar se o tratamento em questão interfere no processo ovulatório.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Regulação endócrina do ciclo estral

#### 2.1.1. Função hipotalâmica e hipofisária

O hipotálamo na espécie equina, através de neurônios, formam núcleos hipotalâmicos com funções específicas. (MEIRA, 2008). A luminosidade captada por receptores na retina das éguas, estimula o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal e inibe a produção de melatonina, o que conseqüentemente aumenta a produção e secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no hipotálamo. Conforme a mudança de fases no ciclo estral, os pulsos de GnRH sofrem alterações. Durante a fase folicular, ativados pela progesterona e pelo estradiol, o sistema endógeno opiodérgico das éguas é inativado, permitindo que pulsos de GnRH sejam liberados, estimulando a neuro-hipófise ou hipófise anterior a secretar gonadotrofinas. (AURICHAB, C., 2011).

As concentrações do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo estimulante (FSH) variam conforme o transcorrer do ciclo estral. Como característica diferencial de outras espécies, a fêmea equina não apresenta um pico de LH pré- ovulatório. Os níveis de LH são crescentes durante a fase folicular, e aumentam rapidamente em resposta a queda nos níveis de estrógeno pouco antes da ovulação (GINTHER *et al.*, 2007) até atingirem seu pico máximo 1 dia após a ovulação (GINTHER *et al.*, 2008).

O FSH, durante a fase lútea, aumenta significativamente seus níveis na corrente sanguínea sistêmica, e nos ovários, é responsável pelo recrutamento folicular (AURICHAB, C.). Durante o crescimento dos folículos, a produção de estrógeno, estimulada pelo LH, suprime as concentrações circulantes de FSH, assim como a inibina, produzida pelas células da granulosa dos folículos (BRINSKO *et al.*, 2010).

#### 2.1.2. Dinâmica folicular

Define-se como onda folicular, um crescimento concomitante e sincrônico de vários folículos, estimulados pelo FSH. Durante um intervalo interovulatório, um grande número de ondas foliculares pode se desenvolver, dentre elas ondas maiores ou menores. Em ondas maiores observam-se folículos crescendo e tornando-se dominantes com diâmetro maior do que

28mm. O desvio é caracterizado por um crescimento constante e priorizado de um folículo, associado com uma redução na taxa de crescimento do segundo maior folículo, e dessa forma é possível comparar a diferença de diâmetro entre eles. Os demais folículos sofrem atresia, e geralmente reduzem suas taxas de crescimento juntamente ao segundo maior folículo. Normalmente uma onda ovulatória durante a fase folicular é precedida de uma onda anovulatória, na qual o folículo dominante também sofre atresia. Durante as ondas foliculares, O FSH atinge níveis máximos quando o maior folículo se encontra com 13mm. A partir daí, até que se inicie o desvio dos folículos, a concentração de FSH diminui em razão da inibina e do aumento de estradiol secretado pelos folículos, e observa-se em seguida aumento da concentração de LH. O aumento de estradiol é observado no fluido folicular do maior folículo quando este apresenta aproximadamente 18mm, e é responsável também por elevar sistemicamente os níveis desse hormônio (GINTHER, 2004).

### 2.1.3. Esteroidogênese

O estradiol é um hormônio esteroide importante na regulação da esteroidogênese e foliculogênese (MERKT *et al.*, 1972). A partir do seu aumento nos folículos ovarianos, o estradiol, por meio de feedback positivo, estimula a síntese de andrógenos pelas células da teca (WRATHALL & KNIGHT, 1995). Os andrógenos ao serem sintetizados pelas células da teca, são aromatizados pelas células da granulosa, produzindo o estradiol (FORTUNE *et al.*; QUIRK *et al.* 1988). É certo afirmar então que tanto os andrógenos, diretamente, como os progestágenos, indiretamente, são considerados substratos na síntese do estradiol (BEG *et al.* 2001). A atuação do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo estimulante (FSH) sobre as camadas da teca e da granulosa também é de suma importância para o processo da esteroidogênese (HAFAZ & HAFAZ, 2004, SIROIS *et al.*, 1991).

Armstrong *et al.* (1979), propôs um modelo chamado “Duas células, duas gonadotrofinas” na qual as células da granulosa respondem diretamente ao hormônio FSH, e as células da teca, ao LH. Os folículos pré-ovulatórios ao serem recrutados pelo FSH, desenvolvem receptores de LH nas células da granulosa, cuja função é associada à atividade da aromatase e a produção de inibina, que estimulada por LH, potencializa a síntese de andrógenos pelas células tecais e conseqüentemente a produção de estrógeno. Em suma, a medida que o folículo pré-ovulatório se desenvolve e aumenta seu tamanho, adquire mais receptores de LH e

FSH, aumentando sua capacidade estrogênica (HILLIER, S. G. *et al.*, 1994).

A partir de estudos realizados por (J. SIROIS, 1991) a respeito da estrutura folicular, algumas considerações foram feitas a respeito dos hormônios produzidos pelo folículo pré-ovulatório. Ao avaliar as células da teca interna, J. SIROIS concluiu que o hormônio predominante secretado por essa estrutura foi a androstenediona. Em relação a progesterona, foi observado que células tecais produziram quantidades insignificantes desse hormônio, independente do estágio do estro. O estradiol, diferentemente do que foi observado nas células da granulosa, não sofreu influência das gonadotrofinas, e permaneceu em níveis muito baixos. Outra consideração obtida por J. SIROIS através deste estudo relaciona-se a síntese do hormônio  $17\beta$  estradiol. O modelo de esteroidogênese atual defende que a síntese deste hormônio ocorre majoritariamente pelas células da teca interna, porém, apesar dessa camada sintetizar andrógenos, é limitada em capacidades aromatizantes. Entretanto, sabe-se que a camada de células da granulosa apresenta de forma expressiva essa capacidade, apesar de baixa secreção de andrógenos, como citado acima. Á vista disso, os resultados elucidam que a síntese de estradiol na espécie equina, descende da interação intensa entre essas duas camadas de células, na qual os andrógenos produzidos pelas células da teca são aromatizados pelas células da granulosa.

#### 2.1.4. Estradiol

Ao decorrer do ciclo estral, o útero e ovários das fêmeas equinas alteram suas dinâmicas em razão de variações hormonais. Estrógenos como o  $17\beta$  estradiol, e progestinas como a progesterona são responsáveis por algumas dessas alterações uterinas (BOLLWEIN *et al.*, 2002; HONNENS *et al.*, 2011). O estradiol (E2), durante o período de estro, estimula a expressão de seus próprios receptores no endométrio da égua. Na fase lútea, devido a elevada exposição do endométrio a progesterona, os receptores de estradiol diminuem sua expressão (HARTT *et al.*, 2005). Nessa fase, a secreção de estradiol advinda dos folículos pré-ovulatórios, de modo consequente, eleva os níveis plasmáticos de estradiol, entre cinco a sete dias antes da ovulação (SATUE; GARDON, 2013). Como funções principais do estradiol, destacam-se o aumento da vascularização uterina e formação do edema endometrial (MCKINNON; CARNEVALE, 1993), e a estimulação do comportamento de cio (CROWELL-DAVIS, S. L. 2007).

## 2.2. Avaliação de edema uterino em éguas

### 2.2.1 Útero em estro

Segundo (MOURA, 2014), em 1980 foi realizada a primeira ultrassonografia em tempo real como auxílio na reprodução equina. A partir desse evento, essa técnica tornou-se de suma importância para o aprimoramento das biotécnicas reprodutivas.

Durante o ciclo estral, a ecotextura uterina das fêmeas equinas sofre alterações em virtude da mudança nos níveis de estradiol em cada uma das fases (HAYES *et al.*, 1985; GINTHER, 1986; SAMPER, 1997). Durante o período de estro, em razão do desenvolvimento dos folículos pré-ovulatórios, grande quantidade de E2 é secretada, aumentando os níveis de estrógeno plasmático (MOREL, 2003). De acordo com estudos realizados por (BEATO & KLUG, 2000), depois de sintetizados, os hormônios esteroides atingem células alvo, como seus receptores, através da circulação sanguínea.

De acordo com WATSON *et al.*, (1992); MCDOWELL *et al.*, (1999); HARTT *et al.*, (2005), o endométrio expressa receptores tanto de estradiol como de progesterona. Diante disso, na ausência da progesterona durante a fase folicular, o estrógeno começa a ser secretado em grandes concentrações e induz alterações fisiológicas como secreções uterinas, relaxamento de cérvix e da vulva e receptividade sexual.

Na ultrassonografia o edema uterino pode ser visualizado ao final da fase lútea e durante a fase folicular torna-se mais proeminente. Através da ultrassonografia transretal e com a probe posicionada transversalmente ao corno do útero, a imagem formada assemelha-se a uma roda de carroça, e visualizam-se as pregas uterinas como tabiques ecogênicos e partes anecoicas ou hipoecoicas de baixa intensidade (SAMPER, 2009).

Ginther em 1992, analisou a intensidade do edema endometrial e o classificou em escores de 0 a 4, sendo 0 ausência, 1 baixo, 2 moderado, 3 elevado e 4 como máximo edema. McCue (2011) refere utilizar na sua prática, pontuação numérica variando entre os graus 0 e 3 para classificação do edema endometrial, sendo 0 útero homogêneo sem edema e o grau 3, útero com edema máximo.

Durante o estro, o edema máximo ocorre próximo aos dias 17° e 20° (MERKT, 1996), e começa a diminuir entre as 48 e 24h que precedem a ovulação. Após esse evento, o edema não persiste mais do que 36h (GINTHER, 1986).

### 2.2.2 Correlação edema e fertilidade

Como citado anteriormente, segundos estudos realizados por Mateu-Sánchez *et al.* (2016), algumas considerações puderam ser pontuadas em relação ao edema uterino em éguas. Observaram-se éguas apresentando ausência de edema uterino alguns ou vários dias antes da ovulação, enquanto outras estendendo esse período com a permanência de edema até dois dias após a ovulação. Considerou-se também a relação entre níveis basais de progesterona e a estruturação do edema endometrial, e concluiu-se que esse hormônio pode não ser o único fator regulador atuante. Esse resultado foi obtido por meio da observação de um grupo específico de éguas, que mesmo em condições de progesterona  $< 1\text{ng/mL}$ , ao serem avaliadas, não apresentaram ultrassonografia condizente com o edema.

Para fomentar sua hipótese, Mateu-Sánchez, avaliou uma amostra de 325 fêmeas equinas e um total de 768 ciclos estrais. Com essa amostra buscou correlacionar a duração do edema com o intervalo de ovulação (ITO) em ciclos induzidos por prostaglandina (PGF), e da mesma forma, com o intervalo interovulatório (IOI) em ciclos espontâneos. O critério de avaliação usado para cada ciclo envolveu o acompanhamento da fase folicular a cada 48h para que fosse possível contabilizar com segurança os dias em que o edema endometrial estava presente nos dois grupos.

Como considerações relevantes, este estudo revelou baixas taxas de fertilidade correlacionadas com a ausência de edema endometrial durante a fase folicular. Além disso, comprovou a hipótese de que a duração do ITO e o IOI seriam influenciados positivamente pela maior duração do edema, com incremento das taxas de fertilidade como consequência. Taxas de prenhez influenciadas negativamente foram observadas em ciclos com edema presente por menos de 4 dias, sendo assim, pode-se afirmar que concentrações de estradiol elevadas e progesterona em níveis basais são essenciais para que o útero de éguas receptoras acíclicas apresente uma ecotextura semelhante ao estro durante a fase folicular.

### 2.2.3 Tratamentos hormonais

A correlação entre a duração do estro indicado pelo edema endometrial, diagnosticado por ultrassonografia e a fertilidade em éguas, parece ser positiva. Estudos recentes evidenciaram que o estro mais longo está associado a melhores probabilidades de prenhez, após estro induzido com análogos da PGF2  $\alpha$  ou após luteólise espontânea. Ademais, foi possível estabelecer

também uma íntima associação entre a duração do estro e a melhor qualidade do ambiente endometrial, o que foi observado em éguas receptoras antes da transferência do embrião e a subsequente prenhez confirmada.

Além disso, ara avaliar a eficiência de protocolos hormonais que utilizam estrógeno exógeno, éguas ovariectomizadas e em anestro foram usadas como grupo tratamento e apresentaram morfologia uterina semelhante à de éguas cíclicas e secreção de algumas proteínas únicas de origem não sérica. Como conclusão do ensaio clínico, analisando 17 genes selecionados e associados a formação de endométrio adequado para a recepção do embrião, apenas a expressão de dois deles pode ser correlacionada diretamente com a duração do estrógeno usado como tratamento. Devido a isso, é possível que a hipótese fomentada sobre o estro longo e o endométrio mais receptivo ao embrião seja explicada pela presença de genes ou vias adicionais que contribuem para o aparente efeito positivo do organismo frente a exposição ao estrógeno (SILVA *et al.*, 2019).

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Animais**

Foram avaliadas éguas mestiças com idade entre 4 e 8 anos, com peso aproximado de 450 kg, pertencentes ao Setor de Equídeos da Universidade Federal de Uberlândia, por uma estação de monta. O experimento foi submetido e aprovado pelo CEUA, com o protocolo de nº 23117.018886/2023-31.

Durante a fase cíclica (estação de monta), foi realizado o controle folicular por meio de palpação retal e exame ultrassonográfico. Quando o maior folículo atingiu diâmetro aproximado de 30 mm, o controle foi realizado diariamente até a detecção de folículo com aproximadamente 35 mm. Neste momento avaliou-se a presença de edema uterino e, se presente, esta égua deixou de ser monitorada neste ciclo.

Na ausência de edema, o animal foi avaliado novamente no dia seguinte, para mensuração do diâmetro do folículo e avaliação do edema. Se o folículo tivesse crescido e o edema continuado ausente, o animal faria parte do grupo tratamento com estradiol. Além disso, o ovário foi avaliado cuidadosamente para observar se havia resquício de corpo lúteo e cérvix, se estava fechada ou aberta. Caso identificado tônus cervical e/ou indícios de CL nos ovários,

o animal recebeu uma dose de prostaglandina (5mg de Dinoprost) e foi reavaliado no dia seguinte. Nos casos em que o animal desenvolveu edema, deixou de ser avaliado, e nos casos de edema baixo ou ausente persistente, entrou para o grupo tratamento.

### 3.2 Tratamento

Foi administrado 0,7 a 1 mg de  $17\beta$  estradiol via intramuscular mediante detecção de folículo pré-ovulatório e edema baixo ou ausente. Aproximadamente 24h após o tratamento, a égua foi avaliada novamente e, no caso de presença de edema moderado a alto (grau 2 a 3), administrou-se um indutor de ovulação (Deslorelina) 24h após a detecção do edema, para que o útero fosse exposto a ação estrogênica por pelo menos 3 dias. Nos casos em que o animal foi tratado com estradiol e não houve aumento significativo do edema até 48h após o tratamento, este ainda assim, recebeu o indutor para que a ovulação fosse controlada, observando se o folículo se tornaria anovulatório ou ocorreria a ovulação. A exceção foi de um único animal, em que 1 dos 4 ciclos avaliados, observou-se nível reduzido de edema. Nesse caso específico, optou-se por não utilizar o indutor hormonal devido à ocorrência de ovulação antes da possibilidade de administrar o referido medicamento.

**Figura 1** – Fluxograma do tratamento dos animais do Grupo Tratamento



Fonte: autoria própria

### 3.3 Avaliação ultrassonográfica

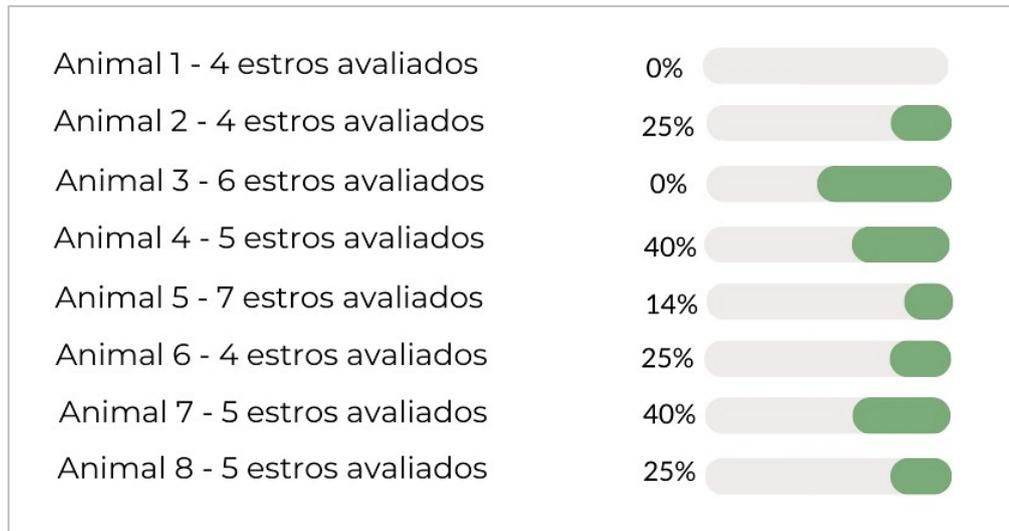
O escore de edema das éguas foi avaliado a partir da análise ultrassonográfica. Para que o animal fosse incluído no grupo tratamento, esperava-se que quando o maior folículo estivesse com pelo menos 35mm, o escore do edema estivesse menor do que 2, em uma escala de 0 a 3, sendo (0: ausência de edema uterino; 1: edema uterino mínimo; 2: edema uterino intermediário; 3: edema uterino máximo) (MCCUE *et al.*, 2011). Ademais, a resposta ovulatória também foi monitorada por análise ultrassonográfica.

### 3.4 Análise estatística

A análise foi realizada de forma descritiva, destacando as características observadas nos animais sem a possibilidade de inferências estatísticas formais por limitação do tamanho da amostra.

## 4 RESULTADOS

Em um período de 6 meses, 39 estros foram avaliados. Dentre eles, 8 apresentaram edema  $<2$  e os animais foram tratados, resultando em 4 respostas positivas (50%) e 4 negativas (50%). No que diz respeito à ocorrência da ovulação, observou-se presença em todos os estros avaliados, com a exceção de um único animal no qual não foi possível determinar com precisão em que dia ocorreu.

**Figura 2** – Porcentagens de estros com edema baixo

Fonte: autoria própria

**Figura 3** – Dias decorrentes entre o Estradiol e Deslorelina até a ovulação

| Animal   | Estradiol - Ovulação | Deslorelina - Ovulação |
|----------|----------------------|------------------------|
| Animal 2 | 2 DIAS               | 0 DIAS                 |
| Animal 4 | 4 DIAS               | 2 DIAS                 |
| Animal 4 | 3 DIAS               | 1 DIA                  |
| Animal 5 | 3 DIAS               | 2 DIAS                 |
| Animal 7 | 2 DIAS               | 0 DIAS                 |
| Animal 7 | 3 DIAS               | 2 DIAS                 |

Fonte: autoria própria

Dentre os oito estros avaliados nos quais o edema apresentou-se menor do que 2, dois deles apresentaram circunstâncias particulares. No animal 6, não foi possível confirmar a ocorrência da ovulação, o que levou à sua exclusão das análises e no animal 8, não se utilizou o indutor, uma vez que a ovulação já havia ocorrido antes da administração do medicamento. Em decorrência dessas particularidades, optou-se por não considerar esses dois casos nas análises realizadas.

## 5 DISCUSSÃO

A investigação sobre a relação entre o tratamento com o estradiol para animais com edema baixo ou ausente e a ação sobre a intensidade do edema uterino e interferência na ovulação, é um tema ainda pouco explorado na literatura científica. Os resultados obtidos, mostraram a ocorrência de baixo edema em 8 estros avaliados, e taxa de resposta positiva de 50%. Embora o estudo seja preliminar e o tamanho da amostra utilizada pequena, a ovulação não sofreu interferência em nenhum dos animais tratados com 17 beta estradiol, exceto no caso em que não foi possível a conferência desse dado.

A avaliação de 39 estros resultou em uma constatação de que 20% deles não foram acompanhados de edema endometrial em níveis aceitáveis. Essa informação permite a formulação de algumas hipóteses relacionadas a esse resultado, destacando-se os receptores de estradiol e a competência dos folículos na produção desse hormônio. Em resumo, pesquisas conduzidas em várias espécies, incluindo equinos, revelaram que o hormônio estradiol (E2), presente durante o período de estro, promove a expressão dos seus próprios receptores e dos receptores de progesterona no endométrio. (WATSON *et al.*, 1992; MCDOWELL *et al.*, 1999; HARTT *et al.*, 2005). No interior das células-alvo, os hormônios se ligam aos seus receptores correspondentes, que estão principalmente localizados no núcleo das células (BEATO & KLUG, 2000). O complexo formado pelo hormônio e seu receptor passa por um processo de ativação, envolvendo alterações na sua estrutura, permitindo que o receptor se conecte a locais específicos na cromatina sendo conseqüentemente responsável pelos efeitos finais dos hormônios. Diante do exposto, é possível afirmar que a expressão de receptores de estradiol constitui um pilar essencial para a atuação deste hormônio sobre o útero das fêmeas. Inúmeros

fatores descritos na literatura podem ser causas de interferências na expressão de receptores, como ação de outros hormônios e do próprio estradiol e fatores parácrinos produzidos por células uterinas (KURITA *et al.*, 2000). Devido a preliminaridade do estudo, falhas na expressão dos receptores como hipótese de causa de edema endometrial baixo ou ausente não foi corroborada. Entretanto, como citado anteriormente, o experimento demonstrou que 50% dos animais tratados com  $17\beta$  estradiol, apresentaram resposta positiva com aumento do edema endometrial. Nesses casos, podemos descartar a hipótese de que o animal apresentava alguma interferência uterina, visto que os receptores de estradiol se mostraram funcionais. Evidentemente, para os 50% dos animais que não responderam ao tratamento proposto, essa hipótese não pode ser desprezada. Outrossim, a competência folicular na produção do estrógeno também precisa ser considerada. Sabe-se que a formação do folículo ovariano é um processo complexo. A partir do seu aumento nos folículos ovarianos, o estradiol, por meio de feedback positivo, estimula a síntese de andrógenos pelas células da teca (WRATHALL e KNIGHT *et al.*, 1995). Ao serem sintetizados pelas células da teca, são aromatizados pelas células da granulosa, produzindo o estradiol (FORTUNE *et al.*; QUIRK *et al.* 1988). Perante o exposto, a hipótese de baixa competência estrogênica dos folículos pode ser considerada igualmente para os grupos que responderam ou não ao tratamento, partindo do pressuposto de que os receptores de estradiol se encontravam funcionais, sendo o estrógeno exógeno capaz de suprir essa falha.

Todas as éguas tratadas e que foram acompanhadas, ovularam. Relembrando um dos objetivos deste trabalho em analisar a interferência ou não do tratamento com  $17\beta$  estradiol na ovulação dos animais, alguns pontos merecem ser discutidos.

A relação entre o estrógeno e o LH precisa ser considerada como possível fator interferente no sucesso do tratamento. De acordo com GHINTER *et al.* (2016) e Troedsson *et al.* (2011), além do papel fundamental do estrógeno na ovulação das éguas, existe também uma relação bidirecional entre esse hormônio e o LH. Esses autores apontam que a elevação dos níveis de estrógeno durante o ciclo estral estimula a secreção de LH pela hipófise, enquanto o LH, por sua vez, também pode influenciar a produção de estrógeno pelos folículos ovarianos. Além disso, um estudo de BARBACINI *et al.*, (2015) encontrou uma correlação significativa entre os níveis de estradiol e LH em éguas durante o período periovulatório, o que sugere uma interdependência desses hormônios nesse processo reprodutivo. No ciclo estral da égua, após o desvio folicular acontecer, as concentrações de estradiol começam a aumentar gradualmente em decorrência da secreção pelo folículo dominante, entre os dias 6 e 7. Aproximadamente no

dia 13, as concentrações de LH começam a se elevar concomitantemente ao estradiol. Perto do 19º dia, o estradiol atinge seu pico e começa a decair, e no 21º dia o aumento gradual do LH é interrompido pela ovulação e atinge sua concentração máxima um dia após (AURICHAB, C *et al.*, 2011). O tratamento com estradiol poderia ser um fator de interferência na ovulação devido a essa interdependência hormonal que acontece entre o estrógeno e o LH. No protocolo hormonal utilizado, a administração do 17 $\beta$  estradiol ocorreu mediante a detecção de folículos pré-ovulatórios e edema baixo ou ausente, interferindo assim na dinâmica do ciclo estral. Quando detectados esses folículos, os níveis de estradiol supostamente deveriam estar no seu pico. Conforme o folículo para de crescer, acredita-se que o edema diminui juntamente com o decréscimo dos níveis de estradiol, na maioria dos casos. Portanto, essa administração de estradiol exógeno nesta fase em que os folículos já pararam de crescer e o estradiol deveria estar diminuindo, poderia influenciar negativamente os níveis de LH, prejudicando ou impedindo a ovulação.

Entretanto, como parte do protocolo hormonal utilizado, administrou-se o indutor Desloreina em todos os animais como forma de controle da ovulação. Esse medicamento é classificado como análogo de GnRH, que são substâncias sintetizadas por meio de alterações químicas no hormônio endógeno. Devido a isso, a hipótese sobre a interferência do hormônio 17 $\beta$  estradiol nas concentrações de LH não pode ser confirmada já que foram fornecidas concentrações exógenas desse hormônio na administração do indutor da ovulação, e dessa forma, todas as éguas ovularam.

O estresse é um fator que pode afetar negativamente a fertilidade em éguas. Estudos têm demonstrado que o estresse crônico pode levar a alterações nos níveis hormonais, como o aumento do cortisol e a redução do estradiol, o que pode interferir na maturação folicular, ovulação e implantação embrionária ((HINRICHS, 2011; SCHAUER *et al.*, 2012; MCCUE, 2016).

Além disso, o estresse também pode afetar a função imunológica do trato reprodutivo, predispondo a infecções uterinas que podem resultar em problemas de fertilidade (CHRISTOFFERSEN *et al.*, 2017). É importante, portanto, minimizar o estresse em éguas, especialmente durante a estação de monta, para otimizar a fertilidade e a saúde reprodutiva (HINRICHS, 2011; MCCUE, 2016).

Os fatores climáticos podem ter um grande impacto na fertilidade das éguas. Curley Jr. *et al.*, (2008) relata que a exposição a altas temperaturas pode levar a alterações na regulação

hormonal do ciclo reprodutivo, como a diminuição na produção de estradiol e progesterona. Além disso, o aumento da temperatura corporal pode causar danos aos gametas e às células foliculares (KASTELIC *et al.*, 2010). O estresse térmico também pode influenciar na redução da taxa de ovulação e atraso na ovulação (MCMANUS *et al.*, 2009). Durante a análise do projeto, não ocorreram alterações drásticas no clima e as condições climáticas permaneceram relativamente estáveis, sem ocorrências de eventos extremos que pudessem comprometer a viabilidade e a eficácia do projeto. A temperatura média anual, as precipitações pluviométricas e outros parâmetros climáticos mantiveram-se dentro das faixas históricas esperadas para a região. Não foi observado prevalência de ocorrência de edema baixo nos animais em algum mês ou período climático específico. Ademais, observou-se que os animais mantiveram um peso constante, sem alterações significativas em sua dieta e sem intercorrências relacionadas a doenças.

O 17-beta estradiol é utilizado para o preparo de receptoras acíclicas como objetivo de melhorar a fertilidade e o desempenho reprodutivo em éguas. Ele é produzido naturalmente no ovário e é responsável pelo desenvolvimento dos folículos e pela ovulação. Apesar do 17 beta estradiol ter uma meia vida curta comparado aos demais ésteres (BURKE *et al.*, 2000; LARSON; BALL, 1992; SALES *et al.*, 2012), estudos demonstram que os seus efeitos na fisiologia reprodutiva das éguas podem persistir por alguns dias após a sua administração. Isso pode ser explicado pela capacidade do hormônio de induzir mudanças epigenéticas em genes relacionados à ovulação e à produção de progesterona, o que leva a uma maior receptividade do trato reprodutivo e, conseqüentemente, à melhora das taxas de fertilidade (GASTAL *et al.*, 2016). Recentemente, um estudo conduzido por SETOGUCHI *et al.*, (2023), examinou os efeitos de várias formas de estrógeno exógeno como o 17 $\beta$ -estradiol, benzoato de estradiol (BE) e cipionato de estradiol (CE), na concentração plasmática de estradiol em éguas em anestro.

O estudo envolveu a administração desses estrógenos em três diferentes doses (10 mg, 6 mg e 4 mg) e analisou a correlação desses resultados com o desenvolvimento de edema endometrial observado em éguas durante o tratamento. A correlação entre concentrações plasmáticas de estradiol e escore de edema foi positiva nos três grupos.

Como resultado também foi relatado que diferente do BE e do CE, o grupo 17 $\beta$  não sofreu acentuado aumento e redução significativa nas concentrações durante o período avaliado, embora o edema tenha aumentado e reduzido. Com base no exposto, o 17-beta estradiol foi escolhido como tratamento por aparentemente apresentar metabolização mais rápida que os

demais estrógenos, além de uma correlação positiva com a formação do edema endometrial.

No que diz respeito à reprodutibilidade da característica de edema baixo na presença de folículo pré-ovulatório, algumas considerações podem ser levantadas. Após a avaliação de oito animais, foi constatado que apenas duas éguas apresentaram essa característica em dois ciclos distintos. Em um dos casos, os ciclos ocorreram consecutivamente nos meses de novembro e dezembro, enquanto no outro caso, houve um intervalo de dois meses entre os ciclos. Diante do fato de que foram analisados diversos outros ciclos, nos quais a ocorrência de edema baixo limitou-se a esses dois ciclos específicos, não é possível afirmar que essa seja uma condição reprodutiva crônica. É mais plausível considerar que esses casos estejam associados a alterações hormonais ou ambientais isoladas. No entanto, é importante ressaltar que essas conclusões podem ser limitadas pela quantidade de dados disponíveis.

## **6 CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos indicam que o tratamento com estradiol em éguas com folículo pré-ovulatório e edema uterino baixo ou ausente apresentou uma taxa de resposta positiva de 50%, ou seja, metade das éguas tratadas apresentaram aumento significativo do edema uterino. Esse resultado sugere que, embora o tratamento com estradiol possa ser eficaz em algumas éguas, ele não é efetivo em todas, o que pode ser influenciado por fatores individuais, como raça, idade, saúde reprodutiva, fisiologia e atuação de hormônios.

No entanto, é importante ressaltar que esses resultados foram obtidos em uma amostra pequena de éguas, o que limita a generalização dos achados para outras populações de éguas. Além disso, a escolha da dosagem de estradiol administrada e o momento de sua administração também podem ter influenciado os resultados. Esses resultados indicam a necessidade de estudos futuros com um maior número de animais para a confirmação desses achados e para a validação do tratamento proposto, os quais já estão em andamento.

## REFERÊNCIAS

- Alves KA, Alves BG, Gastal GDA, de Tarso SGS, Gastal MO, *et al.* (2016) The Mare Model to Study the Effects of Ovarian Dynamics on Preantral Follicle Features. **PLOS ONE** 11(2): e0149693. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149693>.
- Ambrose, D. J., Colazo, M. G., & Kastelic, J. P. (2010). The applications of timed artificial insemination and timed embryo transfer in reproductive management of dairy cattle. **Revista Brasileira De Zootecnia**, 39, 383–392. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300042>.
- Armstrong, D.T., Goff, A.K. and Dorrington, J.H. (1979) in Ovarian Follicular Development and Function (Midgley, A.R. and Sadler, W.A. eds.), pp. 169-182, **Raven Press**, New York.
- AURICHAB, C. Reproductive cycles of horses. **Animal Reproduction Science**, v.124, n.3, p.220-228, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.005>.
- Barbacini, S., Rota, A., Cairoli, F., & Luvoni, G. C. (2015). Relationship between serum estradiol and luteinizing hormone concentrations and the preovulatory follicle diameter in mares. *Theriogenology*, 83(7), 1153-1157. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.12.026.
- Beato M, Klug J. Steroid hormone receptors: an update. **Hum Reprod Update**. 2000 May-Jun;6(3):225-36. DOI: <http://doi.org/10.1093/humupd/6.3.225>. PMID: 10874567.
- BOLLWEIN, H.; WEBER, F.; KOLBERG, B.; STOLLA, R. Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v. 57, p. 2129-2138, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00703-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00703-3).
- BRINSKO, S. P. *et al.* Reproductive physiology of the nonpregnant mare. In. **Manual of Equine Reproduction**. 3. ed. Maryland Heights, MO: Mosby Elsevier, 2010. cap. 2 p.10-18. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-06482-8.00011-9>.
- BURKE, C.R.; DAY, M.L.; BUNT, C.R.; MACMILLAN, K.L. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 1, p. 145, 1 jan. 2000. DOI: 10.2527/2000.781145x.

CHALHOUB, M; CARVALHO, G; FILHO, J.M.S; FILHO, A.L.R; OLIVEIRA, J.V.L. Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen eqüino diluído, resfriado a 20°C e transportado a diferentes momentos da ovulação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**.1996.

CHRISTOFFERSEN, M.; TROEDSSON, M. H. T. Inflammation and fertility in the mare. **Reproduction in Domestic Animals**, Volume 52, Issue S3, Pages 14-20, agosto de 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.13013>.

Choi YH, Varner DD, Love CC, Hartman DL, Hinrichs K. Production of live foals via intracytoplasmic injection of lyophilized sperm and sperm extract in the horse. **Reproduction**. 2011 Oct;142(4):529-38. doi: 10.1530/REP-11-0145. Epub 2011 Aug 16. PMID: 21846810

Crowell-Davis, S. L. (2007). Sexual behavior of mares. **Hormones and Behavior**, 52(1), 12–17. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.020>.

Cuervo-Arango J, Mateu-Sánchez S, Aguilar JJ, Nielsen JM, Etcharren V, Vettorazzi ML, Newcombe JR. The effect of the interval from PGF treatment to ovulation on embryo recovery and pregnancy rate in the mare. **Theriogenology**. 2015 May;83(8):1272-8. doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.01.010. Epub 2015 Jan 16. PMID: 25666044.

Curley, K.O. Jr., Neuendorff, D.A., Lewis, A.W., Cleere, J.J., Welsh, T.H. Jr., & Randel, R.D. (2008). Functional characteristics of the bovine hypothalamic-pituitary-adrenal axis vary with temperament. **Hormones and Behavior**, 53(1), 20-27. doi: 10.1016/j.yhbeh.2007.08.005. PMID: 17916358.

Donadeu, F. X., Schauer, S. N. & Sontakke, S. D. (2012). Involvement of miRNAs in ovarian follicular and luteal development. **Journal of Endocrinology** **215**, 323–334.

Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO, Bergfelt DR, Baerwald AR & Pierson RA2004b Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. **Biology of Reproduction** 71 1195–1201. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.031054>.

GINTHER, O. J. *et al.*. Miniature ponies: 2. Endocrinology of oestrous cycle. **Reproduction, Fertility and Development.**, v. 20, p. 386-390, 2008. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.031054>

GINTHER, O.J. *et al.*. Negative Effect of Estradiol on Luteinizing Hormone Throughout the Ovulatory Luteinizing Hormone Surge in Mares. **Biology of Reproduction**, 77, 543-550, 2007. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.061705>.

GINTHER, O.J. Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects, 2nd ed. Cross Plains, WI: **Equiservices Publishing**, 642p., 1992.

GINTHER, O.J. Ultrasound imaging and reproductive events in the mare. Madison. **EquiServices**. 1986, 377p.

GINTHER OJ, BERGFELT DR, BEG MA, KOT K. Effect of LH on circulating oestradiol and follicular fluid factor concentrations during follicle deviation in cattle. **Reproduction**. 2001 Jul;122(1):103-10. PMID: 11425334.

HAFEZ, E.S.E. & HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7ª ed. brasileira, Manole, 2004.

Hayes KE, Pierson RA, Scraba ST, Ginther OJ. Effects of estrous cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. **Theriogenology**. 1985 Oct;24(4):465-77. doi: 10.1016/0093-691x(85)90053-6. PMID: 16726101.

HARTT, L.S.; CARLING, S.J.; JOYCE, M.M.; JOHNSON, G.A.; VANDERWALL, D.K.; OTT, T.L. Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. **Reproduction**, v.130, p.241-250, 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00533>.

Hillier, S. G., Whitelaw, P. F. & Smyth, C. D. Follicular oestrogen synthesis: the 'two-cell, two-gonadotrophin' model revisited. **Mol. Cell. Endocrinol.** 100, 51–54 (1994). [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(94\)90278-x](https://doi.org/10.1016/0303-7207(94)90278-x).

HONNENS, A.; WEISSER, S.; WELTER, H.; EINSPANIER, R.; BOLLWEIN, H. Relationships between uterine blood flow, peripheral sex steroids, expression of endometrial estrogen receptors and nitric oxide synthases during the estrous cycle in mares. **Journal of Reproduction and Development**, v. 57, n.1, p. 43-48, 2011.

HUGHES JP, STABENFELDT GH, EVAN JW. The oestrous cycle of the mare. **J Reprod Fertil Suppl**. 1975 Oct;(23):161-6. PMID: 1060771.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Rebanho de Equinos (Cavalos). **Censo Agropecuário, 2021**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br>.

J. E. Fortune, S. M. Quirk, REGULATION OF STEROIDOGENESIS IN BOVINE PREOVULATORY FOLLICLES, **Journal of Animal Science**, Volume 66, Issue suppl\_2, January 1988, Pages 1–8, [https://doi.org/10.1093/ansci/66.suppl\\_2.1](https://doi.org/10.1093/ansci/66.suppl_2.1)

KURITA, T.; LEE, K.; COOKE, P.S.; TAYLOR, J.A.; LUBAHN, D.B.; CUNHA, G.R. Paracrine regulation of epithelial progesterone receptor by estradiol in the mouse female reproductive tract. **Biology of Reproduction**, v. 62, p. 821-830, 2000.

LARSON, L. L.; BALL, P. J. H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. **Theriogenology**, Los Altos, v. 38, n. 2, p. 255-267, 1992. DOI: 10.1016/0093-691x(92)90234i.

Mateu-Sánchez, S., Newcombe, J. R., Garcés-Narro, C., & Cuervo-Arango, J. (2016). The period of the follicular phase during which the uterus of mares shows estrus-like echotexture influences the subsequent pregnancy rate. **Theriogenology**, 86(6), 1506-1515. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.05.009. PMID: 27298152.

MCCUE P.M. *et al.*. **Equine Reproduction**. 2nd ed. Ames, IA: Blackwell Publishing, p. 1716-27, 2011.

McCue PM. Hormone Therapy in Clinical Equine Practice. **Vet Clin North Am Equine Pract**. 2016 Dec;32(3):425-434. doi: 10.1016/j.cveq.2016.07.001. PMID: 27810035.

McDowell KJ, Adams MH, Adam CY, Simpson KS. Changes in equine endometrial oestrogen receptor alpha and progesterone receptor mRNAs during the oestrous cycle, early pregnancy and after treatment with exogenous steroids. **J Reprod Fertil**. 1999 Sep;117(1):135-42. doi: 10.1530/jrf.0.1170135. PMID: 10645254.

MCKINNON, A.O.; CARNEVALE, E.M. Ultrasonography. In: Mckinnon, A.O. **Equine Reproduction**., p.211-220. 1993.

McManus, C., Palhão, M. P., Louvandini, H., & Gugel, R. (2009). Thermal stress and animal production. *The Open Veterinary Science Journal*, 3(2), 56-64  
early pregnancy and after treatment with exogenous steroids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 117, p. 135-142, 1999. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1170135>.

MEIRA C. Endocrinologia da Reprodução, Dinâmica Folicular, Superovulação e Transferência de Embriões na Espécie Equina, referente ao **Curso Teórico de Inseminação Artificial e Transferência de Embriões em Equinos**, Botucatu 2008.

MOREL, M. C. G. D. Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management, 2nd Edition. **Institute of Rural Studies University of Wales**, Aberystwyth-UK.383 P. 2003.

MOURA, J. C. A.; MERKT, H. A ultra-sonografia na reprodução equina. 2. ed. Salvador: **Universitária Americana**, 1996.

MOURA, J. C. A.; SIEME, K.; WEITEZE, F. K. Ovulação na égua - Evolução dos conhecimentos ultrassonográficos (parte 1). **A Hora Veterinária**, v. 33, n. 198, p. 45-46, mar./abr. 2014.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two 27 estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, Los Altos, v. 78, n. 3, p. 510–516, 2012. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.02.031.

SAMPER, J. C. EQUINE BREEDING MANAGEMENT AND ARTIFICIAL INSEMINATION, SECOND EDITION. Saunders, an imprint of **Elsevier** Inc.304 p. 2009.

SAMPER, J.C. Ultrasonographic appearance and the use of uterine edema to time ovulation in mares. In: **Proceedings of the 43rd Ann. Conv. Amer. Assoc. Equine Pract.**, p. 41–43, 1997.

SATUÉ, K.; GARDÓN, J. C. A review of the estrous cycle and the neuroendocrine mechanisms in the mare. **Journal of Steroids and Hormonal Science**, Los Angeles, v. 4, n. 2, p. 115-123, 2013. DOI: <http://doi.org/10.4172/2157-7536.1000115>.

Setoguchi LS, Siqueira LM, Lucca LK, Oquendo P, Oquendo F, Nogueira GP, S M Silva E. Plasma estradiol profile after administration of different types of estradiol esters in acyclic mares. **J Equine Vet Sci**. 2023 May 27:104824. doi: 10.1016/j.jevs.2023.104824. Epub ahead of print. PMID: 37247749.

SILVA, E.S.M. *et al.*. Artificial long estrus protocols administered prior to progesterone increase endometrial uterocalina expression in anestrus mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, 103669, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103669>.

Silva ESM, Cuervo-Arango J, de Ruijter-Villani M, Klose K, Oquendo PS, Stout TAE. Effect of the duration of estradiol priming prior to progesterone administration on endometrial gene expression in anestrus mares. **Theriogenology**. 2019 Jun; 131:96-105. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.03.025. Epub 2019 Mar 28. PMID: 30959441.

SIROIS, J.; KIMMICH, T. L.; FORTUNE, J. E. Steroidogenesis by Equine Preovulatory Follicles: Relative Roles of Theca Interna and Granulosa Cells\*. **Endocrinology**, v. 128, n. 2, p. 1159-1166, 1991. DOI: <http://doi.org/10.1210/endo-128-2-1159>.

Troedsson MHT. Equine reproduction. 2nd ed. Iowa, USA: Blackwell Publishing Ltd; 2011. **Endometritis**; p. 2608-19.

WATSON, E. D.; THOMASSEN, R.; NIKOLAKOPOULOS, E. Association of uterine edema with follicle waves around the onset of the breeding season in pony mares. **Theriogenology**, v.59, p.1181-1187, 2003. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)01161-5](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)01161-5).

WATSON, E.D.; SKOLNIK, S.B.; ZANECOSKY, H.Z. Progesterone and estrogen receptor distribution in the endometrium of the mare. **Theriogenology**, v.38, p. 575- 580, 1992. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(92\)90020-r](https://doi.org/10.1016/0093-691x(92)90020-r).

Wrathall JH, Knight PG. Effects of inhibin-related peptides and oestradiol on androstenedione and progesterone secretion by bovine theca cells in vitro. **J Endocrinol**. 1995 Jun;145(3):491-500. doi: 10.1677/joe.0.1450491. PMID: 7636433.