

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

LAÍS ANDRADE BARBOSA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE DOSE ÚNICA DOS DIFERENTES
ÉSTERES DE ESTRADIOL SOBRE O EDEMA ENDOMETRIAL EM
ÉGUAS EM ANESTRO**

**UBERLÂNDIA
2024**

LAÍS ANDRADE BARBOSA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE DOSE ÚNICA DOS DIFERENTES
ÉSTERES DE ESTRADIOL SOBRE O EDEMA ENDOMETRIAL EM
ÉGUAS EM ANESTRO**

Projeto de Pesquisa 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: Prof^ª. Dr^ª. Elisa Sant’Anna Monteiro da Silva

**UBERLÂNDIA
2024**

LAÍS ANDRADE BARBOSA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE DOSE ÚNICA DOS DIFERENTES
ÉSTERES DE ESTRADIOL SOBRE O EDEMA ENDOMETRIAL EM
ÉGUAS EM ANESTRO**

Projeto de Pesquisa 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.

Uberlândia, 26 de Abril de 2024

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva - FAMEV - UFU

Nome – Titulação (sigla da instituição)

Prof^a. Dr^a. Renata Lançoni – FAMEV - UFU

Nome – Titulação (sigla da instituição)

Prof^o. Me. Pedro Sanches Oquendo - GALLOP/Doutorando - UFU

Nome – Titulação (sigla da instituição)

RESUMO

O uso de receptoras acíclicas é uma prática consagrada nos programas de transferência de embriões e é uma alternativa quando há falta de receptoras cíclicas. Para o preparo delas, são utilizados protocolos hormonais que se diferem, principalmente, no tipo, dose e frequência de administração dos estrógenos. Um estudo prévio avaliou o efeito da administração de três tipos de estradiol sobre a concentração plasmática e edema endometrial, em que foram utilizadas três doses consecutivas e as avaliações realizadas a cada 24 horas, sendo que não foi observado o pico do edema do 17β com a frequência de avaliação empregada. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento com dose única dos ésteres 17β -estradiol, benzoato de estradiol e cipionato de estradiol, com frequência maior de avaliação, sobre a intensidade e persistência do edema uterino. Para tal, 15 éguas em anestro estacional foram divididas em 3 grupos, em que receberam dose única de 10 mg de 17β -estradiol (17β , n=5), benzoato de estradiol (BE, n=5) ou cipionato de estradiol (ECP, n=5) no dia 0 (D0). Foram realizadas avaliações ultrassonográficas a partir do D0, a cada 6h até o D0 12h, a cada 12h até o D2, e a cada 24h até observar edema $<1,5$, para a quantificação do edema endometrial. O edema foi classificado em um escore de 0 a 4, onde 0=ausência de edema uterino, 1=edema discreto, 2=edema moderado, 3=edema alto e 4=edema exagerado. Foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis seguido pelo Teste de Dunn para comparações de postos médio, com significância de 5%. Foi observado que o grupo 17β atingiu edema moderado a alto 12 horas após a aplicação hormonal (D0), permanecendo até o D3 ($p<0,05$). No grupo BE, o maior edema foi observado no D1, que permaneceu moderado a alto até o D4 ($p<0,05$). Já no grupo ECP, o maior aumento foi observado no D2, além de observar edema moderado a alto por seis dias após a aplicação do estradiol ($p<0,05$). Desta forma, conclui-se que no grupo 17β foi observado edema moderado a alto 12 horas após a aplicação do hormônio, persistindo até o terceiro dia, o que confirma a hipótese de que o primeiro aumento significativo do edema ocorre antes das 24 horas. Além disso, como esperado, o pico do edema foi observado 48h após a administração do ECP, o qual manteve a intensidade e persistência do edema alto por mais tempo (6 dias).

Palavras-chave: éguas acíclicas; estrógeno; edema uterino.

ABSTRACT

The use of anestrous recipients is a well-established practice in embryo transfer programs and is an alternative when cyclic recipients are unavailable. To prepare them, hormonal protocols are used that differ mainly in the type, dose, and frequency of estrogen administration. A previous study evaluated the effect of administering three types of estradiol on plasma concentration and endometrial edema, using three consecutive doses and evaluations every 24 hours, and did not observe the peak edema of 17β with the evaluation frequency used. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of treatment with a single dose of 17β -estradiol esters, estradiol benzoate, and estradiol cypionate, with higher frequency of evaluation, on the intensity and persistence of uterine edema. For this, 15 seasonally anestrous mares were divided into 3 groups, receiving a single dose of 10 mg of 17β -estradiol (17β , n=5), estradiol benzoate (BE, n=5) or estradiol cypionate (ECP, n=5) on day 0 (D0). Ultrasound evaluations were performed from D0, every 6h until D12h, every 12h until D2, and every 24h until observing edema <1.5 , for endometrial edema quantification. Edema was classified on a score of 0 to 4, where 0=absence of uterine edema, 1=discreet edema, 2=moderate edema, 3=high edema and 4=exaggerated edema. The non-parametric Kruskal Wallis test followed by the Dunn test for median post hoc comparisons, with a significance level of 5%, was applied. It was observed that the 17β group reached moderate to high edema 12 hours after hormonal application (D0), remaining until D3 ($p<0.05$). The highest edema was observed in the BE group on D1, which remained moderate to high until D4 ($p<0.05$). In the ECP group, the highest increase was observed on D2, in addition to observing moderate to high edema for six days after estradiol application ($p<0.05$). Therefore, it is concluded that in the 17β group, moderate to high edema was observed 12 hours after hormone application, persisting until the third day, confirming the hypothesis that the first significant increase in edema occurs before 24 hours. Additionally, as expected, the peak edema was observed 48 hours after ECP administration, which maintained the intensity and persistence of high edema for a longer period (6 days).

Keywords: acyclic mares; estrogen; uterine edema.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	07
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	09
2.1 Sazonalidade reprodutiva.....	09
2.2 Ciclo estral.....	10
2.3 Particularidades uterinas da égua.....	10
2.4 Estradiol e seus ésteres.....	11
2.5 Protocolos hormonais utilizados no preparo de receptoras acíclicas.....	12
3. METODOLOGIA.....	13
3.1 Animais.....	13
3.2 Delineamento experimental.....	14
3.2.1 Tratamentos hormonais.....	14
3.2.2 Palpação retal e avaliações ultrassonográficas.....	14
3.3 Análise estatística.....	16
4. RESULTADOS.....	16
5.1 Edema endometrial.....	16
5. DISCUSSÃO.....	19
6. CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS.....	22

1. INTRODUÇÃO

O setor de equinos situa-se em uma nova fase de crescimento e com maior maturidade, após ter sua expansão nos anos 80, seguida por uma crise nos anos 90, segundo um dos estudos do Complexo do Agronegócio do Cavalo (LIMA e CINTRA, 2016). Devido ao aumento da valorização do cavalo, visto a significativa movimentação econômica de R\$7,5 bilhões (sete bilhões e meio de reais) e a oferta de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos, tornou-se de suma importância o segmento da reprodução para produtores e criadores de equinos (IBGE, 2021).

A maioria das éguas são poliéstricas estacionais de dias longos, apresentando ciclos anovulatórios no outono e inverno (AURICH, 2011). No entanto, nos programas de transferência de embrião (TE), é comum encontrar éguas doadoras apresentando ciclos ovulatórios, principalmente no final do inverno e início do outono, enquanto as receptoras encontram-se em anestro ou transição, devido a características individuais ou mesmo ao manejo alimentar diferenciado oferecido às categorias. Sendo assim, uma das formas de se aumentar a eficiência reprodutiva, mesmo nos períodos de aciclicidade, é utilizar éguas em anestro ou transição estacional como receptoras de embriões. Com esse propósito, é necessário empregar protocolos hormonais a fim de prepará-las para receberem o embrião e garantir a manutenção da gestação (SQUIRES, 1999; ROCHA FILHO *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2014; BOTELHO *et al.*, 2015).

A administração de estrógeno e em seguida de progestágenos é a base desses protocolos, para mimetizar as condições hormonais uterinas em éguas cíclicas e assim aumentar a disponibilidade de receptoras nos programas de TE. A maioria dos protocolos descritos utiliza uma fonte de estradiol (E2) seguido de progesterona (P4) natural ou altrenogest, progesterona sintética que atua nos receptores de P4. Existem diferenças significativas entre eles, principalmente no tipo de estrógeno exógeno utilizado (cipionato de estradiol, benzoato de estradiol e 17 β estradiol), assim como na dosagem e frequência de aplicação (MCKINNON *et al.*, 1988; ROCHA FILHO *et al.*, 2004; GRECO *et al.*, 2012; OLIVEIRA NETO *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2021). Por meio dos tempos de meia-vida distintos, segundo dados obtidos em vacas, é possível entender as diferentes farmacocinéticas entre esses ésteres de estradiol, sendo assim o cipionato de estradiol (CE) possui maior tempo de meia-vida que o benzoato de estradiol (BE), que por sua vez apresenta maior tempo de

meia-vida que o 17β estradiol (17β) (LARSON; BALL, 1992; BURKE *et al.*, 2000; SALES *et al.*, 2012).

Setoguchi *et al.* (2023) descreveram os efeitos gerados pela administração, em três aplicações e iguais dosagens, de diferentes tipos de estrógeno exógeno sobre a concentração plasmática de estradiol em éguas, e estabeleceu relações entre os resultados e o edema endometrial demonstrado durante o tratamento, a cada 24 horas. Em conclusão, foi possível observar que dentre os três grupos, no grupo 17β não houve aumento e redução significativa da concentração plasmática de estradiol quando avaliado a cada 24 horas, ao contrário do que foi observado com o BE e CE. Em vacas, o pico do 17β foi observado após 12 horas (VYNCKIER *et al.*, 1990), porém no trabalho da Setoguchi *et al.* (2023) foi observado a cada 24 horas, que se hipotetiza que o pico tenha acontecido antes das 24 horas, sendo a justificativa deste trabalho avaliar com um intervalo menor que 24 horas para detectar o pico do 17β -estradiol.

Logo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento com dose única de 17β , BE e CE sobre a intensidade e persistência do edema uterino.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sazonalidade reprodutiva

Éguas são poliéstricas estacionais de dias longos, ou seja, apresentam crescimento folicular e ovulação nos períodos do ano com maior luminosidade diária (AURICH, 2011). Ao final da estação de monta, a luminosidade diária diminui de forma significativa, a qual interfere na ciclicidade das fêmeas, que com os meses de baixa luminosidade, a maioria das éguas entram em anestro estacional. (FREEDMAN *et al.*, 1979).

Para que o estímulo aconteça, há uma relação entre a retina, glândula pineal e hipotálamo. Quando se aumenta a luminosidade, ela é captada pela retina que transforma essa luz em impulsos nervosos, que chegam até a glândula pineal que inibe a produção de melatonina. Essa associação afeta diretamente o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (ROCHA *et al.*, 2011). A melatonina apresenta uma atividade de regulação da produção de Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH), o qual é responsável por estimular a liberação de Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), pela hipófise anterior (FITZGERALD *et al.*, 1987; NAGY, 2000).

Nessa perspectiva, nos períodos do ano em que há maior luminosidade diária, no hemisfério sul (primavera-verão), a produção de melatonina é reduzida e cessa a sua atividade inibitória sobre o GnRH, permitindo que o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal atue, liberando FSH e LH (MAULPAUX *et al.* 1999). As gonadotrofinas atuam diretamente no ovário, sendo o FSH responsável pelo recrutamento folicular e o LH pelo crescimento final do folículo e sua posterior ovulação (GINTHER, 2004).

Entre a fase cíclica e o anestro, no hemisfério sul, há as fases de transição que ocorrem no outono (geralmente nos meses de abril a maio) e primavera (geralmente nos meses de setembro a outubro). Nessas fases de transição há presença de vários folículos (ovários polifoliculares), e também é possível encontrar folículos anovulatórios, que crescem até atingirem o tamanho pré-ovulatório, mas não ovulam, que pode ocorrer pela relação LH/FSH - o FSH está alto, mas o LH não. O LH é uma gonadotrofina responsável pela maturação final dos folículos e pela ovulação, consequente do pico de LH e o FSH é responsável pelo recrutamento folicular e em altas concentrações realiza o crescimento inicial dos folículos (FARIAS *et al.*, 2016).

Outra fase do ciclo, é o anestro estacional, que é caracterizado pela baixa atividade ovariana, com presença de ovários menores, com folículos pequenos e ausência de corpo lúteo (CL), não possuindo produção significativa de estrógeno e com isso a fêmea rejeita o macho.

2.2 Ciclo estral

O ciclo estral da égua é dividido em fase folicular e luteal. A fase folicular compreende o estro, o qual apresenta valores basais de P4 e com predomínio de altas concentrações de E2, com aumento da concentração de hormônio luteinizante (LH) (GINTHER, 1992). Além disso, se caracteriza pela presença da aceitação da monta, relaxamento uterino e é o momento no qual ocorre a ovulação, 24 a 48 horas antes do fim do estro. A fase luteal compreende o diestro, com predomínio de P4 (GINTHER, 1992), com aumento de hormônio folículo estimulante (FSH), se caracteriza com a ausência de receptividade ao macho e possui útero com tônus. O ciclo estral dura em média 21 dias, com variação entre 16 e 28 dias (SANTOS *et al.*, 2015), sendo o diestro apresentando duração relativamente mais constante em relação ao estro (duração média estimada de 14,9 dias, variando entre 12 e 16 dias), e o estro, que é o período entre a luteólise e a ovulação, podendo apresentar grande variação em éguas, se estendendo de três a 13 dias, com média de 6 dias (GINTHER, 1992).

2.3 Particularidades uterinas da égua

No período de diestro, a presença elevada de P4 ocorre devido à formação do CL, e seu efeito no útero é responsável pelo aumento do tônus e rigidez cervical. Essas condições são essenciais para garantir uma gestação segura, prevenindo contaminações ascendentes, além de influenciar as secreções uterinas que fornecem nutrientes essenciais para a sobrevivência do embrião (JONES *et al.*, 1991; EIGENHEER-MOREIRA *et al.*, 2007).

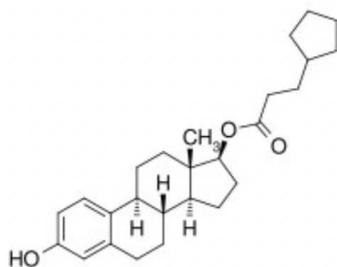
Durante o exame de palpação retal, é desejável que a cérvix esteja firme e o útero apresente formato arredondado e tubular devido ao aumento do tônus. Nas imagens ultrassonográficas, não devem ser observadas dobras endometriais ou presença de fluido no útero. O formato tubular deve ser mantido, com uma diferença mínima entre o miométrio e o endométrio, garantindo ecogenicidade e homogeneidade (SQUIRES E SEIDEL, 1985; HAYES E GINTHER, 1986; ALONSO *et al.*, 2008).

Durante o período de estro, a presença de folículos pré-ovulatórios estimula um aumento na secreção de estrógeno por esses folículos (MOREL, 2003; SATUÉ; GARDÓN, 2013). O estrógeno é o hormônio responsável pelo comportamento de estro expresso pelas éguas nessa fase, caracterizado por comportamentos como a elevação da cauda, exposição da região perineal, micções frequentes com pequenas quantidades de urina e receptividade ao garanhão (CROWELL, 2007). Além disso, o estrógeno também provoca um aumento na vascularização uterina, levando a um extravasamento de líquido para o interstício e causando edema endometrial (BELGFERT, 2000; SATUÉ; GARDÓN, 2013). Essa alteração uterina facilita o transporte de espermatozoides para a tuba uterina e a subsequente fertilização do oócito (BELGFERT, 2000; CROWELL, 2007; SATUÉ; GARDÓN, 2013)

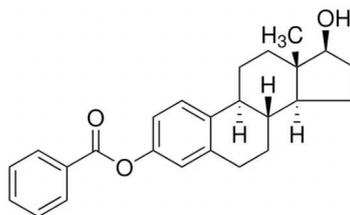
2.4 Estradiol e seus ésteres

Os estrógenos exógenos mais utilizados são o CE, o BE e o 17β (GRECO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014, 2015; OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2018). Esses estrógenos são classificados como hormônios esteroides constituídos por 18 átomos de carbono, contendo um anel fenólico A, responsável pela ligação e seletividade em seus receptores, bem como um anel fenólico D. Um éster é uma cadeia, composta majoritariamente por átomos de carbono, que normalmente se liga ao hormônio esteroide no carbono 17. Através da esterificação do grupo hidroxila do 17β -estradiol, é possível conferir maior resistência desse grupo ao metabolismo, resultando em uma prolongada permanência do composto no organismo, formando os chamados ésteres de estradiol (MAPLETOFT *et al.*, 2002).

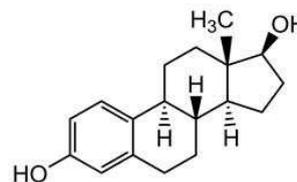
Embora o ovário seja o principal local de produção, os estrógenos também são sintetizados pelas glândulas adrenais e pela placenta (CREPALDI, 2009). Eles são distribuídos por todo o organismo e uma de suas características é a tendência de se acumular no tecido adiposo. Sua metabolização ocorre no fígado, e a sua excreção é feita pela urina e pela bile, na qual a maior parte passa por reabsorção no intestino (MAPLETOFT *et al.*, 2002). A meia-vida de cada um dos compostos depende da polaridade da molécula, que está relacionada ao seu tamanho, bem como à presença dos anéis aromáticos e à simetria das ligações (CREPALDI, 2009).



Cipionato de estradiol
Fonte: Química Alkano



Benzoato de estradiol
Fonte: Merck



17β-estradiol
Fonte: Lipomed

O CE é formado pela esterificação do estradiol com ácido ciclopentano propiônico e apresenta um efeito prolongado em comparação ao 17β e ao BE, pois possui maior tempo de meia-vida (LARSON; BALL, 1992; BURKE *et al.*, 2000; SALES *et al.*, 2012). O BE é formado pela esterificação do carbono 3 e possui um efeito mais curto em relação ao cipionato de estradiol (MAPLETOFT *et al.*, 2002), embora ainda seja maior do que o do 17β. Já esse último, não precisa passar por metabolização e conversão para sua forma biologicamente ativa (LARSON, BALL, 1992).

2.5 Protocolos hormonais utilizados no preparo de receptoras acíclicas

O uso de receptoras acíclicas, tanto em anestro quanto em transição, é uma alternativa para programas de TE devido ao comportamento reprodutivo sazonal das éguas e as diferenças no manejo entre doadoras e receptoras limitam a disponibilidade de receptoras cíclicas ao longo do ano (SILVA *et al.*, 2021). Geralmente, os protocolos hormonais em receptoras acíclicas consistem em administrar estrógeno inicialmente e, posteriormente, progestágenos. O estrógeno mimetiza as condições hormonais de estro encontradas nas éguas cíclicas, enquanto os progestágenos se ligam aos receptores de P4 no endométrio, imitando as condições hormonais encontradas no diestro das éguas cíclicas (MCDOWELL *et al.*, 1997; MCKINNON *et al.*, 2000).

Estudos relataram diferentes tipos de protocolos hormonais em éguas acíclicas, variando principalmente o tipo de estrógeno exógeno utilizado, bem como sua dose e frequência de aplicação (ROCHA FILHO *et al.*, 2004; GRECO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014, 2016, 2017, 2021; OLIVEIRA NETO *et al.*, 2018; SEGABINAZZI *et al.*, 2021).

Já foi estudado a aplicação de estradiol (benzoato de estradiol, cipionato de estradiol ou 17β estradiol) em receptoras acíclicas e, após a observação do edema endometrial, administra-se progesterona entre cinco a oito dias antes da égua receber o embrião, ou altrenogest (progesterona sintética) entre quatro a seis dias antes da transferência (SILVA *et al.*, 2011), além de já ser comum usar a receptora a partir de 4 dias após a P4 (OQUENDO, 2022) visando a obtenção de concentração plasmática adequada no momento da TE. Ambos os tipos de progestágeno mostraram bons resultados no preparo das receptoras acíclicas, e não há diferença na taxa de prenhez entre as receptoras acíclicas (75,9%) e as éguas cíclicas (75%), demonstrando o sucesso desses regimes hormonais (ROCHA FILHO *et al.*, 2004).

Em um estudo comparativo realizado por Greco *et al.* (2012) entre receptoras cíclicas e acíclicas, observou-se uma taxa de prenhez de 44,12% e 57,68%, respectivamente. Nesse estudo, doses decrescentes de cipionato de estradiol (10, 6 e 4 mg) uma vez ao dia, foram utilizadas, seguidas pela aplicação de 1500 mg de progesterona (P4LA) de longa duração, via IM, após a verificação do edema. Um protocolo semelhante foi seguido por Roser *et al.* (2020) em receptoras anovulatórias, com a utilização do cipionato de estradiol como fonte exógena de estrógeno e a aplicação de 1500 mg de progesterona.

Há trabalhos que comprovam a melhor eficácia de determinada dose, hormônio ou protocolo. Um deles conduzido por Silva (2015), na qual a aplicação de 2,5 mg, 5 mg ou 10 mg de BE foram eficazes em causar edema uterino máximo 24 horas após a administração. A dose de 2,5 mg de BE provocou picos de concentração de estradiol similares aos de éguas tratadas com 5 mg, 10 mg e aos de éguas cíclicas, sem elevar a concentração de estrógeno conjugado como observado com as outras doses de BE.

3. METODOLOGIA

3.1 Animais

Foram utilizadas 15 éguas mestiças, com faixa etária entre 3 a 15 anos, e peso entre 350 a 500 kg, no qual foram determinados a partir da cronometria dentária e fita de pesagem. Os animais foram mantidos em pastagem de capim da espécie *Cynodon spp.*, com acesso a água e sal mineralizado *ad libitum*.

O experimento foi realizado entre o final de julho e início de agosto na Fazenda Experimental Glória, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), situado em Uberlândia – Minas Gerais – Brasil.

Todos os procedimentos que envolveram os animais foram realizados de acordo com a submissão e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia, sob o protocolo número 23117.021317/2024-53.

Para participar do experimento, somente éguas em anestro estacional foram selecionadas, ou seja, aquelas que apresentaram ausência de corpo lúteo, de edema endometrial e folículos ovarianos ≤ 20 mm, por pelo menos 21 dias consecutivos.

3.2 Delineamento experimental

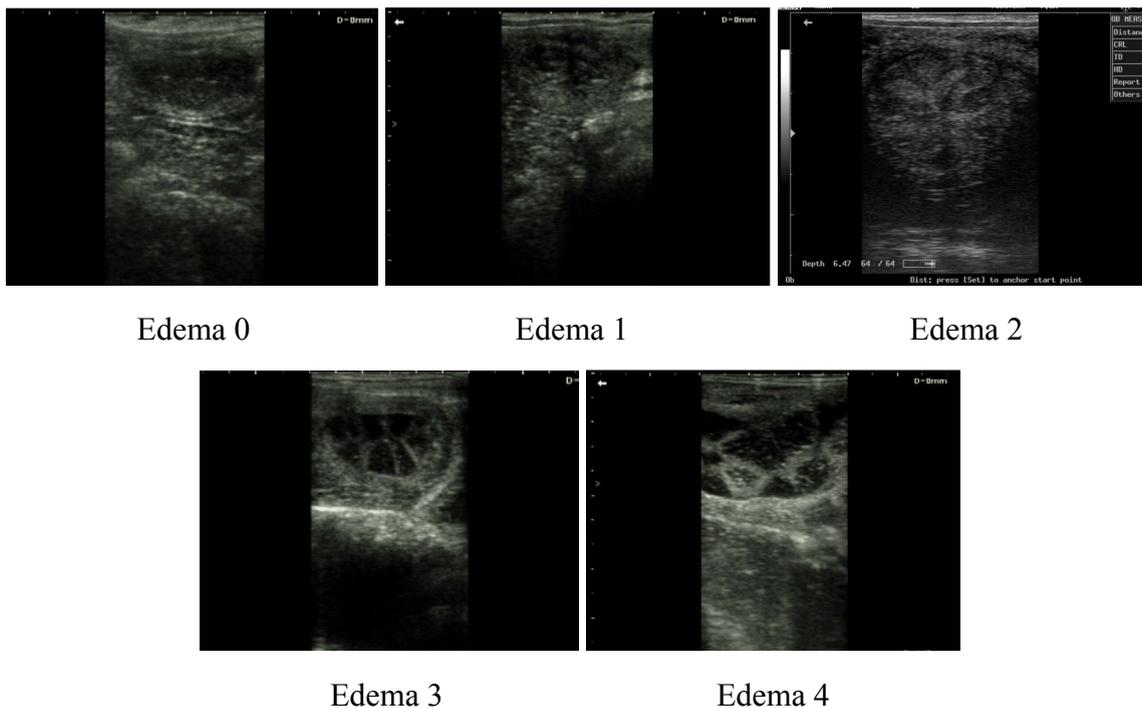
3.2.1 Tratamentos hormonais

As 15 éguas em anestro foram divididas em três grupos homogêneos, para que todos os grupos tivessem proporção semelhante de éguas quanto a idade, escore corporal e presença de potro ao pé. Os grupos foram identificados como: BE (n=5), que recebeu 10 mg de benzoato de estradiol (Ric-BE, Tecnopec, Brasil); ECP (n=5), em que foi administrado 10 mg de cipionato de estradiol (E.C.P, Zoetis, Brasil); e 17β (n=5), que recebeu 10 mg de 17β -estradiol (17beta, Botupharma, Brasil). Todos os hormônios foram administrados por via intramuscular.

3.2.2 Avaliações ultrassonográficas

Em todas as éguas foram realizadas avaliações ultrassonográficas por via transretal diariamente, começando imediatamente antes do primeiro tratamento hormonal no D0 e se estendendo até o edema se caracterizar como baixo (escore menor que 2) após a aplicação de estrógeno.

Durante essas avaliações foram observados os dois ovários, para monitoramento da atividade folicular, bem como o útero, para quantificação do edema uterino. A intensidade do edema endometrial foi classificado em um escore de 0 a 4, com o acréscimo de 0.5 dependendo da intensidade, onde 0=ausência de edema uterino, 1=edema discreto, 2=edema moderado, 3=edema alto e 4=edema exagerado (SETOGUCHI *et al.*, 2023). Todas as avaliações foram realizadas pelo mesmo avaliador, autora deste trabalho.



Imagens: Arquivo pessoal.

FIGURA 1 - Esquema do delineamento experimental adotado.

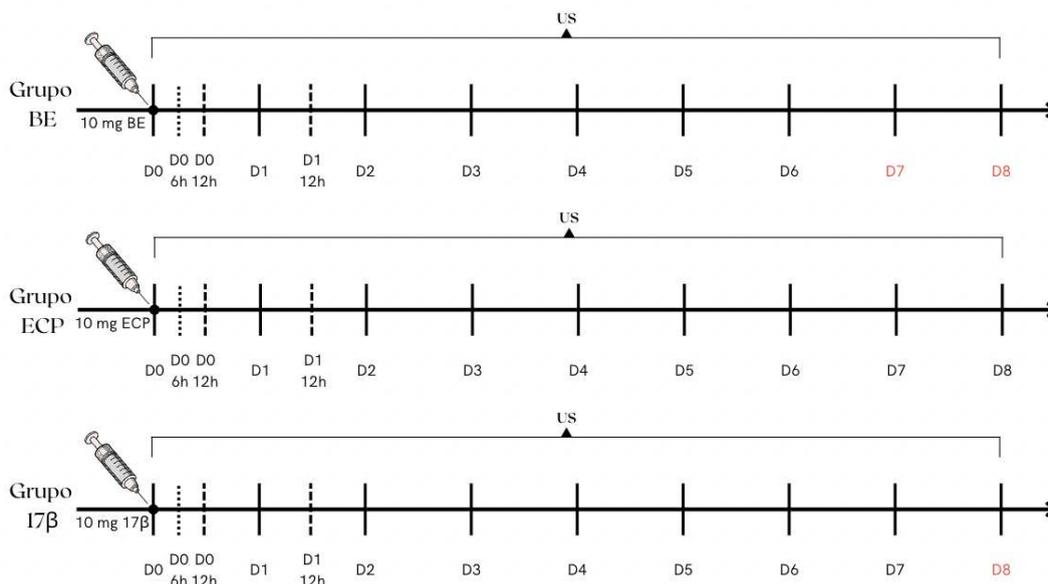


Figura 01: Esquema do delineamento experimental adotado. As seringas indicam a aplicação da dose única de estradiol em cada grupo, no D0; US em chave indica os dias que foram realizados as palpações retais e avaliações ultrassonográficas; os dias em vermelho indicam que naquele determinado grupo não foi realizado a avaliação por meio do ultrassom pois o escore de edema já havia diminuído para 0,5 ou 0. A frequência de avaliação do D0 ao D0 12h foi de 6h; do D1 ao D2 foi de 12h; do D2 ao D8 o intervalo foi de 24h. Fonte: A autora.

3.3 Análise estatística

A comparação do escore de edema endometrial entre os dias dentro do mesmo grupo e entre grupos comparando os dias foi elaborada a partir de medianas e quartis superiores e inferiores e foi feita utilizando o teste não paramétrico de Kruskal Wallis seguido pelo Teste de Dunn para comparações de postos médios. Foi considerada significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi o Programa R®, software livre para computação estatística.

4. RESULTADOS

A mediana dos escores de edema endometrial dos três grupos encontra-se na Figura 2. Após o tratamento de dose única com 10 mg de estradiol, observou-se o aumento do edema uterino, de moderado a alto (classificado como escore de 2 a 3), 12 horas após a aplicação de estrógeno no grupo 17 β ($p < 0,05$), enquanto o grupo BE atingiu edema moderado a alto apenas 24 horas, ou 1 dia após a aplicação do tratamento hormonal ($p < 0,05$). Já o grupo ECP, atingiu edema moderado a alto apenas 48 horas após a aplicação do estrógeno ($p < 0,05$). No grupo BE foi possível observar que no D1 o edema atingiu grau 3 e se manteve alto até o D3. O grupo ECP manteve o escore moderado a alto por mais tempo que os grupos BE e 17 β , até o D6, quando então houve uma diminuição gradativa até o último dia de avaliação ultrassonográfica (D8), já o grupo 17 β , a queda do escore de edema começou no D4 e teve sua diminuição gradativa até seu último dia de avaliação (D7), enquanto o grupo BE teve redução do edema endometrial no D5. Foi possível observar que no D0 6h, o edema no grupo 17 β foi maior que nos grupos BE e ECP ($p < 0,05$), da mesma forma que no D0 12h, sendo o edema no grupo 17 β maior que nos grupos BE e ECP ($p < 0,05$), no entanto, no D6, apenas o edema do grupo ECP foi maior que o grupo BE, mas o grupo 17 β teve edema igual ao grupo ECP e igual ao grupo BE ($p < 0,05$). O edema persistiu, menor ou igual a 1, no grupo ECP nos dias 7 e 8, porém como não houve dados nos grupos 17 β e BE não possibilitou a análise estatística. Não houve análise comparativa em nenhum dos outros dias comparados entre os diferentes grupos ($p > 0,05$).

FIGURA 2 - Escores de edema nos grupos BE, 17 β e ECP.

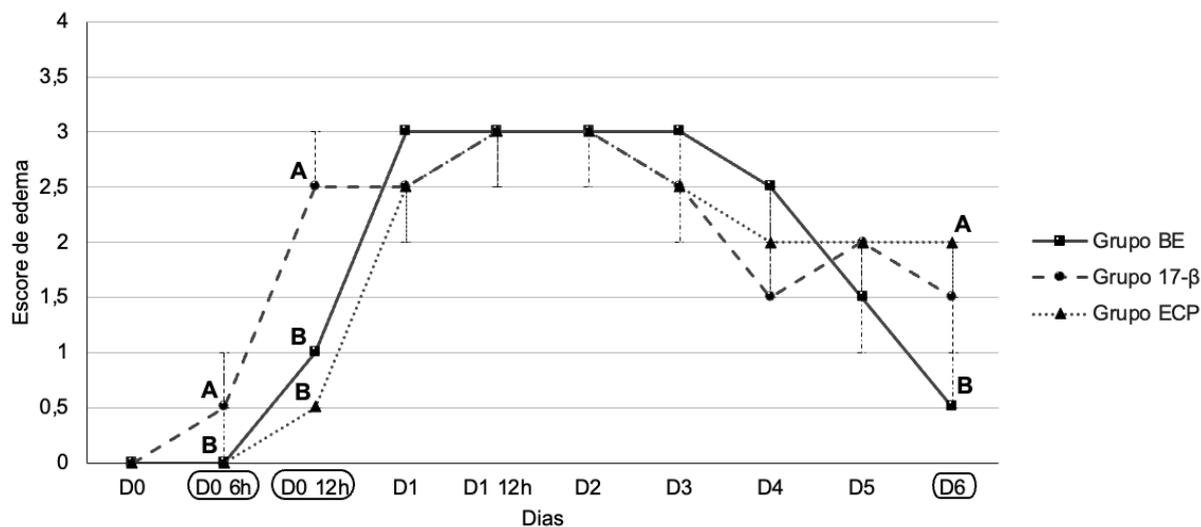


Figura 02: Representação gráfica das curvas do escore de edema endometrial nos grupos BE, 17 β e ECP, elaborado a partir das medianas e quartis superiores e inferiores, obtidos para cada dia de avaliação ultrassonográfica. Cada grupo recebeu dose única de 10 mg de benzoato de estradiol, 17 β -estradiol, cipionato de estradiol, no dia D0, respectivamente. Os dias circulados representam os dias que houveram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre grupos. Da mesma forma, as diferentes letras maiúsculas atribuídas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos em um mesmo dia de tratamento. Foram realizados o teste não paramétrico de Kruskal Wallis seguido pelo Teste de Dunn. Fonte: A autora.

Quando compara-se dias dentro de um mesmo grupo, também é possível observar que houve diferença estatística ($p < 0,05$). No grupo BE, houve diferença estatística entre o D0 e o D0 12h, sendo este último, o dia do primeiro aumento do escore de edema endometrial. No D1, o edema foi maior, significativamente, que o D0 12h. E por fim, D3 foi estatisticamente diferente do D4, com uma diferença de 0,5 de escore de edema ($p < 0,05$) (Figura 3). No grupo 17 β , o D0 foi diferente estatisticamente do D0 12h, sendo este último, o dia do primeiro aumento do escore de edema endometrial. O D2 foi diferente estatisticamente do D3, assim como o D5, que também foi diferente estatisticamente do D3 ($p < 0,05$) (Figura 4). No grupo ECP, houveram menos diferenças. Houve diferença estatística entre o D0 e D1, visto que este último teve escore de edema maior que o D0. E D2 foi diferente estatisticamente do D1, visto que em 24 horas, o edema foi maior no segundo dia ($p < 0,05$) (Figura 5). Nos outros dias não foram observadas diferenças estatísticas entre os dias dentro de um mesmo grupo ($p > 0,05$).

FIGURA 3 - Escores de edema do grupo BE.

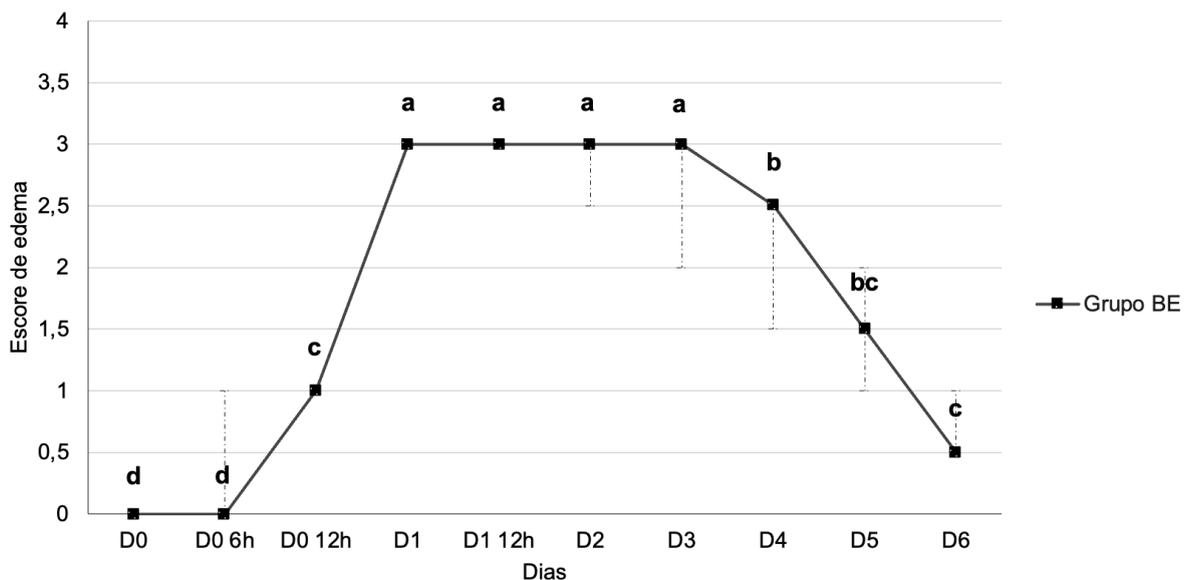


Figura 03: Representação gráfica das curvas do escore de edema endometrial do grupo BE, elaborado a partir das medianas e quartis superiores e inferiores, obtidos para cada dia de avaliação ultrassonográfica. O grupo BE recebeu dose única de 10 mg de benzoato de estradiol. As diferentes letras atribuídas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias de avaliações realizadas pelo ultrassom dentro de um mesmo grupo, sendo esse, o grupo BE. Foram realizados o teste não paramétrico de Kruskal Wallis seguido pelo Teste de Dunn. Fonte: A autora.

FIGURA 4 - Escores de edema do grupo 17 β .

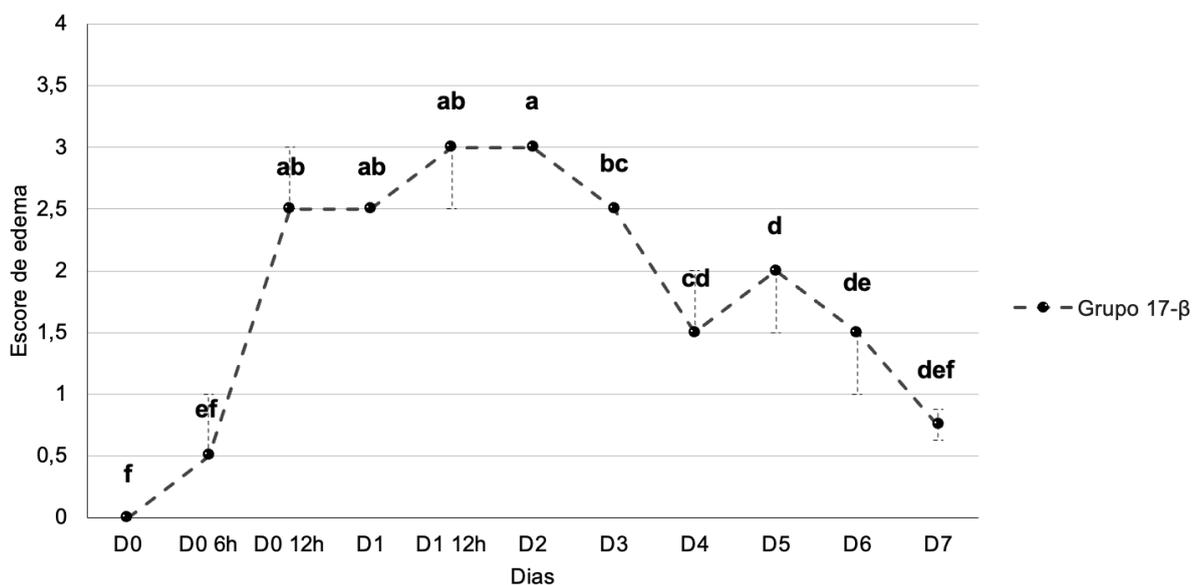


Figura 04: Representação gráfica das curvas do escore de edema endometrial do grupo 17 β , elaborado a partir das medianas e quartis superiores e inferiores, obtidos para cada dia de avaliação ultrassonográfica. O grupo 17 β recebeu dose única de 10 mg de 17 β -estradiol. As diferentes letras atribuídas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias de avaliações realizadas pelo ultrassom dentro de um mesmo grupo, sendo esse, o grupo 17 β . Foram realizados o teste não paramétrico de Kruskal Wallis seguido pelo Teste de Dunn. Fonte: A autora.

FIGURA 5 - Escores de edema do grupo ECP.

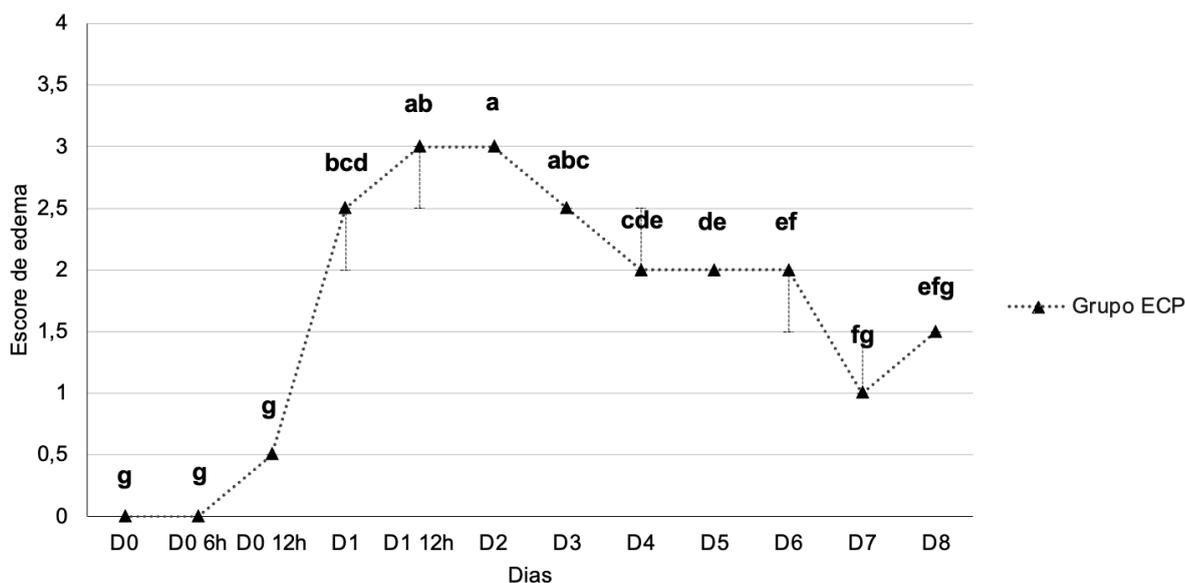


Figura 05: Representação gráfica das curvas do escore de edema endometrial do grupo ECP, elaborado a partir das medianas e quartis superiores e inferiores, obtidos para cada dia de avaliação ultrassonográfica. O grupo ECP recebeu dose única de 10 mg de cipionato de estradiol. As diferentes letras atribuídas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias de avaliações realizadas pelo ultrassom dentro de um mesmo grupo, sendo esse, o grupo ECP. Foram realizados o teste não paramétrico de Kruskal Wallis seguido pelo Teste de Dunn. Fonte: A autora.

5. DISCUSSÃO

O tipo de estradiol a ser utilizado, tempo de tratamento hormonal e a melhor dose são dados necessários bastante estudados para a otimização do uso de receptoras acíclicas nos programas de transferência de embriões em éguas, visto que no começo da estação de monta, as receptoras cíclicas são mais limitadas devido ao comportamento sazonal reprodutivo das éguas e as diferenças de manejo entre doadoras e receptoras (SQUIRES *et al.*, 1999). Para a solução da disponibilidade de receptoras cíclicas, a utilização de protocolos hormonais que consistem em aplicações de estrógeno e, posteriormente, de progesterona, têm sido realizadas em receptoras acíclicas. O presente trabalho, é o primeiro estudo que avalia a intensidade e persistência do edema endometrial usando três diferentes tipos de estrógeno, sendo eles o benzoato de estradiol, o 17β -estradiol e o cipionato de estradiol, utilizando dose única, avaliando com intervalo menor que 24 horas.

Segundo Setoguchi *et al.* (2023), a administração de um total de 20 mg de ésteres de estradiol, os mesmos usados no atual trabalho, em três doses decrescentes (10 mg, 6 mg e 4

mg), teve como resultado o aumento do edema endometrial em escore 3 no D1, 24 horas após a primeira aplicação, nos grupos BE e CE. Já o grupo 17 β , teve aumento do edema no mesmo escore apenas no D2, 48 horas após a primeira aplicação do hormônio. O grupo CE permaneceu com o escore de edema acima de 2, considerado moderado a alto, até o sétimo dia de avaliação, enquanto o grupo BE permaneceu até o D5, e o grupo 17 β foi o primeiro a ter uma redução significativa do seu edema, no quinto dia de avaliação, com escore de edema 1,5.

O presente trabalho corrobora com esses resultados, visto que neste trabalho as avaliações iniciaram a cada 6 horas, alterando-as para 12 horas e só a partir do D2 o intervalo de avaliações passou a ser 24 horas, sendo possível identificar o aumento do escore de edema antes das 24 horas. No caso do grupo 17 β , atingiu edema alto a moderado 12 horas após a aplicação do hormônio e permanecendo alto até o terceiro dia. Os grupos BE e ECP tiveram comportamento de aumento do edema bem parecidos, começando aumentar seu escore no D0 12h, porém atingindo edema alto a moderado 24 horas após a aplicação de estradiol. No entanto, os dois grupos, BE e ECP, tiveram a redução de 1 dia de duração de edema alto a moderado em relação ao estudo de Setoguchi *et al.* (2023), no qual o grupo BE teve permanência até o D4 e o grupo ECP até o D6, sendo que no estudo citado, o grupo BE teve permanência até o D5 e o grupo ECP até o D7. Essa redução se justifica pelo uso de aplicação única do hormônio, visto que no estudo citado foram administradas três doses decrescentes, totalizando uma dose duas vezes maior que a do presente trabalho.

A detecção do pico do 17 β -estradiol, justificativa deste trabalho, torna cada vez mais facilmente exequíveis os protocolos para preparo de receptoras acíclicas, em razão da determinação de edema moderado a alto 12 horas após a aplicação de uma única dose de 10 mg de hormônio, assim como de sua persistência até o terceiro dia. Em um caso prático de trabalho a campo, sugere-se o uso deste hormônio quando se há urgência de sincronizar doadoras e as receptoras, assim utilizando-se do melhor dia da diferença da ovulação da receptora em relação à doadora na janela de sincronização, uma vez que com a única aplicação de 10 mg de 17 β , após 12 horas a égua irá apresentar edema moderado a alto e permanecerá até o terceiro dia, não sendo preciso repetir a dosagem, já que mantém seu edema moderado a alto até o terceiro dia.

Essa permanência por um grande tempo de exposição do útero ao estradiol, como do grupo ECP, concorda com o estudo realizado por Cuervo-Arango *et al.* (2018) que demonstrou correlação positiva entre a duração do estro em éguas receptoras cíclicas e a taxa de prenhez subsequente, se tornando relevante para a fertilidade da égua. Sendo assim, a

persistência de edema alto a moderado até o seu sexto dia após a aplicação única de 10 mg de ECP se torna uma ótima alternativa para os protocolos de TE, visto que há o menor manejo com a égua e uma correlação positiva da maior duração do estro com a taxa de prenhez. Sugere-se que o ECP seja um hormônio mais adequado para o preparo de receptoras acíclicas, pois segundo Silva *et al.* (2019) quando o tempo de exposição ao estrógeno é maior, há maior expressão endometrial de uterocalina, uma proteína responsável pelo transporte de nutrientes ao embrião na fase inicial de vida. Ou seja, além de aumentar a taxa de prenhez e a expressão endometrial da uterocalina, é uma sugestão de protocolo mais prático e aplicável a campo.

Em um estudo realizado por Maran (2023), ao avaliar o edema e tônus uterinos em éguas acíclicas tratadas com 20 mg de cipionato de estradiol e progesterona em dois grupos, sendo eles um grupo estro longo e outro estro curto, foi possível concluir que no grupo estro longo o edema permaneceu moderado a alto do D2 ao D7, com duração de 6 dias, assim como a permanência do edema do grupo ECP do presente trabalho, além de que o edema demonstrou aumento significativo 24 horas após a aplicação. Sendo assim, sugere-se que não há necessidade de administrar uma dose de 20 mg de ECP, visto que neste trabalho, a dose única de 10 mg de ECP teve a mesma persistência de edema moderado a alto e o mesmo aumento significativo de 24 horas após a aplicação, favorecendo o uso de uma dose menor (10 mg), reduzindo a necessidade de repetir doses para alcançar o edema moderado a alto.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que no grupo 17 β foi observado edema classificado como moderado a alto 12 horas após a aplicação do hormônio e que persistiu até o terceiro dia após a aplicação da dose única. Com isso, foi possível confirmar a hipótese que o primeiro aumento significativo do edema acontece antes das 24 horas no grupo 17 β . Além disso, sugere-se que o ECP seja um hormônio mais adequado para o preparo de receptoras acíclicas, por manter a intensidade e persistência do edema alto por mais tempo após a aplicação única, o que estudos prévios mostraram ser benéfico para taxas de prenhez. Por fim, é necessário realizar a dosagem da concentração plasmática de estradiol e correlacionar com o edema endometrial, para ter uma melhor compreensão sobre o comportamento desses hormônios.

REFERÊNCIAS

ALONSO MA, FLEURY P, ALVARENGA MA. Use of day 3 postovulation embryo transfer recipient mares. **Reprod Domest Anim**, v.43, p.98, 2008.

ARRUDA, Rubens Paes de *et al.* Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões eqüinos?. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, p. 233-239, 2001.

AURICH, C. Reproductive cycles of horses. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.124, p.220-228, 2011.

BOTELHO, J. H. V. *et al.* Hormone supplementation protocol using estradiol benzoate and long-action progesterone is efficient in maintaining pregnancy of anovulatory recipient mares during autumn transitional phase. **Animal Reproduction Science, Amsterdam**, v. 152, p. 39-43, 2015. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.12.014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432014004114?via%3Dihub>. Acesso em: 25 mai. 2023.

BURKE, C. R. *et al.* 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.

CUERVO-ARANGO, J. E. & NEWCOMBE J. R. Cloprostenol in equine reproductive practice: something more than a luteolytic drug. **Reproduction in Domestic Animals**, 45:8-11, 2010.

CUERVO-ARANGO, J. E. *et al.* The effect of the interval from PGF treatment to ovulation on embryo recovery and pregnancy rate in the mare. **Theriogenology**, Stoneham, v.83, p.1272- 1278, 2015.

CUERVO-ARANGO, J. E. *et al.* Likelihood of pregnancy after embryo transfer is reduced in recipient mares with a short preceding oestrus. **Equine Vet J**. v.50(3), p.386-90, 2018.

CREPALDI, G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. 2009. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde17122009-133943/publico/Gabriel_Armond_Crepaldi.pdf. Acesso em: 25 mai. 2023.

CROWELL-DAVIS, Sharon L. Sexual behavior of mares. **Hormones and behavior**, v. 52, n. 1, p. 12-17, 2007.

DE LAVOR J, ALONSO MA, PIVATO I, OLIVEIRA RA. Avaliação de receptoras para transferência de embrião em equinos. **Braz J Equine Med**, v.54, p.18-26, 2014.

FARIAS, L.D. *et al.* Indução da ovulação em éguas: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.40, n.1, p.17-21, 2016.

FITZGERALD, B. P. *et al.* Changes in LH pulse frequency and amplitude in intact mares during the transition into the breeding season. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 79, n. 2, p. 485-493, 1987. DOI: 10.1530/jrf.0.0790485. Disponível em: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/79/2/jrf_79_2_019.xml. Acesso em: 28 mai. 2023.

FREEDMAN, L. J; GARCIA, M. C.; GINTHER, O. J. Influence of Photoperiod and Ovaries on Seasonal Reproductive Activity in Mares. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 20, n. 3, p. 567-574, 1979. DOI: 10.1095/biolreprod20.3.567. Disponível em: <https://academic.oup.com/biolreprod/article/20/3/567/2767791>. Acesso em: 26 mai. 2023.

GINTHER O.J.; BERGFELT D.R. 1993. Growth of animal follicles and concentrations of FSH during the equine estrous cycles. **J. Reprod. Fertil.** 99:105-111.

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

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus. **Theriogenology**, v. 21, n. 3, p. 505-516, 1984.

GINTHER, O. J; GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L.; BELGFERT, D. R.; BAERWALD, A. R. *et al.* Comparative study of the dynamics of follicular waves in mare and women. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 71, n. 4, p. 1195-1201, 2004c. DOI: 10.1095/biolreprod.104.031054. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2891974/>. Acesso em: 15 mai. 2024.

GRECO, G. M. *et al.* Use of long-acting progesterone to acyclic embryo recipient mares. **Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa**, v. 41, n. 3, p. 607-611, 2012.

HAYES KEN, GINTHER OJ. Role of progesterone and estrogen in development of uterine tone in mares. **Theriogenology**, v.25, p.581-590, 1986.

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

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo agropecuário 2021. **Rebanho de equinos (Cavalos)**. Brasil: IBGE, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br>. Acesso em: 28 mai. 2023.

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)90234-i. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X9290234I?via%3Dihub>. Acesso em: 25 maio 2023.

LIMA, R. A. de S. e CINTRA, A. G. Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. 2016. Brasília: MAPA. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anos-anteriores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo/view>. Acesso em: 08 maio 2024.

MALPAUX, B. *et al.* Melatonin and the seasonal control of reproduction. **Reprod Nutr Dev**;39:355-366, 1999.

MAPLETOFT, R. J. *et al.* Estrogen esters to synchronize follicular wave emergence and ovulation in CIDR-treated cattle. In: **Proceedings of the Annual Convention of the American Embryo Transfer Association**. 2002. p. 27-38.

MARAN, Arthur Pelegi. Avaliação de edema e tônus uterinos em éguas acíclicas tratadas com cipionato de estradiol e progesterona. 2023. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2024.

MATEU-SÁNCHEZ, S. *et al.* The period of the follicular phase during which the uterus of mares shows estrus-like echotexture influences the subsequent pregnancy rate. **Theriogenology**, Stoneham, v.86, p.1506-1515, 2016.

MCKINNON, A. O; SQUIRES, E. L. Embryo transfer and related Technologies. In: **Current therapy equine reproduction**. 2. ed. [S. l.]: W.B. Saunders, 2007. cap. 51, p. 319-334.

MOREL, M. C. G. D. **Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management**. 2. ed. New York: CABI Publishing, 2003. 28 p.

NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60-61, p. 245-62, 2000. DOI: 10.1016/s0378- 4320(00)00133-0. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432000001330?via%3Dihub>. Acesso em 28 mai. 2023.

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

OQUENDO, Pedro Sanches *et al.* Use of Estrogen Before Progesterone Improves Embryo Survival in Acyclic Recipient Mares: Preliminary Results. **SSRN**, 2022 Disponível em : <https://ssrn.com/abstract=4075632> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4075632>. Acesso em: 28 mai. 2023.

ROCHA, R. M. P., *et al.* Melatonina e reprodução animal: implicações na fisiologia ovariana. **Acta Veterinaria Brasilica**, 5(2), 147-157, 2011.

ROCHA-FILHO, A. N. *et al.* 2004. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Anim. Reprod.**, 1: 91–95. Squires EL, Carnevale EM, McCue PM, Bruemmer JE. 2003. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**, 59: 151–170.

SALES, J. N. S. *et al.* 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. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X12001422?via%3Dihub>. Acesso em: 25 mai. 2023.

SANTOS, V. G. *et al.* Long-term characteristics of idiopathic persistent corpus luteum in the mare. **Theriogenology**, Stoneham, v.84, p.242-251, 2015.

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: 10.4172/2157-7536.1000115. Disponível em: <https://www.longdom.org/open-access/a-review-of-the-estrous-cycle-and-the-neuroendocrine-mechanisms-in-the-mare-2157-7536.1000115.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2024..

SEGABINAZZI, L. G. T. M. *et al.* Use of Intravaginal Progesterone-Releasing Device Results in Similar Pregnancy Rates and Losses to Long-Acting Progesterone to Synchronize Acyclic Embryo Recipient Mares. **Veterinary Sciences**, v. 8, p.190, 2021.

SETOGUCHI, L. S. *et al.* Plasma Estradiol Profile After Administration of Different Types of Estradiol Esters in Acyclic Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 127, p. 104824, 2023.

SILVA, E. S. M. *et al.* Comparison of different regimens of estradiol benzoate treatments followed by long-acting progesterone to prepare noncycling mares as embryo recipients. **Theriogenology**, v. 86, n. 7, p. 1749-1756, 2016.

SILVA E. S. M. *et al.* Administration of 2.5 mg of estradiol followed by 1.500 mg of progesterone to anovulatory mares promote similar uterine morphology, hormone concentrations and molecular dynamics to those observed in cyclic mares. **Theriogenology**, v.97, p.159 - 169, 2017.

SILVA, E. S. M. *et al.* Effect of the duration of estradiol priming prior to progesterone administration on endometrial gene expression in anestrous mares. **Theriogenology**, v. 131, p. 96-105, 2019.

SILVA, E. S. M. *et al.* Artificial long estrus protocols administered prior to progesterone increase endometrial uterocalin expression in anestrous mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 103, p. 103669, 2021.

SILVA, E. S. M. **Efeitos da administração de estradiol e progesterona sobre a concentração hormonal e expressão endometrial dos receptores de estrógeno e progesterona em éguas receptoras acíclicas.** 2015. 79 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/140226>. Acesso em: 28 mai. 2023.

SQUIRES EL, SEIDEL GE. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction and biotechnology laboratory**, Colorado State University, Bulletin n.8, 1985.

SQUIRES, E. L; MCCUE, P. M; VANDERWALL, D. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, Los Altos, v. 51, n. 1, p. 91-104, 1999. DOI: 10.1016/s0093-691x(98)00234-9. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X98002349?via%3Dihub> . Acesso em: 25 mai. 2023.

VYNCKIER, L. *et al.* Plasma estradiol-17 β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17 β benzoate and estradiol-17 β cypionate-a preliminary study. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 13, n. 1, p. 36-42, 1990.