

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ISABELLA ALVES LUCINDO

**EFEITO DO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO AO ESTRÓGENO PRÉVIA À
PROGESTERONA SOBRE A HISTOMORFOMETRIA DO ENDOMÉTRIO DE
ÉGUAS CÍCLICAS E ACÍCLICAS**

Uberlândia - MG

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ISABELLA ALVES LUCINDO

**EFEITO DO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO AO ESTRÓGENO PRÉVIA À
PROGESTERONA SOBRE A HISTOMORFOMETRIA DO ENDOMÉTRIO DE
ÉGUAS CÍCLICAS E ACÍCLICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva.

Coorientador: Leonardo de Mendonça Siqueira

Uberlândia - MG

2025

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

L938	Lucindo, Isabella Alves, 2004-
2025	EFEITO DO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO AO ESTRÓGENO PRÉVIA À PROGESTERONA SOBRE A HISTOMORFOMETRIA DO ENDOMÉTRIO DE ÉGUAS CÍCLICAS E ACÍCLICAS [recurso eletrônico] / Isabella Alves Lucindo. - 2025. Orientadora: Elisa Sant'Anna Monteiro Silva. Coorientador: Leonardo de Mendonça Siqueira. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Medicina Veterinária. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia. 1. Veterinária. I. Silva, Elisa Sant'Anna Monteiro, 1985-, (Orient.). II. Siqueira, Leonardo de Mendonça, 1998-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Medicina Veterinária. IV. Título. CDU: 619

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

ISABELLA ALVES LUCINDO

**EFEITO DO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO AO ESTRÓGENO PRÉVIA À
PROGESTERONA SOBRE A HISTOMORFOMETRIA DO ENDOMÉTRIO DE
ÉGUAS CÍCLICAS E ACÍCLICAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva.

Coorientador: Leonardo de Mendonça Siqueira.

Área de concentração: Reprodução Animal

Uberlândia, 19 de dezembro de 2025

Banca Examinadora:

Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva – Doutora (FMVZ - UFU)

Leonardo de Mendonça Siqueira – Mestrando (FMVZ - Unesp)

Marcelo Emílio Beletti – Pós-doutorado (ICBIM - UFU)

Aos meus pais, pois tudo o que alcanço traz um traço meu e um legado inteiro de
você.

RESUMO

O uso de éguas acíclicas como receptoras constitui alternativa para ampliar a disponibilidade de fêmeas em programas de transferência de embriões (TE). Protocolos à base de estrógeno e progesterona são empregados para o preparo do endométrio, e a duração da exposição estrogênica pode influenciar a receptividade uterina. Este estudo avaliou os efeitos de diferentes períodos de exposição ao cipionato de estradiol (ECP) antes da progesterona de longa ação (P4 LA) sobre a histomorfometria endometrial de éguas. Dezesesseis éguas em anestro foram submetidas a tratamentos com ECP por sete dias (Estro Longo - EL, n=5), por dois dias (Estro Curto - EC n=5), ou receberam apenas P4 LA (Sem Estro - SE, n=6), e posteriormente foram avaliadas em fase cíclica e classificadas conforme a duração do estro (Estro Curto Cíclico - ECC n=6, Estro Longo Cíclico - ELC n=6). Biópsias uterinas foram coletadas quatro dias após a administração da progesterona nas éguas acíclicas, ou após a ovulação nas éguas cíclicas, processadas pelo método clássico de inclusão em parafina e coradas por Hematoxilina e Eosina (HE), posteriormente analisadas quanto à altura do epitélio luminal (AEL), altura do epitélio glandular (AEG), espessura endometrial (EE) e densidade glandular (DG). Para a análise estatística, os dados foram organizados de diferentes maneiras. Inicialmente, foram realizadas comparações entre todos os grupos juntos EL (n = 5), EC (n = 5), ELC (n = 5), ECC (n = 5) e SE (n = 6). Posteriormente, foram agrupados quanto presença ou duração de estro, independentemente da ciclicidade EL (Cíclica + Acíclica - C+AC, n = 10), EC (Cíclica + Acíclica - C+AC (n = 10) e SE (n = 6), em seguida foram reorganizados e comparados entre éguas cíclicas (ELC + ECC, n = 10), acíclicas (EL + EC + SE, n=16) e acíclicas tratadas com estradiol (EL + EC, n = 10), independentemente da duração do estro. Quando os grupos foram organizados de acordo com a presença e a duração do estro, observou-se que, para a AEL, os grupos EL C+AC e EC C+AC apresentaram valores superiores ao grupo SE. Em relação à AEG, o grupo EL C+AC também apresentou valores superiores ao grupo SE. Na comparação entre os cinco grupos, verificou-se que a AEL foi maior nos grupos ECC e ELC em relação ao grupo SE. A AEG apresentou valores superiores nos grupos ELC e EL quando comparados ao grupo ECC. Quanto à DG, o grupo ECC apresentou valores mais elevados em comparação aos grupos SE e ELC. Não foram observadas diferenças significativas na espessura endometrial (EE) entre os grupos avaliados. De forma geral, a maior exposição ao estrógeno promoveu aumento da altura do epitélio luminal e glandular em comparação às

éguas sem estro, sem efeito sobre a espessura endometrial. Esses achados evidenciam o papel modulador do estrógeno sobre o epitélio endometrial, contribuindo para a compreensão do preparo uterino em éguas receptoras em programas de transferência de embriões.

Palavras-chave: Égua acíclica, Endométrio, Hormônios, Histomorfometria

ABSTRACT

The use of acyclic mares as recipients represents an alternative to increase the availability of females in embryo transfer (ET) programs. Estrogen- and progesterone-based protocols are used for endometrial preparation, and the duration of estrogen exposure may influence uterine receptivity. This study evaluated the effects of different periods of exposure to estradiol cypionate (ECP) prior to long-acting progesterone (LA P4) on the endometrial histomorphometry of mares. Sixteen anestrous mares were subjected to treatments with ECP for seven days (Long Estrus - LE, n=5), for two days (Short Estrus - SE n=5), or received only LA P4 (No Estrus - NE, n=6), and were subsequently evaluated during the cyclic phase and classified according to estrus duration (Cyclic Short Estrus - CSE n=6, Cyclic Long Estrus - CLE n=6). Uterine biopsies were collected four days after progesterone administration in acyclic mares, or after ovulation in cyclic mares, processed using the classic paraffin-embedding method and stained with Hematoxylin and Eosin (HE), and subsequently analyzed for luminal epithelial height (LEH), glandular epithelial height (GEH), endometrial thickness (ET), and glandular density (GD). For statistical analysis, the data were organized in different ways. Initially, comparisons were performed among all groups together LE (n = 5), SE (n = 5), CLE (n = 5), CSE (n = 5), and NE (n = 6). Subsequently, they were grouped according to the presence or duration of estrus, regardless of cyclicity LE (Cyclic + Acyclic - C+AC, n = 10), SE (Cyclic + Acyclic - C+AC (n = 10), and NE (n = 6), and then reorganized and compared among cyclic mares (CLE + CSE, n = 10), acyclic mares (LE + SE + NE, n=16), and acyclic mares treated with estradiol (LE + SE, n = 10), regardless of estrus duration. When the groups were organized according to the presence and duration of estrus, it was observed that, for LEH, the LE C+AC and SE C+AC groups showed higher values than the NE group. Regarding GEH, the LE C+AC group also showed higher values than the NE group. In the comparison among the five groups, LEH was greater in the CSE and CLE groups compared to the NE group. GEH showed higher values in the CLE and LE groups when compared to the CSE group. Regarding GD, the CSE group presented higher values compared to the NE and CLE groups. No significant differences were observed in endometrial thickness (ET) among the evaluated groups. Overall, greater exposure to estrogen promoted an increase in luminal and glandular epithelial height compared to mares without estrus, with no effect on endometrial thickness. These findings highlight the modulatory role of estrogen on the endometrial epithelium,

contributing to the understanding of uterine preparation in recipient mares in embryo transfer programs.

Keywords: Acyclic mare, Endometrium, Hormones, Histomorphometry

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TE	Transferência de Embrião
ECP	Cipionato de Estradiol
P4LA	Progesterona de Longa Ação
EL	Estro Longo
EC	Estro Curto
SE	Sem Estro
EL C	Estro Longo Cíclico
EC C	Estro Curto Cíclico
HE	Hematoxilina e Eosina
AEL	Altura de Epitélio Luminal
AEG	Altura de Epitélio Glandular
EE	Espessura Endometrial
DG	Densidade Glandular
C +AC	Cíclica + Acíclica
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
LH	Hormônio Luteinizante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
BE	Benzoato de Estradiol

SUMÁRIO

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	8
2.	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1.	Sazonalidade Reprodutiva das Éguas	10
2.2.	Fisiologia do ciclo estral da égua.....	11
2.3.	Ações do Estrógeno e Progesterona sobre o Endométrio	12
2.4.	Relação da duração do estro com a fertilidade	13
2.5.	Histomorfometria.....	14
3.	METODOLOGIA	16
3.1.	Animais e Procedimento Ético.....	16
3.2.	Grupos Experimentais e Protocolos Hormonais	16
3.3.	Coleta das Biópsias Uterinas	17
3.4.	Processamento histológico e Preparação das Lâminas	17
3.5.	Variáveis histomorfométrica avaliadas	18
3.6.	Análise estatística.....	20
4.	RESULTADOS	21
5.	DISCUSSÃO	23
6.	CONCLUSÃO	25
7.	REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

A biotecnologia de transferência de embriões (TE) tem se consolidado como uma alternativa cada vez mais viável para criadores de equinos no Brasil. O país ocupa posição de destaque no cenário mundial, sendo líder global em número de embriões equinos transferidos em 2023 (Viana, 2023). A utilização da TE possibilita o aumento do número de potros nascidos por ano a partir de éguas com características genéticas desejáveis, bem como daquelas que, por diferentes motivos — como participação em competições ou idade —, não podem conduzir a gestação até o final. Dessa forma, essa biotecnologia contribui significativamente para o aumento da eficiência reprodutiva da espécie (Arruda et al., 2001).

No entanto, esses programas de TE dependem da disponibilidade de éguas receptoras para o desenvolvimento da gestação após a inovulação do embrião (Reichenbach *et al.*, 2002). Em decorrência disso, a técnica torna-se relativamente limitada, pois éguas doadoras normalmente voltam a ciclar antes das receptoras no início da estação de monta. Isso ocorre, pois, as doadoras geralmente recebem melhores condições nutricionais e ambientais, o que favorece o início precoce de seu ciclo reprodutivo. Assim, mesmo com uma coleta embrionária bem-sucedida, pode não haver uma receptora em fase adequada do ciclo para receber o embrião (Rocha Filho *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2014).

Nesse contexto, os protocolos hormonais que associam a administração de estrógeno e progesterona exógenos tornam-se uma alternativa eficaz para a utilização de éguas em anestro ou em fase de transição como receptoras em programas de transferência de embriões (TE). Esses protocolos mimetizam as condições uterinas de éguas cíclicas, permitindo que fêmeas acíclicas ou em transição apresentem um ambiente uterino adequado para receber e gestar um embrião (Lino et al., 2022). Com a ampliação do uso desses protocolos hormonais em éguas acíclicas, diversos estudos publicados nos últimos anos têm demonstrado a eficiência da utilização dessas receptoras em programas de TE, empregando diferentes esquemas hormonais, com variações quanto às doses, frequências de aplicação e tipos de hormônios utilizados (Botelho et al., 2015; Greco et al., 2012; Oliveira-Neto et al., 2018; Rocha Filho et al., 2004; Roser et al., 2020; Segabinazzi et al., 2021).

Além da escolha do protocolo hormonal, evidências indicam que a duração da exposição ao estrógeno desempenha papel determinante na receptividade uterina e nos índices de fertilidade. Nesse sentido, Cuervo-Arango et al. (2018) observaram que éguas receptoras cíclicas com estro mais prolongado (> 8 dias), caracterizado pela presença de edema endometrial, apresentam maiores taxas de prenhez. De forma semelhante, Silva et al. (2019a, 2021) demonstraram que éguas acíclicas submetidas a um período mais prolongado de exposição ao estradiol (7 dias) apresentaram aumento na expressão do gene P19, responsável pela síntese da uterocalina, proteína associada a um ambiente uterino mais receptivo ao embrião. Mais recentemente, Silva et al. (2024) concluíram que a exposição mais longa ao estradiol (5 dias) previamente à administração de progesterona tende a favorecer a sobrevivência embrionária nas primeiras 48 horas após a transferência em receptoras acíclicas.

Considerando que o endométrio desempenha papel fundamental na manutenção da gestação e, conseqüentemente, na fertilidade das fêmeas equinas, torna-se essencial a análise de sua morfologia frente aos diferentes protocolos hormonais utilizados. Nesse contexto, Silva et al. (2019b) realizaram análise histomorfométrica do endométrio de éguas cíclicas e acíclicas submetidas a distintos protocolos hormonais, avaliando a espessura endometrial, a altura do epitélio luminal e glandular, bem como a densidade glandular. Os autores observaram que o grupo de éguas que não recebeu estrógeno exógeno apresentou menor densidade glandular e menor altura do epitélio glandular quando comparado aos grupos tratados com esse hormônio. Destaca-se que, independentemente do protocolo empregado, todas as éguas tratadas foram expostas ao estrógeno por um período de dois ou três dias. Esses resultados reforçam a importância do estrógeno nos protocolos hormonais, uma vez que esse hormônio é fundamental para a proliferação e diferenciação endometrial, processo essencial para a sobrevivência, o desenvolvimento e a manutenção do embrião ao longo da gestação (Hanada et al., 2012).

No entanto, não está claramente estabelecido se a maior duração da exposição uterina ao estrógeno (> 3 dias) promove alterações significativas na histomorfometria endometrial. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do tempo de exposição estrogênica na histomorfometria do endométrio de éguas cíclicas e acíclicas. A hipótese é que éguas submetidas a um período mais prolongado de tratamento com estradiol apresentem maior espessura endometrial, bem como maior altura do epitélio luminal e glandular, uma vez que o estrógeno exerce efeito predominantemente proliferativo sobre o endométrio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sazonalidade Reprodutiva das Éguas

Fêmeas equinas são categorizadas como poliétricas Estacionais/Sazonais de dias longos (Lino *et al.*, 2022). Essas fêmeas apresentam atividade sexual e ciclos reprodutivos na fase de maior luminosidade do ano. Além da luminosidade, alguns fatores como a nutrição, genética, ambiente, saúde geral e latitude influenciam sua ciclicidade. (Pugliesi. *et al.*, 2024).

Durante o outono e o inverno, estações do ano de menor luminosidade, as éguas normalmente estarão em anestro. Nesse período, as fêmeas equinas não se reproduzem, não respondem à presença do garanhão, em seus ovários não se desenvolvem folículos ovulatórios e há mínima secreção hormonal (Nagy. *et al.* 2000). Em contrapartida, no verão e primavera, períodos de maior luminosidade ocorrerá a fase reprodutiva, denominada estação de monta. Nesse período as éguas apresentarão estros regulares, com desenvolvimento folicular e aumento das secreções hormonais ovarianas (Ginther *et al.* 2004, p. 71; Aurich, 2011). Entre o verão e o outono ocorre a fase de transição de outono, caracterizada por uma redução gradual da atividade folicular até que a égua se encontre totalmente em anestro. Já entre o inverno e a primavera, observa-se a fase de transição de primavera, desta vez marcada por um aumento progressivo da atividade ovariana, até que ocorra a primeira ovulação da estação (Fitzgerald e Mcmanus, 2000; Ginther *et al.* p. 71, 2004; Aurich, 2011).

A luminosidade exerce papel fundamental na regulação do ciclo reprodutivo das éguas, ao estimular vias neurais que modulam a atividade da glândula pineal. Essa glândula, estrutura pequena e ovoide, com aproximadamente 10 a 12 mm de comprimento, localizada entre os hemisférios cerebrais, participa do controle neuroendócrino da reprodução por meio da síntese e secreção da melatonina, hormônio diretamente influenciado pela incidência luminosa (Rocha *et al.*, 2011).

A captação da luminosidade ocorre na retina, onde os fotorreceptores transmitem essa informação, sob a forma de sinais de estímulo ou inibição, através do nervo óptico até o núcleo supraquiasmático (NSQ). A partir do NSQ, o estímulo é direcionado à glândula pineal. Uma vez processada a informação luminosa, ocorre a liberação do neurotransmissor noradrenalina nas células pineais, que interage com receptores específicos e desencadeia respostas intracelulares responsáveis pela síntese e excreção da melatonina (Williams, 2012).

A melatonina exerce influência direta sobre o eixo reprodutivo, uma vez que seu aumento inibe a liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo. Com níveis reduzidos de GnRH, a hipófise anterior não é estimulada a secretar os hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), essenciais para o recrutamento, desenvolvimento folicular e ocorrência da ovulação. Dessa forma, éguas expostas a períodos de baixa luminosidade, como no outono e inverno, apresentam aumento na secreção de melatonina e tendem a permanecer em anestro. Em contrapartida, durante a primavera e o verão, quando há maior duração do fotoperíodo, observa-se redução da melatonina circulante, favorecendo a liberação de GnRH, o aumento de FSH e LH e, conseqüentemente, o restabelecimento da ciclicidade reprodutiva (Pugliesi et al., 2024, p. 10–22).

2.2. Fisiologia do ciclo estral da égua

O ciclo estral da égua dura em média 21 dias, e pode ser definido como o intervalo entre uma ovulação e outra (Bergfelt, 2000). Esse ciclo é dividido em estro (fase folicular), e diestro (fase luteínica), com 5 a 7 dias e 14 a 15 dias de duração, respectivamente (Ginter, 1992, p. 71).

O estro tem duração média de 5 a 7 dias e é caracterizada pelo crescimento folicular e pela intensa atividade secretória de estrógeno, promovida principalmente pelo folículo dominante — o maior entre os folículos ovarianos em desenvolvimento. Essa fase se inicia após a regressão do corpo lúteo (CL) (Bergfelt, 2000; Sauté; Gardón, 2013). Com o aumento progressivo da concentração de estrógeno, surgem rapidamente sinais de receptividade sexual nas fêmeas, como: elevação da cauda, eversão do clítoris, micção frequente, receptividade ao garanhão, além da abertura e abaixamento dos membros posteriores, entre outros comportamentos típicos do estro (Pugliesi *et al.*, 2024, p. 10–22).

Além disso, a elevação do hormônio estradiol na circulação irá promover mudanças fisiológicas no trato reprodutivo da fêmea, como o aumento da perfusão sanguínea no trato reprodutivo e uma migração leucocitária, deixando a mucosa hiperêmica, a cérvix relaxada, e causando o aparecimento do edema endometrial (Ginther, 1992). No endométrio e no miométrio, esse hormônio atua diretamente na diferenciação e proliferação celular (Aupperle et al., 2000; Mellor & Thomas, 1995), além de estimular a expressão de seus próprios

receptores e dos receptores de progesterona, possibilitando a ação integrada desses hormônios nos tecidos uterinos (Hartt et al., 2005; McDowell et al., 1999; Watson, Skolnik & Zanecksky, 1992).

O estro se encerra no momento da ovulação, dando início ao diestro, também denominado de fase progesterônica, em razão do aumento da concentração circulante de progesterona, hormônio produzido pelo corpo lúteo formado após a ovulação do folículo dominante. Essa etapa dura aproximadamente 14 a 15 dias, com início na ovulação e formação do CL e fim com a luteólise, que ocorre sob influência da prostaglandina F2 α secretada pelo endométrio. Durante essa fase, a égua também apresenta alterações comportamentais e fisiológicas, caracterizadas pela não receptividade ao garanhão e à cópula, cérvix fechada e aumento do tônus uterino (Ginther, 1992).

Na ausência de um embrião, ocorre a regressão do corpo lúteo, com consequente redução das concentrações de progesterona, o que leva à remoção de sua ação inibitória sobre o hormônio luteinizante (LH), permitindo a retomada do desenvolvimento dos folículos ovarianos que já se encontravam em crescimento durante o diestro (Daels; Hughes, 1993).

2.3. Ações do Estrógeno e Progesterona sobre o Endométrio

O estrógeno é um dos principais hormônios que atuam ao longo do ciclo estral das fêmeas domésticas, desempenhando papel fundamental tanto no comportamento reprodutivo quanto na modulação da fisiologia uterina. Durante o estro, esse hormônio promove acentuado aumento da perfusão vascular uterina, favorecendo maior aporte sanguíneo ao órgão (Bollwein *et al.*, 2002). Tal efeito hemodinâmico contribui para a formação de edema endometrial, decorrente do extravasamento de fluido para o espaço intersticial, fenômeno observado de forma evidente em éguas (Ginther, 1992). Além disso, o estrógeno estimula de maneira intensa a proliferação e a diferenciação celular tanto do endométrio quanto do miométrio, preparando o útero para a possível chegada do embrião e para a ação subsequente da progesterona (Aupperle *et al.*, 2000; Mellor; Thomas, 1995).

Por outro lado, a progesterona exerce efeito essencialmente modulador sobre o útero durante a fase lútea. Esse hormônio promove a latência ou repouso do miométrio, reduzindo a contratilidade espontânea e permitindo maior estabilidade uterina, condição fundamental para

a sobrevivência e fixação inicial do embrião (Thorburn, 1993). Além disso, tem como função crucial o estímulo à ramificação das glândulas endometriais que passam a secretar substâncias ricas em nutrientes — a chamada secreção histotrófica — essenciais para a nutrição do embrião nos primeiros dias antes da placentação (Ginther, 1992, p. 71). Em conjunto, o estrógeno e a progesterona transformam o endométrio em um tecido altamente especializado e receptivo, garantindo condições ideais para o estabelecimento da gestação.

2.4. Relação da duração do estro com a fertilidade

Assim como relatado anteriormente, o ciclo estral da égua se estende entre o fim de uma ovulação ao início de outra, dividido em fase folicular que dura em média 7,3 – 7,6 dias, e fase luteínica que tem uma duração de mais ou menos 14,9 dias com intervalo de 12 a 16 dias (Bergfet, 2000). No campo, essas fases são facilmente diferenciadas através da avaliação ultrassonográfica das características do trato reprodutivo da fêmea. Durante o estro é possível observar na imagem ultrassonográfica do útero e ovários o edema endometrial e folículos em crescimento. Aparentemente, um dos principais fatores que regula a presença e a dissipação do edema endometrial é o equilíbrio entre as concentrações circulantes de estradiol e progesterona (Pelehach, L. M., *et al.* 2016).

Cuervo-Arango *et al.* (2018) observaram que, em éguas receptoras cíclicas, quanto maior a duração do edema endometrial durante a fase folicular, maiores foram as taxas de prenhez. Baseados nesse achado, Silva *et al.* (2019b), avaliaram éguas receptoras acíclicas tratadas com diferentes protocolos hormonais constatando que um período mais prolongado de exposição ao estrógeno resultou em maior expressão de uterocalina no endométrio, proteína que atua no transporte lipídico ao embrião e provavelmente está relacionada a um ambiente uterino mais receptivo. Esses resultados foram corroborados por Silva *et al.* (2021), que utilizaram protocolos artificiais de estro longo (7 dias), administrados antes da progesterona, com o objetivo de verificar se essa abordagem aumentaria a expressão de uterocalina endometrial em éguas em anestro.

Mais recentemente, em 2024, um novo estudo avaliou o efeito da duração da exposição ao estradiol na sobrevivência embrionária e na expressão gênica endometrial em éguas receptoras em anestro, observando uma tendência de maior taxa de sobrevivência embrionária

naquelas submetidas a um período mais longo de exposição ao estrógeno (5 dias) (Silva *et al* 2024).

2.5. Histomorfometria

A histomorfometria é uma técnica de mensuração que utiliza métodos quantitativos para analisar estruturas histológicas através da microscopia, a fim de compreender aspectos relacionados com a função e patologias de qualquer tecido do organismo (Compston, J. *et al*. 2018).

Mansour G. *et al.* (2014) comprovaram que a técnica é aplicável, objetiva e de alta sensibilidade. Em seu experimento tiveram como objetivo analisar, através da histomorfometria, estruturas epiteliais do endométrio de éguas e fazer análises da altura das células epiteliais luminais e glandulares, diâmetro do lúmen glandular, densidade glandular, porcentagem de glândulas com lúmen aparente e com secreção intraluminal, e assim fazer um perfil descritivo da histomorfometria do endométrio.

No estudo de Silva *et al.* (2019b), a histomorfometria também foi utilizada para a análise do endométrio, com o objetivo de comparar o efeito de diferentes protocolos hormonais sobre as características morfológicas endometriais de éguas em anestro. Foram utilizados 26 animais, distribuídos em cinco grupos experimentais. O grupo 1 recebeu uma única dose de 2,5 mg de benzoato de estradiol (EB); o grupo 2 recebeu 5 mg de EB por dois dias consecutivos; o grupo 3 recebeu 10 mg de EB por três dias consecutivos; e o grupo 4 não recebeu EB, sendo administrada apenas progesterona de longa ação (1.500 mg). Ressalta-se que a progesterona de longa ação também foi administrada aos grupos 1, 2 e 3, 24h após a última dose de EB. Além desses, foi incluído um grupo controle composto por éguas cíclicas que apresentavam ciclos estrais regulares.

Foram coletadas biópsias endometriais em três momentos distintos nas éguas em anestro: antes do início do protocolo hormonal, após a administração da progesterona de longa ação (P4LA) e cinco dias (D5) após a administração da P4LA. Nas éguas cíclicas, as coletas foram realizadas no dia da indução da ovulação e cinco dias após a ovulação (D5), com o objetivo de compor o grupo controle. As amostras obtidas foram processadas para análise histomorfométrica, visando à determinação da altura do epitélio luminal e glandular, da espessura endometrial e da densidade glandular. Como resultado os autores relataram que o

grupo que não recebeu a dose de estrógeno apresentou redução da altura do epitélio glandular e densidade glandular se comparado com o grupo controle de éguas cíclicas; e menor densidade glandular se comparado àquelas que receberam estrógeno.

Silva e colaboradores (2020) realizaram um novo estudo com o objetivo de avaliar se um protocolo de estro longo, porém com menos aplicações de estrógeno exógeno antes da administração de progesterona, também seria capaz de aumentar a expressão da proteína uterocalina no endométrio. Além disso, buscaram comparar a histomorfometria endometrial entre grupos submetidos ao estro longo e ao estro curto. Os resultados mostraram que a expressão de P19 foi maior nos protocolos de estro longo em relação ao estro curto. Quanto à histomorfometria, observou-se que a espessura endometrial também foi superior nos grupos de estro longo quando comparado ao grupo de estro curto.

3. METODOLOGIA

3.1. Animais e Procedimento Ético

Foram utilizados fragmentos de biópsias endometriais de 16 éguas mestiças, com idade entre 4 e 11 anos pesando de 200 a 515kg, pertencentes ao Setor de Equídeos da Universidade Federal de Uberlândia (SEQUI – UFU). As biópsias foram coletadas em um estudo anterior, e a solicitação de autorização para projetos de ensino e/ou pesquisa utilizando materiais biológicos foi submetida ao CEUA (Comitê de ética no Uso de Animais) da Universidade Federal de Uberlândia e posteriormente aprovada sob protocolo nº 23117.023474/2024-01.

3.2. Grupos Experimentais e Protocolos Hormonais

A princípio, as 16 éguas mestiças foram divididas em três grupos de acordo com o protocolo hormonal: 1) Estro Longo (EL, n = 5), onde foram administrados 10 mg de cipionato de estradiol (ECP) sete dias antes da administração de 1500mg de progesterona de longa ação (P4 LA) injetável; 2) Estro Curto (EC, n = 5), que recebeu 10mg de ECP dois dias antes da administração de 1500mg de P4 LA; e 3) Sem Estro (SE, n = 6), que recebeu somente a mesma dosagem de progesterona que os demais grupos. Posteriormente, na fase cíclica, 12 dessas 16 éguas foram avaliadas para compor o Estro Longo Cíclico (ELC, n=6) e Estro Curto Cíclicas (ECC, n=6). Na fase cíclica, uma égua foi utilizada para compor ambos os grupos. Além disso, um animal do grupo ECC foi coletado em dois ciclos diferentes. Portanto, o n=6 de cada grupo de éguas cíclicas é referente aos ciclos coletados, e não ao número de animais.

No período de ciclicidade, as éguas foram monitoradas frequentemente, a partir do D12 do ciclo anterior — considerando D0 como o dia da ovulação — por meio de ultrassonografia e palpação transretal. Foi considerado como início do estro quando visualizado edema $\geq 1,5$ e folículo ≥ 25 mm de diâmetro, caso a duração do estro fosse inferior a três dias, o ciclo era designado para compor o grupo ECC. Já os ciclos que o estro prolongou por seis ou mais dias, foram considerados do grupo ELC.

3.3. Coleta das Biópsias Uterinas

As biópsias uterinas foram colhidas no quarto dia (D4) após a administração de P4L4 no grupo das éguas acíclicas e no quarto dia (D4) pós ovulação nas éguas cíclicas. O fragmento de endométrio foi coletado na base de um dos cornos uterinos pelo método transcervical, utilizando pinça de biópsia para equinos. Os fragmentos de biópsia foram fixados em solução de formol 10% por 24 horas e posteriormente armazenados em álcool 70%. A Figura 1 apresenta um esquema representativo dos protocolos hormonais utilizados e dos momentos de coleta das biópsias ao longo do experimento.

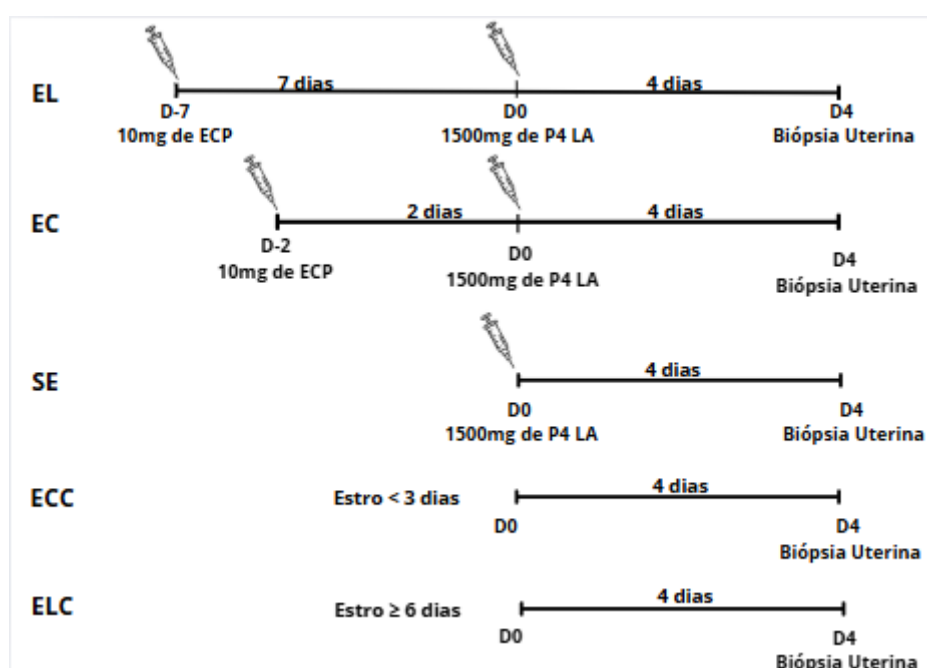


Figura 1– Representação dos protocolos hormonais e momentos de biópsia uterina.

3.4. Processamento histológico e Preparação das Lâminas

Como parte desta pesquisa, foram confeccionadas lâminas histológicas a partir das biópsias coletadas. Essas amostras passaram por processamento de acordo com o protocolo clássico de inclusão em parafina. Os cortes foram de 5µm de espessura de cada fragmento de útero analisado. As lâminas foram coradas com a técnica usual para hematoxilina-eosina (HE).

A partir disso, os cortes histológicos foram fotografados por microscopia óptica, utilizando objetivas de 10× e 40×, em microscópio biológico trinocular Opticam O500R,

equipado com sistema de câmera digital acoplado por adaptador C-Mount. As imagens obtidas foram utilizadas para a realização das análises histomorfométricas por meio do software QuPath (versão 0.5.1). Foram consideradas válidas para as mensurações apenas as amostras que apresentaram todas as camadas histológicas necessárias, incluindo epitélio luminal, estrato glandular com as zonas compacta e esponjosa, bem como glândulas seccionadas transversalmente. Essas amostras foram utilizadas na avaliação de cada variável, de acordo com seus respectivos grupos experimentais, conforme descrito na Tabela 1.

Variáveis	Grupos				
	EL	EL C	EC	EC C	SE
DG	5	5	5	5	6
AEG	5	5	5	5	6
AEL	4	5	5	5	5
EE	5	5	4	3	5

Abreviações: DG: densidade glandular; AEG: altura do epitélio glandular; AEL: altura epitélio luminal; EE: espessura do endométrio; EL: estro longo; ELC: estro longo cíclico; EC: estro curto; ECC: estro curto cíclico; SE: sem estro.

Tabela 1 – Número de amostras válidas utilizadas na avaliação de cada variável, em seu determinado grupo, durante o experimento.

3.5. Variáveis histomorfométrica avaliadas

Para determinar a AEL (altura do epitélio luminal), foi mensurada a distância entre a membrana basal e a borda apical das células epiteliais (Fig. 2A), em aumento de 40x. Foram realizadas dez mensurações ao longo do epitélio luminal de cada corte histológico. Os dados foram exportados para uma planilha do Excel e em seguida, foi calculado o valor médio, expresso em micrômetros.

Para a AEG (altura do epitélio glandular), foram feitas três medidas em dez glândulas aleatórias, cortadas transversalmente, totalizando trinta mensurações utilizando aumento de 40x. As medidas foram realizadas da distância entre a membrana basal e a borda apical das

células epiteliais glandulares (Fig 2B). Os valores médios referentes foram calculados e expressos em micrômetros.

Para EE (espessura endometrial), foram traçadas sete linhas, seguindo a orientação mais longitudinal das glândulas, desde a região apical do epitélio luminal até o final do estrato esponjoso, em diferentes locais do corte histológico (Fig 2C), utilizando o aumento de 10x. Foi então calculado o valor médio, expresso em micrômetros.

Para DG (densidade glandular), foi utilizado o contador manual do software QuPath-0.5.1 para contagem de cinco campos diferentes utilizando o aumento de 40x (Fig 2D). Os resultados foram expressos como o número de glândulas por campo analisado, e assim calculado o valor médio.

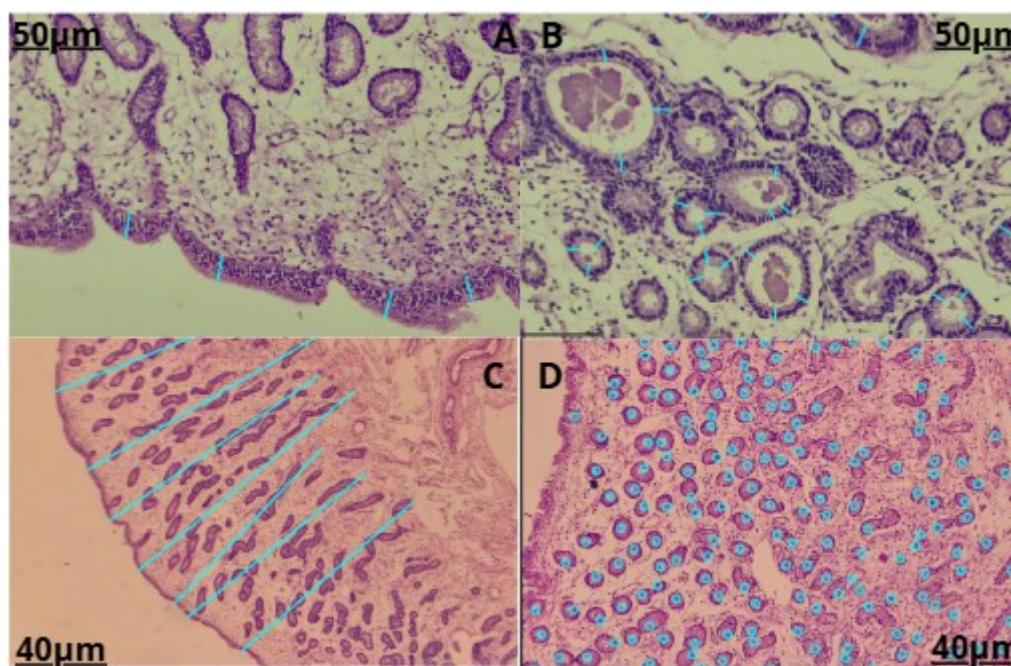


Figura 2 - Esquemas representativos das mensurações de: (A) altura do epitélio luminal, determinada pela distância entre a lâmina basal e a borda apical; (B) altura do epitélio glandular, medida da região basal à região apical; (C) espessura endometrial, correspondente à distância entre o epitélio endometrial e o final do estrato esponjoso; e (D) densidade glandular, cada círculo contabiliza uma glândula.

3.6. Análise estatística

Foi realizada análise descritiva para avaliação da distribuição dos dados. A normalidade foi verificada previamente à escolha dos testes estatísticos. Quando os pressupostos para testes paramétricos foram atendidos, aplicou-se a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey para comparação das médias entre os grupos. Nos casos em que os dados não apresentaram distribuição normal, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Quando identificados, os outliers foram removidos. Adotou-se nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

4. RESULTADOS

Para a análise comparativa, os dados foram organizados de diferentes maneiras. Inicialmente, realizou-se a comparação entre todos os grupos experimentais: EL (n = 5), EC (n = 5), ELC (n = 5), ECC (n = 5) e SE (n = 6). Em seguida, os dados foram agrupados de acordo com a presença e/ou duração da exposição ao estrógeno — EL C+AC (n = 10), EC C+AC (n = 10) e SE (n = 6) — independentemente de as éguas serem cíclicas ou acíclicas. Posteriormente, os grupos foram reorganizados para comparação entre éguas cíclicas (ELC + ECC; n = 10), acíclicas (EL + EC + SE; n = 16) e acíclicas tratadas com estradiol (EL + EC; n = 10), independentemente da duração do estro.

As médias das diferentes variáveis obtidas na comparação entre os cinco grupos encontram-se apresentadas na Tabela 2. Na avaliação da altura do epitélio luminal (AEL), observou-se que os grupos ECC e ELC apresentaram valores superiores ($P < 0,05$) em comparação ao grupo SE. A altura do epitélio glandular (AEG) foi maior ($P < 0,05$) nos grupos ELC e EL em relação ao grupo ECC. Quanto à densidade glandular (DG), o grupo ECC apresentou valores superiores ($P < 0,05$) quando comparado aos grupos SE e ELC. Não foram observadas diferenças significativas na espessura endometrial (EE) entre os grupos avaliados ($P > 0,05$).

Na comparação entre os grupos independentemente da duração do estro (cíclicas, acíclicas e acíclicas tratadas com estradiol – AC ECP), não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas para as variáveis analisadas ($P > 0,05$; Tabela 4).

Ao agrupar os dados conforme a duração/presença de estro, verificou-se que a AEG foi maior nos grupos EL C+AC em comparação ao grupo SE ($P < 0,05$). De forma semelhante, na análise da AEL, o grupo EL C+AC e EC C+AC apresentou valores superiores aos observados no grupo SE ($P < 0,05$), conforme apresentado na Tabela 3.

Grupos	Média ($\pm$ DP)			
	AEL	AEG	DG	EE
EL C	14,246 ($\pm$ 1,81) a	9,48 ($\pm$ 1,17) a	95,95 ($\pm$ 22,21) b	643,362 ($\pm$ 99,82)
EC C	14,816 ($\pm$ 2,44) a	6,99 ($\pm$ 0,94) b	167,24 ($\pm$ 57,32) a	605,980 ($\pm$ 190,27)
EL	14,034 ($\pm$ 2,00) ab	9,19 ($\pm$ 5,04) a	108,76 ($\pm$ 28,75) ab	732,144 ($\pm$ 167,77)
EC	13,078 ($\pm$ 1,57) ab	9,026 ($\pm$ 1,19) ab	112,78 ($\pm$ 16,60) ab	652,805 ($\pm$ 317,80)
SE	10,818 ($\pm$ 0,70) b	7,588 ($\pm$ 1,32) ab	103,43 ($\pm$ 26,01) b	597,950 ($\pm$ 288,24)

Abreviações: DG: densidade glandular; AEG: altura do epitélio glandular; AEL: altura epitélio luminal; EE: espessura do endométrio; EL: estro longo; ELC: estro longo cíclico; EC: estro curto; ECC: estro curto cíclico; SE: sem estro.

Tabela 2- Comparação das médias ($\pm$ desvio padrão) das variáveis histomorfométricas AEL, AEG, DG e EE entre os diferentes grupos experimentais, quando comparados os cinco grupos entre si. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si ($p < 0,05$). Abreviações: EL – estro longo; ELC – estro longo cíclico; EC – estro curto; ECC – estro curto cíclico; SE – sem estro.

Grupos	Média ($\pm$ DP)			
	AEL	AEG	DG	EE
EL C+AC	14,14 ($\pm$ 1,80) a	9,35 ($\pm$ 0,89) a	96,03 ($\pm$ 16,20) a	687,75 ($\pm$ 138,30) a
EC C+AC	13,41 ($\pm$ 1,39) a	8,01 ($\pm$ 1,48) ab	117,74 ($\pm$ 14,73) a	632,74 ($\pm$ 251,38) a
SE	10,818 ($\pm$ 0,70) b	7,59 ($\pm$ 1,33) b	103,43 ($\pm$ 26,01) a	597,95 ($\pm$ 288,25) a

Abreviações: AEL: Altura epitélio glandular, AEG: altura epitélio glandular, DG: densidade glandular, EE: espessura endometrial. EL C+AC: estro longo cíclicas e acíclicas; EC C+AC: estro curto cíclicas e acíclicas; SE: sem estro. Considerou-se diferença estatisticamente significativa quando $P \leq 0,05$.

Tabela 3 - Comparação das médias ($\pm$ desvio padrão) das variáveis histomorfométrica de AEL, AEG, DG e EE quando os dados foram distribuídos de acordo com presença/duração de estro, independente da ciclicidade.

Grupos	Média			
	AEL	AEG	DG	EE
AC ECP	13,56 a	9,09 a	110,77 a	696,88 a
Acíclicas	12,96 a	8,49 a	108,02 a	661,54 a
Cíclicas	14,33 a	8,09 a	108,46 a	649,65 a

Abreviações: AC ECP - éguas acíclicas tratadas com estradiol, Acíclicas: EL + EC + SE, Cíclicas: ELC + ECC.

Tabela 4- Comparação das médias das variáveis histomorfométrica de AEL, AEG, DG e EE quando os dados foram comparados independente da duração do estro.

5. DISCUSSÃO

Quando os grupos foram comparados de acordo com a presença/duração do estro, independentemente de serem éguas cíclicas ou acíclicas, observou-se que, para a AEL, os grupos EL C+AC e EC C+AC apresentaram valores superiores ao grupo SE. Para a AEG, o grupo EL C+AC também apresentou valores significativamente maiores em relação ao SE. Esses achados estão em acordo com Silva et al. (2019b), que relataram maior AEL e AEG em éguas expostas ao estrógeno. Tais resultados eram esperados, uma vez que o grupo EL foi exposto ao estrógeno exógeno, hormônio responsável pela proliferação e diferenciação celular, o que se refletiu em maiores valores médios quando comparado ao grupo SE, que não recebeu exposição hormonal. No entanto, esperava-se ainda uma diferença significativa entre os grupos EL C+AC e EC C+AC, o que demonstraria a relação entre maior tempo de exposição ao estrógeno e o aumento da altura epitelial.

Quando as comparações foram feitas entre todos os grupos a densidade glandular apresentou-se mais elevada no grupo ECC em comparação aos grupos SE e ELC. No estudo de Silva et al. (2019b), as éguas que receberam estrógeno exógeno apresentaram maior densidade glandular em relação às que não receberam, porém não houve diferença entre os diferentes períodos de exposição ao estrogênio, uma vez que o fator determinante foi apenas a presença ou ausência desse hormônio. Dessa forma, não seria necessariamente esperado que o grupo EL exibisse maior densidade glandular apenas por permanecer mais tempo sob ação estrogênica. Uma possível explicação para esse achado é o fato de que as éguas do grupo ECC permaneceram em estro por ≤ 3 dias e ovularam naturalmente. Antes desse curto período de estro, essas fêmeas ainda se encontravam em diestro, fase caracterizada pelo domínio da progesterona. Assim, houve um intervalo relativamente pequeno entre o fim do último domínio da P4 e o momento da coleta, quando comparado ao grupo ELC, cujas éguas apresentaram estro superior a 6 dias.

Consequentemente, as éguas do grupo ELC ficaram por mais tempo afastadas da influência da progesterona, enquanto as do grupo ECC haviam sido expostas à P4 mais recentemente. Considerando que a progesterona está associada ao aumento da tortuosidade e ramificação glandular, é possível que, nas éguas do ECC, o endométrio ainda apresentasse essas características de forma mais evidente, resultando em maior densidade glandular observada no estudo.

Em relação à altura do epitélio glandular, os grupos ELC e EL apresentaram valores estatisticamente superiores ao grupo ECC, resultado que está em conformidade com os achados de Silva et al. (2019b). Contudo, também era esperado que essas variáveis fossem significativamente maiores em comparação ao grupo SE. Apesar de não ter sido confirmado estatisticamente, observa-se que as médias dos grupos ELC e EL foram, de fato, superiores às do grupo SE, mantendo a tendência fisiológica esperada.

Na altura do epitélio luminal, os grupos ECC e ELC apresentaram valores superiores ao grupo SE, achado que está de acordo com os resultados descritos por Silva et al. (2019b), nos quais as fêmeas cíclicas exibiram maior AEL em comparação aos demais tratamentos e éguas em anestro.

Por fim, a espessura endometrial não apresentou diferença estatística entre os grupos avaliados. Ainda assim, esperava-se que o grupo tratado com estrógeno e submetido a um maior período de exposição hormonal apresentasse maior espessura endometrial, de modo que o grupo EL exibisse valores superiores aos demais, especialmente em relação ao grupo SE, que não recebeu estímulo estrogênico, conforme padrão previamente descrito por Silva et al. (2020).

Nas comparações entre EL e ELC, considerando que éguas cíclicas naturalmente exibem maior espessura endometrial devido à prolongada exposição hormonal ao longo do ciclo, já era esperado que esses dois grupos não diferissem estatisticamente. No entanto, seria esperado que ambos apresentassem valores significativamente superior ao grupo SE, o que não ocorreu. Uma possível justificativa para a ausência de diferença significativa é o número reduzido de amostras utilizadas no experimento, uma vez que as médias de cada grupo seguem exatamente a tendência esperada: EL (732,144 μm) > EC (652,805 μm) > ELC (643,362 μm) > ECC (605,980 μm) > SE (597,950 μm). Inicialmente, cada variável contava com 5 a 6 amostras para avaliação. Contudo, o material foi obtido por biópsia transcervical em animais vivos, método que não garante uniformidade quanto ao tamanho e à profundidade dos fragmentos coletados. Durante a análise histológica, verificou-se que algumas lâminas não apresentavam todas as camadas endometriais necessárias para as mensurações — situação que também pode ter ocorrido durante o processamento das amostras. Assim, foi necessária a exclusão desses fragmentos, reduzindo o número final de amostras disponíveis por grupo e, consequentemente, diminuindo o poder estatístico da análise.

6. CONCLUSÃO

De forma geral, os resultados do presente estudo não confirmam integralmente a hipótese inicialmente proposta, uma vez que a maior duração da exposição ao estrógeno não promoveu aumento da espessura endometrial. No entanto, os achados evidenciam a importância da exposição estrogênica no preparo endometrial, considerando que as éguas submetidas ao tratamento com estradiol apresentaram maiores valores de altura do epitélio luminal (AEL) e glandular (AEG) quando comparadas às éguas sem estro. Esses resultados reforçam o papel modulador do estrógeno sobre o epitélio endometrial, atuando predominantemente na proliferação e diferenciação celular. Do ponto de vista aplicado, os dados contribuem para a compreensão dos efeitos morfofuncionais do estrógeno em protocolos hormonais utilizados em éguas receptoras acíclicas, auxiliando no refinamento de estratégias para o preparo uterino em programas de transferência de embriões.

7. REFERÊNCIAS

ARRUDA, et al. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embrião equinos?. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 5, p. 233–239, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-95962001000500007>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjvras/a/tFhVy64QJn8Nn7zx7PgYM4w/?lang=pt> . Acesso em: 01 set. 2025.

AUPPERLE, et al. Cyclical endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 32, n. 3, p. 228–232, 2000. DOI: 10.2746/042516400776563554. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10836478/> . Acesso em: 19 nov. 2025.

AURICH, Chistine. Reproductive cycles of horses. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 220–228, 2011. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2011.02.005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21377299/> . Acesso em: 01 set. 2025.

BERGFELT, Don. Estrous synchronization. In: SAMPER, J. C. **Equine breeding management and artificial insemination**, Saunders Company, Philadelphia: p. 165-177, 2000. Acesso em: 06 nov. 2025.

BOLLWEIN, et al. Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v. 57, p. 2129-2138, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12066871/> . Acesso em: 19 nov 2025.

BOTELHO, 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**, v.152, p.39-43, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25578506/> . Acesso em: 06 nov. 2025.

COMPSTON, et al. Bone Histomorphometry. **Vitamin D**, v.1, p. 959-973, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/322184611_Bone_Histomorphometry .Acesso em: 06 nov. 2025.

CUERVO-ARANGO, et al. Likelihood of pregnancy after embryo transfer is reduced in recipient mares with a short preceding oestrus. **Equine Veterinary Journal**, v. 50, n. 3, p. 386–390, 2018. DOI: 10.1111/evj.12739. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28796907/> . Acesso em: 01 set. 2025.

FITZGERALD, et al. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. **Biology of Reproduction**, v. 63, n. 1, p. 335– 340, 2000. DOI: 10.1095/biolreprod63.1.335. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10859276/> . Acesso em: 1 set. 2025.

DAELS, et al. The normal estrous cycle. **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea & Febi; 1993. p. 121-32. Disponível em: <https://biblio.ugent.be/publication/8668267> Acesso em: 06 nov. 2025.

GINTHER, Oliver Joseph. Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects second edition (1992). **Journal of Equine Veterinary Science**. 1992. p. 71. DOI: 10.1016/S0737-0806(06)81280-3. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080606812803> . Acesso em: 19 de abril de 2025

GINTHER, et al. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction (AR)**, v. 1, n. 1, p. 31-44, 2004. Disponível em: <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a608bf7783717068b480c> . Acesso em: 06 nov. 2025.

GRECO, et al. Use of long-acting progesterone to acyclic embryo recipient mares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.3, p.607-611, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/4qWmgL6FsLgvhq9VGS8NP8n/?format=pdf&lang=en> Acesso em: 06 nov. 2025.

HANADA, et al. Equine Endometrial Gland Density and Endometrial Thickness Vary among Sampling Sites in Thoroughbred Mares. **Journal of Equine Science**., v. 23, n 3, p. 35-40, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4013978/> Acesso em: 06 nov. 2025.

HARTT, et al. 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. DOI: 10.1530/rep.1.00596. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16049162/> . Acesso em: 1 set. 2025.

LINO, et al. Uso de éguas receptoras acíclicas em programas de transferência de embrião. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 46, n. 3, p. 298–307, 2022. DOI: 10.21451/1809-3000.RBRA2022.022. Disponível em: <http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v46/n3/RB937%20Arruda%20p.298-307.pdf>. Acesso em: 1 set. 2025.

MANSOUR, et al. Histomorphometry of epithelial structures of the mare's endometrium. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. ½, p. 44-48, 2004. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/284381514_Histomorphometry_of_epithelial_structures_of_the_mares_endometrium Acesso em: 06 nov. 2025.

MCDOWELL, et al. Changes in equine endometrial oestrogen receptor and progesterone receptor mRNAs during the oestrous cycle, early pregnancy and after treatment with exogenous steroids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 117, p. 135–142, 1999. DOI: 10.1530/jrf.0.1170135. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10645254/> . Acesso em: 1 set. 2025.

MELLOR, et al. Interactions between oestradiol and epidermal growth factor in endometrial stromal proliferation and differentiation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, p. 157–164, 1995. DOI: 10.1530/jrf.0.1040157. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7636797/> . Acesso em: 1 set. 2025.

NAGY, et al. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 245–262, 2000. DOI: 10.1016/s0378-4320(00)00133-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10844199/> . Acesso em: 1 set. 2025.

OLIVEIRA, et al. Synchronization of cyclic and acyclic embryo recipient mares with donor mares. **Animal Reproduction Science**, v.190, p.1-9, 2018. Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432017307947> . Acesso em: 20 de abr. de 2025

PELEHACH, et al. The role of estrogen and progesterone in the induction and dissipation of uterine edema in mares. **Theriogenology**, v. 58, p. 441–444, 2002. DOI: 10.1016/S0093-691X(02)00765-3. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/279908600_The_role_of_estrogen_and_progesterone_in_the_induction_and_dissipation_of_uterine_edema_in_mares. Acesso em: 1 set. 2025.

PUGLIESI, et al. Ciclo estral na fêmea equina. In: **REPRODUÇÃO ANIMAL: equinos**. Barueri, SP: Manole, 2024. v. 3, cap. 2, p. 10–22, Acesso em: 1 set 2025.

REICHENBACH, et al. **Transferência e criopreservação de embriões de bovinos: Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, U. J. F. São Paulo: Varela, 2002. p. 127-178. Acesso em: 06 nov. 2025.

ROCHA et al. Melatonina e Reprodução Animal: Implicações na Fisiologia Ovariana. **Acta Veterinária Brasílica**, v. 5, n. 2, p. 147-157, 2011. DOI: 10.21708/avb.2011.5.2.2171. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24035195/> . Acesso em: 1 set. 2025.

ROCHA FILHO, et al. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Animal Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 91-95, 2004. Disponível em: <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a608bf7783717068b4810>. Acesso em: 20 de abr de 2025

ROSER, et al. Superovulation, embryo recovery, and pregnancy rates from seasonally anovulatory donor mares treated with recombinant equine FSH (reFHS). **Theriogenology**. 2020. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31711702/>. Acesso em: 06 nov. 2025.

SATUÉ, et al. A review of the estrous cycle and the neuroendocrine mechanisms in the mare. **Journal of Steroids and Hormonal Science**, v. 4, n. 2, p. 115–123, 2013. DOI: <http://doi.org/10.4172/2157-7536.1000115>. Disponível em: <https://www.iomcworld.com/open-access/a-review-of-the-estrous-cycle-and-the-neuroendocrine-mechanisms-in-the-mare-7889.html>. Acesso em: 1 set. 2025.

SEGABINAZZI, 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. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/f52bbe2e-9b55-4afd-aecd-f18ac58d7479>. Acesso em: 06 nov. 2025.

SILVA, 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.159-69, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28583600/> Acesso em: 19 de abr de 2025.

SILVA, et al. Artificial long estrus protocols administered prior to progesterone increase endometrial uterocalin expression in anestrus mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 103, p. 103669, 2021. DOI: 10.1016/j.jevs.2021.103669. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34281646/>. Acesso em: 1 set. 2025.

SILVA, et al. Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of pregnancy in non-cyclic recipient mares. **Animal Reproduction Science**, v.144, p.122-128, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432013003515>. Acesso em: 06 nov. 2025.

SILVA, et al. Effect of the duration of estradiol priming prior to progesterone administration on endometrial gene expression in anestrus mares. **Theriogenology**, v. 131, p. 96–105, 2019. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.03.025, Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30959441/>. Acesso em: 1 set. 2025.

SILVA, et al. Effect of estradiol treatment duration and administration frequency prior to progesterone on endometrial P19 expression and histomorphometry in acyclic mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 89, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103073>, Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080620301647?via%3Dihub> . Acesso em: 20 nov. 2025.

SILVA, et al. Endometrial Histomorphometry of Anestrous Mares Under the Influence of Different Embryo Transfer Hormonal Protocols. **Journal of Equine Veterinary Science** v.81, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102792> , Disponível em: www.j-evs.com . Acesso em: 15 fev. 2025.

SILVA, et al. Effect of duration of estradiol exposure on embryo survival and endometrial gene expression in anestrous embryo recipient mares. **Theriogenology**, v.226, p. 1-9, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X2400219X> .Acesso em: 06 nov. 2025.

VIANA, Henrique. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. **International Embyo Technology Society**, 2023. Disponível em: https://www.iets.org/Portals/0/Documents/Public/Committees/DRC/IETS_Data_Retrieval_Report_2023.pdf .Acesso em: 19 de abr de 2025

WATSON, et al. Progesterone and estrogen receptor distribution in the endometrium of the mare. **Theriogenology**, v. 38, p. 575–580, 1992. DOI: 10.1016/0093-691x(92)90020-r. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16727160/> . Acesso em: 1 set. 2025.

WILLIAMS, et al. Reproductive seasonality in the mare: neuroendocrine basis and pharmacologic control. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, n. 2, p. 103–115, 2012. DOI: 10.1016/j.domaniend.2012.04.001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22579068/>. Acesso em: 1 set. 2025.