



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

Estudo comparativo da eficácia da administração da hormona gonadotrofina coriónica humana (hCG) e da triptorrelina como agentes indutores da ovulação em éguas em Portugal

Maria Raquel Lameira Serralha de Matos Arroja

Orientador(es) | Elisa Maria Bettencourt
Liliane Isabel Costa Damásio
Susana Monteiro

Évora 2022





Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

Estudo comparativo da eficácia da administração da hormona gonadotrofina coriónica humana (hCG) e da triptorrelina como agentes indutores da ovulação em éguas em Portugal

Maria Raquel Lameira Serralha de Matos Arroja

Orientador(es) | Elisa Maria Bettencourt
Liliane Isabel Costa Damásio
Susana Monteiro

Évora 2022



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora)

Vogais | Elisa Maria Bettencourt (Universidade de Évora) (Orientador)
Luís Miguel Paiva Benites da Silva Atayde (Universidade do Porto - Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar) (Arguente)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer aos meus pais, por me guiarem sempre no caminho certo, por permitirem o concretizar de um sonho e pelo apoio incondicional. Sem eles, nada disto teria sido possível!

À mana Bia por ser sempre um exemplo a seguir e pelos seus imprescindíveis conselhos.

Ao meu mano Zé, agradecer pelo companheirismo, amizade e pela sua constante preocupação com a sua mana Rachel.

À minha Titi, pelo seu carinho, apoio infinito e por me lembrar sempre que aproveitar o momento é a melhor forma de alcançar a felicidade!

À querida avó Diamantina, pelas palavras suas amigas e pelo orgulho incondicional na sua neta!

Ao Louis, por ser o meu melhor amigo e por estar presente em todas as horas. Este percurso, sem ele, teria tido o dobro da dificuldade e a metade da satisfação!

Aos meus queridos amigos, Mesqui, Jess, Charol, Guidona, Sofs, Friza e Peter, pela camaradagem, por me mostrarem o verdadeiro sentido da amizade e por fazerem parte de um dos melhores tempos da minha vida!

À minha orientadora, Professora Elisa Bettencourt, pelo apoio e ajuda incansável na tese, mas também por ser uma inspiração para a profissional que desejo ser no futuro.

À querida Dra. Lila, pelos ensinamentos, pela confiança que depositou em mim, pela sua amizade e sobretudo, por ser um exemplo de profissional a seguir, o seu desembaraço associado à sua sabedoria fascinam-me e permitiram-me terminar com mais confiança este percurso!

À Professora Susana Monteiro, por ter sido minha coorientadora na tese e por todos os ensinamentos ao longo do meu percurso académico.

À Dra. Cristina Cosinha, pela simpatia e ajuda incansável na recolha de dados para a realização do presente trabalho.

Por fim, agradecer à Universidade e à Mui Nobre e sempre Leal cidade de Évora!

RESUMO

Estudo comparativo da eficácia da administração da hormona gonadotrofina coriónica humana (hCG) e da triptorrelina como agentes indutores da ovulação em éguas em Portugal

A indução da ovulação é um procedimento útil no controlo reprodutivo da égua e em programas de inseminação artificial. Os objetivos deste estudo foram avaliar a eficácia de dois protocolos de indução da ovulação (administração intramuscular ou subcutânea de 0,1 mg de acetato de triptorrelina e administração intravenosa de 1500 UI de hCG) e determinar a sua influência na fertilidade após a inseminação artificial com sémen congelado.

A taxa de resposta ovulatória e o momento da ovulação após o tratamento não variaram significativamente entre éguas tratadas com diferentes protocolos ($p > 0,05$). No entanto, em éguas da raça puro sangue lusitano foi encontrada uma percentagem de ovulações significativamente menor ($p < 0,05$). A fertilidade após a inseminação artificial também não variou significativamente em função do protocolo de indução utilizado ($p > 0,05$). Assim, os dois protocolos de indução em estudo possuíram eficácia equivalente e nenhum deles influenciou a fertilidade após a inseminação artificial com sémen congelado.

Palavras chave: Égua; Indução; Ovulação; hCG; Triptorrelina.

ABSTRACT

Comparative study of the effectiveness of the administration of human chorionic gonadotropin hormone (hCG) and triptorelin as ovulation inducing agents in mares in Portugal

Ovulation induction is a useful method in the reproductive control of the mare and in artificial insemination programs. The objectives of this study were to evaluate the efficacy of two induction protocols (intramuscular or subcutaneous administration of 0.1 mg of triptorelin acetate and intravenous administration of 1500 IU of hCG) and determine their influence on fertility after artificial insemination with frozen semen.

The ovulatory response rate and the moment of ovulation after treatment did not vary significantly between the mares treated with different protocols ($p>0,05$). However, in thoroughbred lusitano mares significantly lower percentage of ovulations was found ($p<0,05$). Fertility after artificial insemination with frozen semen also did not vary significantly depending on the induction protocol used ($p>0,05$). Thus, the two induction protocols under study have equivalent efficacy and none of them influenced fertility after artificial insemination.

Key words: Mare; Induction; Ovulation; hCG; Triptorelin.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	I
RESUMO	II
ABSTRACT	III
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	VII
ÍNDICE DE TABELAS	VIII
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	X
I. Introdução.....	- 11 -
II. Revisão bibliográfica.....	- 12 -
1. Fisiologia reprodutiva da égua.....	- 12 -
1.1 Regulação do sistema reprodutivo da égua.....	- 12 -
1.2 Ciclo éstrico.....	- 16 -
1.3 Crescimento folicular e ovulação	- 17 -
1.4 Sazonalidade	- 18 -
2. Monitorização do ciclo éstrico da égua.....	- 19 -
2.1 Estadiamento do ciclo éstrico da égua	- 20 -
2.2 Identificação dos sinais de ovulação eminente.....	- 21 -
3. Indução da ovulação e a sua influência no manejo reprodutivo	- 22 -
4. Condições para administração de um agente indutor da ovulação	- 23 -
4.1 Diâmetro folicular médio	- 23 -
4.2 Edema endometrial	- 24 -
4.3 Tonicidade cervical	- 24 -
5. Definição do sucesso da indução da ovulação	- 25 -
6. Agentes indutores da ovulação disponíveis.....	- 26 -
6.1 Hormona gonadotrofina coriônica humana.....	- 26 -
6.2 Agonistas da hormona libertadora de gonadotrofinas.....	- 29 -
6.3 Hormona luteinizante equina e a hormona luteinizante recombinante equina..	- 38 -

7.	Fatores que condicionam o sucesso da indução da ovulação.....	38 -
7.1	Época do ano.....	39 -
7.2	Idade	40 -
7.3	História reprodutiva	42 -
8.	Influência da indução da ovulação na fertilidade após a inseminação artificial .	43 -
III.	Estudo de caso	44 -
1.	Introdução.....	44 -
2.	Materiais e métodos	46 -
2.1	Caracterização da amostra.....	46 -
2.2	Desenho experimental	46 -
2.3	Tratamento estatístico.....	48 -
3.	Resultados e discussão	48 -
3.1	Distribuição da amostra.....	48 -
3.2	Taxa de resposta ao tratamento de indução da ovulação	48 -
3.3	Diâmetro médio do folículo dominante no momento do tratamento de indução da ovulação em éguas que responderam e que não responderam ao tratamento ...	54 -
3.4	Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação .	56 -
	-	
3.5	Influência do tratamento de indução da ovulação na fertilidade após a IA com sémen congelado	59 -
4.	Conclusão	64 -
IV.	Conclusão Geral	65 -
V.	Bibliografia	66 -
VI.	Anexos	72 -
1.	Relatório de estágio	72 -

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Cuidados neonatais após parto distócico.	- 73 -
Figura 2 - Recolha de sémen através de manequim e vagina artificial.	- 73 -
Figura 3 - Inseminação artificial com sémen fresco.	- 73 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição da casuística pelas áreas clínicas e respetiva frequência relativa (%) (n=2387) - 73 -

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Intervalos de diâmetros médios foliculares recomendados para a administração de um AIO ²⁸	- 23 -
Tabela 2 - Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função do protocolo de indução da ovulação utilizado (consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$)..	- 49 -
Tabela 3 – Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função do grau de edema uterino no momento do tratamento (consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).....	- 50 -
Tabela 4 - Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função da raça (PSL: Puro Sangue Lusitano. Consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$. Letras diferentes entre linhas correspondem a diferenças significativas).	- 51 -
Tabela 5 – Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função da classe de idade (\leq 10 anos: idade inferior ou igual a 10 anos; $>$ 10 anos: idade superior a 10 anos. Consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).....	- 52 -
Tabela 6 – Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função da época reprodutiva (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 53 -
Tabela 7 – Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função do mês do ano (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 54 -
Tabela 8 - Diâmetro médio do folículo dominante, em mm, no momento do tratamento de indução da ovulação (média em mm ± desvio padrão) em função da resposta ao tratamento (ENR: éguas que não responderam ao tratamento; ER: éguas que responderam ao tratamento. Consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 55 -
-	
Tabela 9 - Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas ± erro padrão), em função do protocolo de indução da ovulação utilizado (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 56 -
Tabela 10 - Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas ± erro padrão), em função da raça da égua tratada (PSL: Puro Sangue Lusitano. Consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 57 -
Tabela 11 - Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas ± erro padrão) em função da classe de idade (\leq 10 anos: idade inferior ou igual a 10 anos; $>$ 10 anos: idade superior a dez anos. Consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 58 -

Tabela 12 – Tempo, em horas, entre o momento do tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas \pm erro padrão) em função do mês do ano (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 59 -
Tabela 13 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média \pm erro padrão) em função do protocolo de indução da ovulação utilizado (consideraram-se diferenças significativas para um valor de $p < 0,05$).	- 60 -
Tabela 14 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média \pm erro padrão) em função raça (PSL: Puro Sangue Lusitano. Consideraram-se diferenças significativas para um valor de $p < 0,05$).	- 61 -
Tabela 15 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média \pm erro padrão) em função da classe de idade (≤ 10 anos: idade inferior ou igual a 10 anos; > 10 anos: idade superior a 10 anos. Consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).	- 62 -
Tabela 16 – Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média \pm erro padrão) em função do mês do ano (consideraram-se diferenças significativas para um valor de $p < 0,05$).	- 63 -
Tabela 17 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média \pm erro padrão) em função da presença de líquido uterino à ecografia no momento do tratamento (consideraram-se variações significativas quando $p < 0,05$).	- 64 -

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- IA - Inseminação artificial;
- AIO - Agentes indutores da ovulação;
- hCG - Hormona gonadotrofina coriônica humana;
- GnRH - Hormona libertadora de gonadotrofinas;
- AT - Acetato de triptorreline;
- eCG - Hormona gonadotrofina coriônica equina;
- PGF2 α - Prostaglandina F2 α ;
- COX-2- Cicloxigenase 2;
- TRH - Hormona libertadora de tireotrofina;
- LH - Hormona luteinizante;
- FSH - Hormona folículo estimulante;
- SCN - Núcleo supraquiasmático;
- AA - NAT - Aialquilamina N-acetiltransferase;
- MV - Médico veterinário;
- eLH - Hormona luteinizante equina;
- reLH - Hormona luteinizante recombinante equina;
- FDA - Food and drug administration;
- IGF I - Fator de crescimento semelhante à insulina;
- ER - Éguas que reponderam ao tratamento;
- ENR - Éguas que não responderam ao tratamento;
- PSL - Puro Sangue Lusitano;
- PSA - Puro Sangue Árabe.

I. Introdução

A inseminação artificial (IA) corresponde a uma das técnicas mais utilizadas na reprodução assistida em equinos^{1,2}. A utilização desta técnica implica a realização de um controlo reprodutivo da égua, de forma a que seja monitorizado o momento da ovulação². Assim, este controlo vai permitir que a IA seja realizada no momento mais oportuno, otimizando desta forma o sucesso do programa de IA².

O controlo reprodutivo da égua deve ser realizado com recurso a várias técnicas, tais como, a palpação e ecografia transretal do seu trato reprodutivo regularmente³ combinadas com métodos farmacológicos, particularmente agentes indutores da ovulação (AIO)².

Para a IA com sémen congelado, o controlo reprodutivo das mesmas deve ser mais exigente, dada a menor durabilidade do sémen no trato reprodutivo da égua e consequente necessidade de um menor intervalo entre a ovulação e a IA³. Posto isto, os AIO desempenham um papel fulcral no controlo reprodutivo das éguas a inseminar com sémen congelado⁴, uma vez que a sua administração permite uma melhor previsão do momento da ovulação num intervalo de tempo específico após o tratamento⁵.

Existem dois grandes grupos de AIO, a hormona gonadotrofina coriónica humana (hCG) e os agonistas da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH)⁶. Relativamente ao sucesso dos diferentes AIO, está descrita uma influência da idade⁵ e história reprodutiva da égua tratada⁴, do mês do ano em que é realizado o tratamento⁷, dos critérios utilizados para a administração dos AIO⁸ e da frequência de palpações e ecografias transretais, desde o tratamento até à ovulação, com o objetivo de identificar um folículo dominante ovulado⁹.

De que seja do nosso conhecimento, não existem dados publicados referentes à administração de diferentes AIO em éguas em Portugal. Deste modo, o presente estudo objetivou a realização de uma revisão bibliográfica referente à temática da indução da ovulação em éguas, a avaliação da eficácia de dois AIO, hCG e acetato de triptorrelina (AT), a identificação dos fatores que condicionam o seu sucesso e a avaliação do seu efeito na fertilidade após a IA com sémen congelado.

II. Revisão bibliográfica

1. Fisiologia reprodutiva da égua

Para avaliar a eficácia dos AIO em estudo e para a compreensão dos fatores que condicionam o seu funcionamento, é imperativo que seja abordada a fisiologia reprodutiva da égua, nomeadamente os mecanismos de regulação hormonal do sistema reprodutivo, o controlo da sazonalidade, o ciclo éstrico da égua, bem como o processo de crescimento folicular e ovulação.

1.1 Regulação do sistema reprodutivo da égua

O sistema reprodutivo da égua pode ser dividido em dois grandes grupos de órgãos, nomeadamente: órgãos intrínsecos ao trato reprodutivo e órgãos do diencefalo¹⁰. No primeiro grupo estão incluídos os ovários, os ovidutos, o útero, a cérvix, a vagina e o vestíbulo¹⁰, já o segundo grupo incluiu o hipotálamo, a hipófise e a glândula pineal¹¹.

Apesar dos órgãos do diencefalo se encontrarem fisicamente separados do trato reprodutivo da égua, as hormonas por eles sintetizadas, tais como as hormonas produzidas pelos ovários e endométrio, colaboram de forma equilibrada na regulação do sistema reprodutivo¹⁰⁻¹². Posto isto, será importante desenvolver as funções de cada um destes órgãos e abordar os mecanismos que permitem a colaboração entre os mesmos.

1.1.1 Ovários

Do ponto de vista funcional, os ovários são órgãos que desempenham funções exócrinas através do desenvolvimento dos gametas femininos e endócrinas através da produção de hormonas¹⁰.

Existem dois grandes grupos de hormonas produzidas pelos ovários: hormonas proteicas e hormonas esteroides¹³. No grupo das hormonas proteicas estão incluídas a inibina, a ativina e a folistatina que são sintetizadas nos folículos em crescimento¹³. As hormonas esteroides são o estrogénio e a progesterona¹³.

Relativamente às hormonas esteroides, ambas possuem o colesterol como seu precursor^{14, 15} mas são sintetizadas em estruturas diferentes. A síntese de estrogénio ocorre essencialmente em folículos em maturação¹⁴, constituídos por um *antrum* com fluído e por duas camadas de células distintas, nomeadamente, uma camada vascular de células da teca e uma camada avascular de células da granulosa¹⁶. Nas células da teca o colesterol é convertido em pregnenolona e de seguida em androstenediona¹⁴ a qual é transportada até às células da granulosa e convertida em estradiol¹⁴. Este é também

sintetizado no corpo lúteo, sob estimulação da hormona gonadotrofina coriônica equina (eCG) por volta do dia 35 a 50 de gestação¹⁴. Já a progesterona é sintetizada por um corpo lúteo funcional e pela unidade feto-placentária a partir do dia 70 de gestação¹⁵.

É importante notar as relações que se estabelecem entre as hormonas esteroides. Por um lado existe uma relação sinérgica na qual o aumento da concentração de estrogénio induz um aumento do número de recetores de progesterona, e por outro lado, uma relação antagónica na qual o aumento da concentração de progesterona induz uma redução dos recetores de estrogénio¹⁵.

1.1.2 Endométrio

O útero é constituído por três camadas: perimétrio, miométrio e endométrio¹⁰. O perimétrio corresponde a uma camada serosa externa¹⁰. O miométrio é constituído por uma porção interna circular e por uma porção externa longitudinal, tendo como principal função a regulação da tonicidade uterina¹⁰. Já o endométrio corresponde à camada mais interna do útero e é constituído por pregas endometriais, contínuas à cérvix, possuindo funções glandular e secretora¹⁰.

Ao nível do endométrio ocorre a síntese de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α), em resposta à expressão da cicloxigenase 2 (COX-2)¹⁷. Esta prostaglandina, desempenha um papel fundamental no desenvolvimento do ciclo éstrico, pois permite a luteólise através dos seus mecanismos de vasoconstrição, de redução do transporte intracelular de colesterol e de indução de apoptose das células luteínicas^{17, 18}. Uma vez que, ao contrário dos ruminantes, a anatomia topográfica do útero das éguas não possibilita a chegada da PGF2 α ao ovário através da artéria uterina, esta vai entrar na circulação sistémica e ser transportada até ao ovário onde vai produzir o seu efeito¹⁰. Pelo facto da PGF2 α equina entrar na circulação sistémica, 60% da mesma é destruída ao nível dos pulmões, sendo que a sua concentração no ovário, em relação a outras espécies, é consideravelmente inferior¹⁷. Além disso, é importante referir que o corpo lúteo dos equinos possui maior afinidade para a PGF2 α em comparação com outras espécies¹⁷.

É ainda de referir que a síntese de PGF2 α é estimulada pela hormona oxitocina¹⁹. Nas éguas, esta é sintetizada e secretada pela hipófise e pelo endométrio¹⁹, desempenhando um efeito parácrino e autócrino, respetivamente, na regulação da sua própria síntese e na síntese de PGF2 α , possibilitando o desenvolvimento de pulsos de PGF2 α que permitem a luteólise¹⁷.

1.1.3 Hipotálamo

O hipotálamo é um órgão constituído por quatro núcleos que possuem corpos celulares de células neuro-secretoras, nomeadamente: o núcleo supraóptico, o núcleo para-ventricular, o núcleo pré-ótico e o núcleo rostral^{11, 12, 20}.

As células neuro-secretoras do núcleo supraóptico e do núcleo para-ventricular, produtoras de vasopressina e oxitocina, projetam-se até à neuro-hipófise¹². As células neuro-secretoras dos núcleos pré-ótico e rostral, produtoras de GnRH e de hormona libertadora de tireotrofina (TRH), respetivamente, prolongam-se até à região da eminência média do infundíbulo hipofisário¹².

A GnRH, uma hormona constituída por dez aminoácidos, é libertada ao nível do sistema portal hipotálamo-hipófise após a estimulação das células neurosecretoras de GnRH pelo neuropéptido kisspeptina¹⁹. Seguidamente, a GnRH liga-se aos seus recetores ao nível da hipófise¹¹. Como resposta a esta ligação, a hipófise inicia a síntese e libertação de gonadotrofinas, hormona luteinizante (LH) e hormona folículo-estimulante (FSH)¹³. Estas são responsáveis pelo desenvolvimento folicular e ovulação, sendo que a GnRH vai desempenhar um papel essencial no controlo da atividade reprodutiva¹³.

Tendo em conta que a GnRH é secretada a um ritmo pulsátil^{13, 18}, é a frequência dos pulsos de GnRH que determina a concentração de gonadotrofinas¹³ sendo que, apesar das gonadotrofinas serem reguladas pela mesma hormona, elas são secretadas em padrões diferentes^{13, 18}. Ou seja, quando a frequência de pulsos de GnRH é elevada há um aumento da concentração de LH, por outro lado, quando a frequência é baixa há uma predominância da FSH^{13, 18}.

O hipotálamo tem ainda na sua constituição um núcleo associado à regulação do ritmo circadiano, o núcleo supraquiasmático (SCN)²⁰. Este núcleo encontra-se em conexão com a retina, pois um dos fotorreceptores da mesma, a melanopsina, capta informação relativa ao fotoperíodo e transmite-a diretamente ao SCN²⁰. Por sua vez, o SCN vai interpretar, armazenar e transmitir essa informação à glândula pineal, funcionando assim como um marca-passo circadiano²⁰.

1.1.4 Hipófise

A hipófise é um órgão constituído por duas porções principais, a adenohipófise e a neurohipófise¹³. A adenohipófise corresponde à porção responsável pela secreção das gonadotrofinas¹¹, já referidas no ponto 1.1.3. Estas hormonas são libertadas na circulação

sanguínea e posteriormente vão ligar-se aos seus recetores ao nível do ovário, mais precisamente ao nível das células da teca, LH, e células da granulosa, FSH, de folículos em maturação¹³.

Em termos de funcionalidade, a FSH é responsável pelo recrutamento e crescimento folicular, multiplicação das células da granulosa e formação de recetores para a LH^{12, 13}. Já a LH permite a maturação folicular, maturação do ócito, ovulação e luteinização¹⁹. Ambas as gonadotrofinas vão possuir um papel importante no mecanismo de síntese do estradiol supracitado¹⁴. Ou seja, a ligação da LH aos seus recetores nas células da teca induz a conversão de colesterol em pregnenolona e desta em androstenidiona, e a ligação da FSH ao nível dos seus recetores nas células da granulosa induz a conversão de androstenidiona em estradiol¹⁴.

É importante realçar o *feedback* produzido pelas hormonas ováricas, ao nível das gonadotrofinas¹³. Enquanto que níveis sanguíneos de estrogénio e de inibina elevados provocam um efeito de *feedback* negativo na síntese e libertação de FSH¹³, os níveis elevados de estrogénio combinados com níveis baixos de progesterona, provocam um efeito de *feedback* positivo na concentração de LH¹³. Em situações em que os níveis sanguíneos de progesterona são elevados será desenvolvido um efeito de *feedback* negativo na concentração de LH¹³.

1.1.5 Glândula pineal

A glândula pineal é um órgão constituído por células que produzem a hormona melatonina¹¹, sendo necessária a codificação de uma enzima denominada arilalquilamina N- acetiltransferase (AA-NAT) para a sua síntese²⁰ pela estimulação da norepinefrina²⁰. Uma vez que a secreção de norepinefrina está limitada ao período da noite, é possível compreender que a síntese de melatonina ocorre preferencialmente durante a noite²⁰.

Uma vez que a glândula pineal dos mamíferos não possui fotorreceptores, a retina vai colaborar com a glândula pineal, ou seja, a produção de melatonina vai decorrer dependendo dos impulsos nervosos transmitidos pela retina²⁰. Os fotorreceptores da retina correspondem não só aos cones e aos bastonetes, mas também à melanopsina, referida anteriormente, que se associa diretamente ao SCN no hipotálamo²⁰. Assim, a melanopsina capta informação relativa ao fotoperíodo e transmite-a ao SCN²⁰, que por sua vez transmite esta informação à glândula pineal, modulando assim a síntese de melatonina conforme as horas de luz²⁰.

Sendo assim, em épocas do ano com fotoperíodo crescente, em que a duração da noite é menor, a síntese de melatonina é reduzida, por outro lado, em épocas de fotoperíodo decrescente, associadas a períodos de noite mais longos, existe uma maior síntese de melatonina¹².

A melatonina é uma hormona que possuiu, ao nível do eixo hipotálamo-hipófise, um efeito antigonadotrófico²⁰, ou seja, concentrações sanguíneas elevadas de melatonina desencadeiam um efeito de *feedback* negativo ao nível da síntese e secreção de GnRH e de gonadotrofinas¹². Assim sendo, o fotoperíodo desempenha um papel fulcral no controlo da atividade reprodutiva da égua²⁰.

1.2 Ciclo éstrico

O ciclo éstrico, com duração média de 21 a 24 dias²¹, é definido como o período decorrente entre duas ovulações possuindo duas fases distintas na égua, estro e diestro, as quais correspondem a duas fases do ciclo ovárico, fase folicular e fase luteínica, respetivamente¹². O evento que define a transição da fase folicular para a fase luteínica é a ocorrência de ovulação e consequente luteinização¹².

1.2.1 Fase folicular: estro

A fase folicular, que é acompanhada de manifestação de estro, corresponde à fase de crescimento folicular²² e à consequente produção de estradiol por parte dos folículos em desenvolvimento, na presença de baixa concentração de progesterona (concentração inferior a 1 ng/mL de progesterona plasmática)¹².

A concentração sérica elevada de estradiol, que caracteriza esta fase do ciclo éstrico, é responsável pela indução de um comportamento de recetividade ao garanhão por parte da égua, que se caracteriza por sinais como: cauda levantada, agachamento dos membros posteriores, micção frequente e eversão do clitóris^{12, 22}. A cérvix, durante o estro, encontra-se aberta e não tónica e o útero encontra-se relaxado, com uma textura flácida e com edema endometrial²². Nesta fase, vão existir folículos em crescimento e geralmente um folículo dominante²² que ovula dois dias antes do fim do estro ou após o fim mesmo, sendo a primeira hipótese mais frequente²³. De seguida, inicia-se o processo de luteinização que dá entrada na fase luteínica ou diestro²³.

1.2.2 Fase luteínica: diestro

A fase luteínica, que corresponde ao diestro, inicia-se com a formação de um corpo lúteo produtor de progesterona, permitindo que as concentrações plasmáticas da mesma

alcancem valores superiores a 1/2 ng/mL¹². Estes níveis de progesterona conduzem a que a égua não exiba receptividade ao garanhão, ou seja, esta vai abanar a cauda de um lado para o outro, fugir do garanhão e vai tentar morder e dar coices¹². Durante esta fase a cérvix apresenta-se fechada e o útero tónico e sem edema endometrial²².

A luteólise corresponde ao evento que encerra a fase luteínica¹². Esta é desencadeada pela secreção de PGF2 α , sendo que 40 horas após a sua secreção os níveis de progesterona plasmáticos tornam-se novamente inferiores a 1 ng/mL¹².

1.3 Crescimento folicular e ovulação

Para que seja otimizada a eficácia dos AIO, é imperativo conhecer e dominar a fisiologia relacionada com o crescimento folicular e ovulação da égua²².

No caso dos equinos, o crescimento folicular ocorre através de ondas de crescimento folicular¹⁸. Cada onda de crescimento engloba o recrutamento e crescimento de um grupo de folículos e a seleção de um folículo dominante¹², ou seja, o crescimento preferencial de um grupo de folículos até que seja estabelecida dominância¹⁸.

Apesar de ser mais frequente a existência de uma onda folicular por ciclo, podem ocorrer duas ondas por cada ciclo¹⁸. Nesse caso, a primeira onda desenvolve-se no final do estro ou início do diestro originando um folículo anovulatório¹⁸ ou, exclusivamente na espécie equina, uma ovulação na presença de níveis séricos elevados de progesterona, denominada ovulação de diestro^{12, 18}. É ainda de notar que, apesar de raramente, numa mesma onda de crescimento folicular podem desenvolver-se dois folículos dominantes, ocorrendo conseqüentemente uma ovulação dupla. No entanto a sua frequência é reduzida e varia de forma individual, com a raça, com a idade, estado reprodutivo e manipulação farmacológica do ciclo éstrico²¹.

No que concerne às alterações hormonais que permitem a formação das ondas de crescimento folicular, aproximadamente dez dias antes da ovulação, a meio da fase luteínica, inicia-se uma onda de FSH¹³. Este aumento dos níveis séricos de FSH permite o início do recrutamento e crescimento folicular, ou seja o início da emergência da onda folicular¹³. Com o aumento da síntese de estradiol e inibina pelos folículos em maturação, vai desencadear-se um efeito de *feedback* negativo na síntese de FSH ocorrendo uma diminuição da sua concentração sérica²⁴. Conseqüentemente desenvolve-se o fenómeno de desvio do crescimento folicular, ou seja é condicionado o crescimento de certos folículos, folículos subordinados, mas o crescimento do futuro folículo dominante

mantém-se²¹, devido ao aumento da sua sensibilidade à FSH e ao aumento do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF I) livre²⁴. Desenvolve-se assim um folículo com diâmetro médio superior a 28 ou 30 mm, denominado folículo dominante²¹

Com a ocorrência da luteólise, há uma queda dos níveis séricos de progesterona, mas um aumento dos níveis séricos de estradiol, em consequência da sua síntese pelo folículo dominante. Nestas condições, o estradiol tem um efeito de feedback positivo na concentração de LH, emergindo uma onda de LH^{12, 13} que se mantém durante um período superior a uma semana^{13, 19}. Esta onda permite o crescimento contínuo do folículo dominante, em média três milímetros por dia em diâmetro, até um a dois dias antes da ovulação, momento em que o seu crescimento estabiliza e se desenvolve um folículo pré-ovulatório^{19, 21}. O diâmetro médio do folículo pré-ovulatório corresponde frequentemente a 35 mm, no entanto este varia com diversos fatores, tais como a raça¹², a idade²⁴ ou a época do ano²⁴. Está também descrita uma repetibilidade individual do diâmetro médio do folículo pré-ovulatório entre diferentes ciclos reprodutivos, ou seja, tal como descreveu Cuervo-Arango & Newcombe, (2008), existe propensão para que as éguas ovulem folículos de diâmetros médios semelhantes de ciclos para ciclos.

Por fim, a onda de LH¹⁹, dois dias antes do fim do estro²³, induz a ovulação, que corresponde à evacuação total do fluído folicular¹⁸ ao nível da fossa de ovulação¹⁰. A onda de LH vai ainda permitir a luteinização¹⁹, ou seja, a formação do corpo lúteo que se projeta para a fossa de ovulação¹⁰.

1.4 Sazonalidade

A égua é uma fêmea poliéstrica sazonal, ou seja, apresenta ciclos éstricos regulares numa época do ano definida¹⁸, sendo que as alterações fisiológicas e morfológicas decorrentes estão associadas a variações do fotoperíodo ao longo do ano²⁵.

Tal como foi descrito no capítulo 1.1.5, a síntese de melatonina é superior em épocas de fotoperíodo decrescente, de noites longas, e inferior em épocas de fotoperíodo crescente, de dias longos¹². Uma vez que esta hormona, na égua, desempenha um efeito de *feedback* negativo ao nível do eixo hipotálamo-hipófise, em épocas caracterizadas por noites longas existe um efeito inibitório da melatonina na síntese e secreção de GnRH, que impossibilita a entrada em estro¹². Já em épocas de dias longos, o efeito da melatonina na síntese e secreção de GnRH é insuficiente, o que permite a entrada em estro¹². Apesar de 15% a 20% das éguas ciclarem durante todo o ano, a maioria apresenta o seu ano

reprodutivo dividido em quatro fases: época de transição inverno-primavera, época reprodutiva fisiológica, época de transição outono-inverno e anestro¹².

A transição de inverno-primavera corresponde a uma época em que os dias são progressivamente maiores e as noites progressivamente mais curtas, existindo desta forma um decréscimo gradual na síntese de melatonina²⁶. Assim, o eixo hipotálamo-hipófise-ovários fica cada vez mais ativo, estabelecendo-se uma fase prolongada de crescimento e regressão folicular caracterizada por uma percentagem elevada de folículos anovulatórios em consequência de concentrações séricas de LH baixas¹². Aquando da emergência de uma onda de LH, é estabelecida dominância folicular, ocorrendo posteriormente a primeira ovulação do ano¹² e a entrada num período de ciclos éstricos regulares, ou seja, a época reprodutiva fisiológica²⁵. No hemisfério norte, onde se inclui Portugal, esta época decore entre abril e setembro²⁵. Segue-se então um período de transição de outono-inverno em que a noite e o dia têm a mesma duração. Nesse período o comportamento de estro está muitas vezes presente, mas os folículos dominantes evoluem frequentemente para folículos anovulatórios ou, no caso de ovularem, são formados corpos lúteos não funcionais¹². Com a chegada do inverno, caracterizado por um fotoperíodo progressivamente menor, a síntese e secreção de melatonina aumenta e o eixo hipotálamo-hipófise-ovários fica gradualmente mais inativo, desenvolvendo-se assim um período acíclico, designado anestro¹².

É importante referir que, a sazonalidade reprodutiva característica da égua, vai influenciar o diâmetro médio do folículo pré-ovulatório, a duração do estro e o intervalo interovulatório⁶. Ou seja, no início da época de reprodução, caracterizada pela existência de ondas de LH de baixa magnitude, existe um maior diâmetro dos folículos pré-ovulatórios, uma maior duração do estro e um intervalo interovulatório mais prolongado⁶.

2. Monitorização do ciclo éstrico da égua

A monitorização do ciclo éstrico da égua é muito importante no maneio reprodutivo da mesma, principalmente aquando da implementação de protocolos hormonais, permitindo ao Médico Veterinário (MV) estadiar o ciclo éstrico e identificar os sinais de ovulação eminente.

2.1 Estadiamento do ciclo éstrico da égua

Para o estadiamento do ciclo éstrico podem ser utilizadas quatro ferramentas principais: a avaliação do comportamento da égua, a palpação e ecografia transretal do trato reprodutivo, a palpação da vagina e a sua avaliação com espéculo vaginal¹².

A avaliação do comportamento da égua está intimamente relacionada com a receptividade da égua ao garanhão. Como descrito no capítulo 1.2, durante o estro a égua está receptiva ao garanhão e durante o diestro esta rejeita o garanhão¹².

Relativamente à palpação transretal do trato reprodutivo da égua, deve ser avaliada a tonicidade da cérvix e do útero, sendo que durante o estro, a cérvix e o útero se encontram flácidos e relaxados e durante o diestro se encontram tónicos¹². Os ovários devem também ser palpados para a existência de folículos de grandes dimensões, como acontece durante o estro¹². Durante o diestro, apesar do corpo lúteo estar presente, este não é palpável à superfície do ovário, uma vez que se projeta para o parênquima ovárico a partir da fossa de ovulação¹⁰.

Como referido, a ecografia transretal transmite dados importantes, tais como, a presença de um corpo lúteo (na fase de diestro) ou de um folículo dominante (na fase de estro)¹², cuja dimensão é avaliada por ecografia. Além da avaliação dos ovários, através de ecografia é ainda possível avaliar o grau de edema endometrial¹². Estão descritas diferentes escalas de avaliação de edema endometrial, porém no presente estudo foi considerada uma escala de 0 a 3 (0, sem edema; 1, edema ligeiro; 2, edema moderado; 3, edema elevado)^{27, 28}. Durante o diestro o útero possui grau 0 de edema endometrial, devido à ação da progesterona¹². Já durante o estro, em consequência de níveis séricos elevados de estradiol mas baixos de progesterona, existe edema endometrial e o seu grau (1, 2 ou 3) varia ao longo desta fase²⁷.

Por fim, a palpação vaginal e a sua avaliação através de um espéculo vaginal são muito úteis na avaliação da cérvix, permitindo explorar a sua coloração, posição e se esta se encontra aberta ou fechada, relaxada ou tónica¹². No período de estro, a cérvix apresenta-se rosada, a cair no assoalho vaginal, aberta e relaxada¹². Já durante o diestro, é possível verificar uma cérvix pálida, localizada na vagina cranial, fechada e tónica, apresentando-se longa e estreita¹².

2.2 Identificação dos sinais de ovulação eminente

A identificação dos sinais de ovulação eminente, aquando de uma égua em estro, permite facilitar a previsão do momento da ovulação. Para tal, deve ser avaliado o comportamento da égua, a consistência e sensibilidade do folículo pré-ovulatório¹², os sinais ecográficos do folículo pré-ovulatório⁷ e o grau de edema uterino através de ecografia transretal¹².

Relativamente ao comportamento da égua, deve ser tida em conta a intensidade da recetividade ao garanhão, uma vez que imediatamente antes da ovulação esta torna-se muito exuberante¹².

A consistência e sensibilidade do folículo pré-ovulatório, avaliadas por palpação transretal, também são relevantes, uma vez que o folículo pré-ovulatório, com a aproximação da ovulação apresenta menor consistência e maior sensibilidade¹².

Os sinais ecográficos do folículo pré-ovulatório são um bom indicador da previsão da proximidade do momento da ovulação⁷. Foi estabelecido, por Tazawa *et al.*, (2017) um sistema de previsão da ovulação baseado nas características ecográficas do folículo pré-ovulatório que considerou os seguintes sinais de ovulação eminente: parede folicular espessa e hiperecótica, forma do folículo irregular com bordos recortados, parede folicular interna irregular, camada anecoica em torno do folículo, ponteados hiperecóticos no fluído folicular e aparecimento do estigma folicular⁷. No que se refere ao diâmetro do folículo pré-ovulatório este não permite fidedignamente prever o momento da ovulação, uma vez que existe uma elevada variação do mesmo 24 horas pré-ovulação, quer individualmente, quer conforme a raça, a época do ano e o número de folículos pré-ovulatórios²⁷.

O grau de edema uterino varia ao longo do período de estro²⁹. No início do mesmo o útero possui grau 1 de edema endometrial, mas com o decorrer deste período, em consequência do aumento da concentração sérica de estradiol, o grau de edema endometrial aumenta, passando a grau 3²⁹. Mais tarde, com o aproximar da ovulação, o edema uterino vai ficando cada vez menos exuberante²⁷ e, aproximadamente 24 a 48 horas antes da ovulação¹², é frequente existir um grau 1 ou 2 de edema uterino²⁹ devido a um pico de estradiol e um consequente aumento do número de recetores de progesterona²⁷.

3. Indução da ovulação e a sua influência no manejo reprodutivo

Como foi referido no capítulo 2, a identificação dos sinais de ovulação eminente é uma ferramenta auxiliar bastante importante na previsão da ovulação⁷. Porém, dada a natureza subjetiva e a variação individual associada a esses sinais, a determinação do momento exato da ovulação continua a ser uma tarefa complicada⁶ mas necessária, principalmente aquando da implementação de programas de IA¹. Cada vez mais, os proprietários de equinos, têm especial preferência pela técnica de IA, daí a necessidade de incluir no manejo reprodutivo da égua os protocolos de indução da ovulação⁵.

A indução da ovulação corresponde ao avanço controlado, antecipação ou programação da ovulação¹⁸ para um intervalo de tempo específico, mais precisamente entre as 24 a 48 horas após o tratamento²⁸. Posto isto, o objetivo principal da indução da ovulação é que a ovulação ocorra numa janela de tempo facilmente previsível, para que a IA seja realizada no intervalo mais conveniente, permitindo tornar os programas reprodutivos mais eficientes⁵, ou seja, melhorar a relação custo/eficácia por ciclo e otimizar as taxas de fertilidade⁹. Sendo assim, é também muito importante avaliar o impacto da administração de diferentes AIO na fertilidade após a IA.

É ainda de sublinhar a especial importância da administração de AIO aquando da IA com sémen congelado⁴. O sémen congelado é cada vez mais solicitado pelos proprietários de equinos europeus, especialmente os direcionados para o desporto¹. Porém, os programas de IA com este tipo de sémen apresentam algumas particularidades que aumentam a necessidade de utilização de programas de indução da ovulação⁴. Primeiro, no que toca à sua disponibilidade, os MV geralmente só possuem uma a três doses de sémen congelado por cada ciclo⁴, mas os programas de indução da ovulação vão permitir rentabilizar as doses de sémen congelado disponíveis⁴, uma vez que estes possibilitam ao MV determinar com mais precisão o momento da ovulação³⁰. Além disso, enquanto que para a inseminação artificial com sémen fresco e refrigerado a ovulação pode ocorrer até 48 horas e até 12 ou 24 horas após a IA, respetivamente, a IA com sémen congelado deve ser realizada num intervalo mais próximo da ovulação, no máximo 12 horas antes ou 6 horas após a mesma²². Este facto tem a ver com a durabilidade do sémen congelado, uma vez que o processo de congelação provoca alterações irreparáveis no sémen, diminuindo a sua durabilidade no trato reprodutivo da égua⁴. Posto isto, mais uma vez a indução da ovulação desempenha um papel fulcral, pois ao permitir ao MV prever o momento da ovulação possibilita que a IA seja realizada no intervalo de tempo referido⁴.

Existem ainda outras situações em que os AIO são úteis, nomeadamente, quando se utilizam ganhões de valor económico elevado e com número de montas condicionadas por ciclo, quando são escolhidos ganhões com fertilidade reduzida ou com baixa concentração espermática e/ou curta longevidade ⁹, como forma de garantir o intervalo de tempo adequado entre montas naturais ³¹. Também é de destacar a importância da indução da ovulação na sincronização de éguas dadoras e recetoras de embriões²³ e ainda no manejo reprodutivo de éguas com elevada suscetibilidade a endometrites pós-cobrição³², que requerem um número limitado de inseminações⁹.

4. Condições para administração de um agente indutor da ovulação

Definir as condições para administração de um AIO é essencial para o sucesso de um programa de indução da ovulação.

Em primeiro lugar, para a administração de um AIO a égua deve estar em estro^{9, 23, 28, 31, 33-35} há pelo menos 2 dias²⁸ pelo que devem ser utilizadas as ferramentas de estadiamento do ciclo éstrico mencionadas no capítulo 2.1. Em segundo lugar devem ser tidos em conta parâmetros como o diâmetro folicular, o edema endometrial e a tonicidade do cérvix²⁸, que serão caracterizados seguidamente.

4.1 Diâmetro folicular médio

Uma vez que o número de recetores de LH, ao nível do folículo dominante, é diretamente proporcional ao diâmetro médio do mesmo²², é de extrema importância definir qual o diâmetro médio ótimo para efetuar a administração de um AIO²⁸.

É de notar que o diâmetro médio do folículo dominante varia com a raça^{12, 28}. Assim, foram estabelecidos, consoante a raça, intervalos de diâmetros médios foliculares ótimos para administração do AIO, para que a ovulação ocorra nas 24 a 48 horas após o tratamento²⁸. Esses intervalos estão descritos na tabela abaixo.

Tabela 1- Intervalos de diâmetros médios foliculares recomendados para a administração de um AIO²⁸.

Raça	Diâmetro folicular médio ideal (mm) para a administração de AIO
Puro sangue inglês	35-45
Puro sangue árabes, Pónei e Quarto de milha	30-40
Frísia	45-55

No estudo de Green *et al.*, (2007) foi avaliado, em éguas de diferentes raças, o efeito do diâmetro folicular médio no momento do tratamento com AIO na percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento. Nesse estudo, os valores de diâmetros foliculares foram agrupados em classes (< 34 mm; 35 – 39 mm; 40-44 mm; 45-49 mm; 50- 54 mm; > 55 mm), sendo que a resposta ovulatória foi consideravelmente superior aquando da administração do AIO na presença de folículos de 35 – 39 mm e de 40-44 mm, 57,5% e 27,5% respetivamente. Nas restantes classes, a resposta à indução da ovulação foi sempre inferior a 8,5%, pelo que, tal como foi descrito por McCue *et al.*, (2007) é recomendada administração de um AIO aquando de folículos de diâmetros médios compreendidos entre 35 e 45 mm.

4.2 Edema endometrial

Segundo a escala de edema endometrial considerada no presente estudo (escala de 0 a 3), é recomendada a administração do AIO na presença de grau de edema de 2 ou 3²⁸. No entanto, existem diferentes considerações relativamente à utilização do grau de edema endometrial como critério para a realização do tratamento de indução da ovulação. Samper *et al.*, (2002) concluíram que a presença de edema endometrial no momento do tratamento está associada a um aumento da resposta ovulatória ao AIO. Apesar destas considerações, Green *et al.*, (2007) não obtiveram uma variação significativa da percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento em função do grau de edema uterino no momento do tratamento.

Ainda no estudo realizado por Green *et al.*, (2007), estes verificaram também uma correlação positiva entre a redução de edema uterino nas 24 horas após o tratamento e a ocorrência de ovulação nas 24 a 48 horas após o tratamento. Assim, é possível afirmar, que o grau de edema uterino, não só deve ser utilizado como critério para administração de um AIO, mas deve também ser tido em conta nas 24 horas após o tratamento, pois constitui um dado relevante na previsão da resposta ovulatória à indução da ovulação²⁹.

4.3 Tonicidade cervical

Como referido no capítulo 2.2, durante o estro a cérvix encontra-se relaxada e não tónica¹². Tendo em conta que o tratamento de indução da ovulação deve ser realizado em éguas em estro, é necessário que a cérvix no momento do tratamento esteja relaxada²⁸. No estudo de Green *et al.*, (2007), que relacionou a tonicidade cervical no momento do tratamento com a resposta ao tratamento de indução da ovulação, permitiu considerar que

éguas que apresentem tonicidade cervical no momento do tratamento de indução da ovulação possuem 2,37 vezes menos probabilidade de ovularem dentro das 48 horas após o tratamento, comparativamente com éguas que apresentem uma cérvix relaxada.

Assim, a tonicidade cervical, no momento da indução da ovulação, corresponde a um importante fator a ter em conta²⁸.

5. Definição do sucesso da indução da ovulação

De forma a ser possível comparar diferentes programas de indução da ovulação, é essencial definir como é avaliada a taxa de resposta a um programa de indução da ovulação.

É considerada uma resposta positiva ao protocolo de indução quando a ovulação ocorre nas 24 a 48 horas após o tratamento^{23, 28}. Assim, a ausência de ovulação após o tratamento ou a ocorrência de ovulações nas primeiras 24 horas após o tratamento ou depois das 48 horas após o tratamento, correspondem às três situações que caracterizam a falha da indução da ovulação^{23, 36}.

As ovulações que ocorrem nas primeiras 24 horas após o tratamento, são denominadas ovulações espontâneas^{23, 28} e correspondem a ovulações que se desenvolvem em resultado de um pico de LH endógeno³⁷ e não devido à administração do AIO. Ou seja, significa que o folículo dominante já iria ovular independentemente do tratamento ser realizado²⁸. Relativamente às ovulações a partir das 48 horas após o tratamento, são também ovulações não induzidas pelo AIO²⁸.

É ainda importante referir que os critérios mais utilizados para a avaliação da eficácia dos protocolos de indução correspondem ao momento da ovulação (em horas) e à percentagem de ovulações após o tratamento. Relativamente a esta percentagem, apesar de existirem estudos que utilizam para a avaliação da eficácia de um determinado protocolo de indução a percentagem de ovulações nas 48 horas após o tratamento, como McCue *et al.*, (2007) e Voge *et al.*, (2012), outros recorrem à percentagem de ovulações entre as 24 e as 48 horas após o tratamento, como é o caso de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020) e Gastal *et al.*, (2006).

É ainda de considerar que existem alguns fatores que podem influenciar o sucesso da indução da ovulação²⁸. Assim, de seguida, serão abordados os AIO disponíveis e posteriormente serão caracterizados os fatores que influenciam o seu funcionamento.

6. Agentes indutores da ovulação disponíveis

Os dois AIO principais são a hCG e os agonistas da GnRH³⁰. Também podem ser consideradas outras opções, tais como a hormona luteinizante equina (eLH) e a hormona luteinizante recombinante equina (reLH)²³.

Assim, dada a panóplia de AIO disponíveis, para a sua seleção devem ser tidos em conta vários fatores, tais como, o seu mecanismo de ação, o modo de administração e a dose a administrar, o momento da ovulação, a taxa de resposta e as vantagens e desvantagens associadas ao AIO selecionado.

6.1 Hormona gonadotrofina coriônica humana

A hCG começou a ser utilizada como AIO em 1930⁶. Esta hormona corresponde a uma glicoproteína produzida pelas células da placenta⁶ e extraída a partir da urina de humanos²⁸.

A hCG está disponível na Europa⁶, com o nome comercial *Chorulon^R*, aprovado pela “Food and Drug Administration” (FDA).

6.1.1 Mecanismo de ação

Em termos de mecanismo de ação, a hCG vai desempenhar uma atividade biológica do tipo LH¹⁹. Ou seja, vai ligar-se aos recetores da LH³², induzindo assim a maturação e posterior ovulação do folículo dominante^{5,38}. Tazawa *et al.*, (2017) e Gastal *et al.*, (2006) descreveram também que a administração de hCG está associada à estabilização do crescimento do folículo pré-ovulatório e, conseqüentemente, do seu diâmetro médio, levando a que o diâmetro médio do folículo pré-ovulatório seja menor em éguas tratadas com hCG, comparativamente a éguas com ovulações espontâneas.

6.1.2 Via de administração e dose a administrar

A hCG pode ser administrada pela via subcutânea⁶, intravenosa ou intramuscular⁹.

Relativamente à dose a administrar, está descrito um intervalo de 1500 a 3000 UI²⁸. No entanto as doses de 1500 UI e 2500 UI são as mais utilizadas na prática clínica⁷ e apresentam eficácia equivalente na indução da ovulação entre as 24 e as 48 horas após o tratamento⁷.

Foram também estudadas doses inferiores a 1500 UI, nomeadamente 500 UI e 750 UI. Gastal *et al.*, (2006), avaliaram a eficácia de diferentes doses de hCG (500 UI, 1500 UI e 2500 UI) na indução da ovulação e obtiveram uma taxa de ovulações, entre as 24 e as 48

horas após o tratamento, consideravelmente inferior aquando da administração de 500 UI em comparação com a administração de 1500 ou 2500 UI (48%, 95% e 96% para as doses de 500 UI, 1500 UI e 2500 UI, respetivamente). Ou seja, tal como também foi descrito por Tazawa *et al.*, (2017), a dose de 500 UI de hCG é ineficaz na indução da ovulação em éguas. Relativamente à dose de 750 UI, Davies Morel & Newcombe, (2008) e Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), definiram que esta possui eficácia equivalente às doses de 1500 e 2500 UI de hCG. Assim, a dose de 750 UI, pode ser uma boa opção a considerar, pois ao ser tão eficaz como doses superiores, permite que o protocolo de indução da ovulação com hCG se torne mais económico^{23, 34}.

No que diz respeito a doses superiores a 5000 UI de hCG, existem diferentes considerações relativamente ao seu efeito na fertilidade^{28, 39} que serão descritas no capítulo 8.

6.1.3 Momento da ovulação e percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento

Na presença das condições de administração referidas no capítulo 2.4.1, a ovulação ocorre às 36 horas após o tratamento²⁹⁻³¹ podendo ser considerado um desvio padrão de quatro ou oito horas²⁸. É ainda de referir alguns estudos como Gastal *et al.*, (2006), McCue *et al.*, (2007) e Vanderwall *et al.*, (2001) que obtiveram tempos entre o tratamento e a ovulação de 44 ± 1 horas, $2,0\pm 0,7$ dias e $2,2\pm 0,1$ dias após o tratamento, respetivamente.

Relativamente à percentagem de ovulações após o tratamento, nos estudos de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), Gastal *et al.*, (2006) e Green *et al.*, (2007), que avaliaram a eficácia da hCG enquanto AIO, foram obtidas percentagens de ovulações de 78%, 95% e 60% nas 24 a 48 horas após o tratamento com hCG, respetivamente. No entanto, dado que nos diferentes estudos foram utilizados diferentes critérios de administração da hCG, diferentes vias de administração e doses, é difícil realizar uma comparação de resultados.

6.1.4 Vantagens

A principal vantagem associada à administração de hCG enquanto AIO é a sua elevada disponibilidade comercial, inclusivamente em Portugal⁴⁰, associada à sua eficácia^{6, 29}. Em comparação com outros AIO, a bibliografia descreve que esta possui um custo reduzido na Europa, razão esta que leva a que a maioria dos MV europeus utilizem

a hCG como AIO de primeira escolha⁶. No entanto em Portugal, tanto quanto é do nosso conhecimento, a hCG, em comparação com os restantes AIO disponíveis, acaba por não ser a opção mais económica.

O facto de a hCG ser administrada em formato injetável, pela via subcutânea⁶, intravenosa ou intramuscular⁹, permite que os protocolos de indução da ovulação com esta hormona sejam mais práticos em comparação com outros protocolos que utilizam AIO não injetáveis⁶.

Como referido acima, no capítulo 3, a programação da ovulação aquando de programas de IA com sémen congelado é bastante vantajosa⁴, sendo a hCG um dos AIO mais utilizado nesse tipo de programas de IA²⁸. Assim, quando o objetivo é realizar inseminação artificial com sémen congelado, é recomendado que a administração de hCG seja realizada à meia-noite, esperando-se resposta aproximadamente 36 horas depois da administração, ou seja, entre as oito da manhã e as quatro da tarde do dia seguinte²⁸. Apesar de poder também ser considerada a administração da hCG ao meio dia, nesse caso, é esperado que a égua ovule a partir da meia-noite do dia seguinte, o que reduz a disponibilidade, em termos de equipa médico-veterinária, para o acompanhamento e controlo da égua²⁸.

6.1.5 Desvantagens

Uma das desvantagens associada à administração de hCG é o facto de esta ser uma hormona sintetizada *in vivo*, correspondendo a um produto biológico com diferentes graus de pureza³¹.

Outra das desvantagens a considerar é que, segundo alguns autores, como Samper (2008), a utilização deste AIO em ciclos consecutivos está associada a uma perda de eficácia na indução da ovulação, pelo que, estudos recentes, tais como Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), defendem a utilização da hCG limitada a uma ou duas administrações por ano. Além disso, está também descrita uma produção de anticorpos anti-hCG após administrações da mesma em ciclos consecutivos^{6, 28} podendo esta produção ser minimizada com a redução da dose administrada⁸. Apesar de anteriormente alguns autores considerarem que a formação de anticorpos não está associada à queda da eficácia da hCG referida acima^{28, 29}, estudos recentes tais como Newcombe & Cuervo-Arango, (2017) defendem esta associação.

Existem ainda outros estudos que não obtiveram uma redução da eficácia da hCG após sua utilização em ciclos consecutivos, tais como Gastal *et al.*, (2006) pelo que tendo em conta a interferência dos anticorpos anti-hCG na queda de eficácia da mesma, esta discrepância entre estudos pode dever-se à variação individual inerente a cada égua, no que diz respeito ao desenvolvimento de anticorpos e à sua persistência na circulação periférica⁶.

6.2 Agonistas da hormona libertadora de gonadotrofinas

Como referido no capítulo 1.1.3, a GnRH é sintetizada pelo hipotálamo e vai desempenhar um papel essencial no controlo da atividade reprodutiva, nomeadamente através do seu efeito ao nível das gonadotrofinas, LH e FSH¹². Posto isto, os agonistas sintéticos da GnRH, que possuem uma potência superior à GnRH endógena^{5, 23}, são hoje, em conjunto com a hCG, os AIO mais utilizados na Europa⁶.

Tendo em conta que, tal como referido acima, a utilização da hCG deve ser limitada a uma ou duas administrações por época reprodutiva²³, os agonistas da GnRH correspondem a uma opção importante a considerar⁶. No entanto, dado o elevado custo e reduzida disponibilidade dos agonistas da GnRH na Europa, estes correspondem aos AIO de segunda linha⁶, sendo recomendada a utilização da hCG nos primeiros e segundos ciclos da época e os agonistas da GnRH nos ciclos seguintes, se necessário³⁰.

Mecanismo de ação

Em termos de mecanismo de ação, a administração de um agonista da GnRH vai induzir a libertação endógena de LH e FSH a partir da pituitária anterior^{28, 38}. É assim desencadeada uma onda de LH endógena que estimula a maturação folicular e a rutura da parede folicular, ou seja, a ovulação⁴¹. É de referir que a administração dos agonistas da GnRH pela via subcutânea leva ao desenvolvimento de uma onda de LH mais prolongada (oito horas) comparativamente à administração dos mesmos pela via intramuscular ou intravenosa (três horas)⁴².

6.2.1 Agonistas da GnRH disponíveis

Existem quatro formulações de agonistas da GnRH utilizadas como AIO, nomeadamente: o acetato de deslorelina, o acetato de buserelina, o acetato de histrelina⁵ e o acetato de triptorrelina (AT)²³. Cada um deles será caracterizado relativamente à dose e modo de administração, momento da ovulação e à percentagem de ovulações nas 24 a

48 horas após o tratamento. Serão ainda descritas as vantagens e desvantagens associadas aos mesmos.

6.2.1.1 Acetato de deslorelina

O acetato de deslorelina corresponde ao agonista da GnRH mais comumente utilizado na indução da ovulação^{5, 30}, permitindo que a mesma ocorra em aproximadamente 40 horas após o tratamento³⁸.

6.2.1.1.1 Vantagens

A administração de acetato de deslorelina, contrariamente à administração de hCG, não está associada a um decréscimo de eficácia aquando da sua administração em múltiplos ciclos de uma determinada época reprodutiva e não está descrita uma variação da fertilidade após a inseminação consoante a dose administrada²⁸.

Tal como foi referido relativamente à administração de hCG, também o acetato de deslorelina se apresenta muito útil nos programas de inseminação artificial com sémen congelado²⁸. No entanto, aquando deste tipo de programas de inseminação, o esquema de administração recomendado para o acetato de deslorelina é diferente do hCG, devendo ser realizada a administração às sete da tarde ou às oito da manhã, esperando que a ovulação ocorra aproximadamente 40 a 41 horas depois, ou seja, às oito da manhã ou à meia-noite do dia seguinte, respetivamente²⁸.

6.2.1.1.2 Formulações disponíveis de acetato de deslorelina

O acetato de deslorelina pode ser administrado em formato de implante, Ovuplant^R, ou em formato injetável, SucroMate^{R31}, sendo que cada um destes formatos de administração será caracterizado seguidamente.

a) Implante de acetato de deslorelina

O Ovuplant^R corresponde a um implante subcutâneo constituído por 2,1 mg de acetato de deslorelina aprovado pela FDA³¹. A administração do mesmo pode ser realizada no pescoço ou na vulva³¹ quando os critérios para a administração de um AIO, referidos no capítulo 4, estejam reunidos²⁸.

Momento da ovulação e percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento

Relativamente ao momento da ovulação após o tratamento, Vanderwall *et al.*, (2001) obtiveram $2,2 \pm 0,1$ dias, Campbell (2015) descreveu $40,7 \pm 3,2$ horas e Finan *et al.*, (2016), obtiveram $38,6 \pm 2,1$ horas entre o tratamento e a ovulação.

No que se refere à percentagem de ovulações, Finan *et al.*, (2016) obtiveram 80,6% de ovulações entre as 24 e as 48 horas após o tratamento com Ovuplant^R.

Tal como referido relativamente à hCG, a comparação dos resultados de diferentes estudos é difícil, tendo em conta os diferentes critérios utilizados para a administração dos AIO, as diferentes doses e vias de administração. A implementação de diferentes protocolos de controlo reprodutivo entre estudos, no se que refere à frequência de ecografias até a ovulação, também dificulta a sua comparação, diferença esta verificada entre os estudos de Vanderwall *et al.*, (2001) e Finan *et al.*, (2016) citados anteriormente.

Vantagens

Segundo alguns autores, tais como Vanderwall *et al.*, (2001), a administração de Ovuplant^R possui eficácia equivalente à administração de hCG, nomeadamente em termos de resposta ovulatória e fertilidade após a IA. Contrariamente Samper *et al.*, (2002) obtiveram um momento de ovulação mais previsível aquando do tratamento com Ovuplant^R em comparação com o tratamento com hCG e obtiveram também um tempo médio, em horas, desde o tratamento até à ovulação, menor aquando do tratamento com Ovuplant^R em comparação com o tempo médio obtido após a administração de hCG. No entanto, existem ainda autores que descrevem um tempo médio entre o tratamento e a ovulação, menor aquando da utilização de hCG e maior aquando da administração de Ovuplant^R, nomeadamente 35,9 horas e 40,7 horas após o tratamento, respetivamente⁹.

Assim, é importante notar que apesar das diferenças obtidas entre estudos, é consensual que o Ovuplant^R corresponde a um AIO muito vantajoso na indução da ovulação, podendo corresponder a uma opção eficaz à administração de hCG. É ainda de sublinhar que o Ovuplant^R possui especial utilidade nos programas de IA com sémen congelado, dada a elevada previsibilidade da ovulação após sua administração⁹.

Desvantagens

Segundo alguns autores, tais como Vanderwall *et al.*, (2001), uma das principais desvantagens associada à utilização do Ovuplant^R é o aumento do período inter-

ovulatório após a sua administração, em éguas que não tenham ficado gestantes. Está descrito que este prolongamento do período inter-ovulatório ocorre em consequência de um efeito de *feedback* negativo, provocado pelo implante, ao nível da produção endógena de GnRH⁴³, levando a uma diminuição da secreção de FSH e LH e desse modo afetando o recrutamento e crescimento folicular⁴³. É de referir ainda que este aumento do intervalo ovulatório, é mais exuberante na presença de folículos pré-ovulatórios de menores diâmetros médios, quando o tratamento decorre mais no final da época reprodutiva⁴³ e quando é realizada a administração de PGF2 α para indução da luteólise⁸. Apesar do efeito descrito no prolongamento do intervalo inter-ovulatório, Newcombe & Cuervo-Arango, (2017) referiram que se o implante for administrado na mucosa vulvar em vez de no pescoço e for retirado após a ovulação, são evitadas alterações do período inter-ovulatório.

Outras desvantagens a ter em conta relativamente à utilização do Ovuplant^R, é que para a sua administração e remoção, é sempre necessário o auxílio do MV, correspondendo este a um dos fatores que encarece este tratamento⁶. Além disso, estão descritas inflamações locais associadas às zonas de administração do implante³¹.

Em termos de disponibilidade, a utilização do implante de acetato de deslorelina não é permitida em alguns países da Europa, pelo que, muitas vezes os MV europeus têm que procurar outras opções⁶. Em Portugal existe um implante de 4,7 mg ou 9,4 mg de acetato de deslorelina (*Suprelorin^R*) direcionado para o tratamento de canídeos e furões, no entanto esta formulação, apesar de disponível em Portugal, tanto quanto é do nosso conhecimento, não existem estudos que avaliem a sua eficácia na indução da ovulação em éguas⁴⁴.

b) Acetato de deslorelina injetável

O acetato de deslorelina injetável corresponde também a uma opção a considerar aquando da implementação de programas de indução da ovulação. Está descrita a sua administração intramuscular^{30-32, 45} em doses de 1,5 mg^{5, 30, 45}, 1,8 mg³² e ainda 1,25 mg³¹. Em 2010, o produto comercial SucroMate^R, que contém como princípio ativo o acetato de deslorelina (1,8 mg/mL), foi aprovado pela FDA para a indução da ovulação em éguas³².

Momento da ovulação e percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento

Relativamente ao momento da ovulação após o tratamento, McCue *et al.*, (2007), Lindholm *et al.*, (2011) e Ferris *et al.*, (2012) obtiveram $1,9\pm 0,7$ dias, $1,97\pm 0,5$ dias e $41,4\pm 9,4$ horas desde o tratamento com *Sucromate*^R até à ovulação. Apesar das diferenças entre os estudos, os momentos de ovulação obtidos vão de encontro com o que está descrito relativamente ao tempo desde o tratamento com acetato de deslorelina até à ovulação, nomeadamente 40 horas após o tratamento, como foi referido no ponto 6.2.1.1³⁸. No que se refere à percentagem de ovulações, no estudo de Finan *et al.*, (2016) 93,8% das ovulações obtidas ocorreram 24 a 48 horas após o tratamento.

Vantagens

Uma das vantagens a realçar relativamente à administração de *SucroMate*^R, comparativamente ao implante, é que não está descrito um aumento do intervalo interovulatório em éguas que não ficaram gestantes, após a sua administração³⁰. Este facto é justificado pela curta duração da sua biodisponibilidade, não sendo desenvolvido um efeito de *feedback* negativo ao nível da GnRH endógena, como está descrito após administração do implante^{30, 31}

Outra das vantagens associadas ao acetato de deslorelina injetável é o facto de este apresentar eficácia equivalente ao implante³¹, possuindo uma via de administração mais prática, não estando associado a inflamações no local de administração³¹. Possui também eficácia equivalente à hCG^{30, 32, 45}, podendo ser uma boa opção a considerar aquando da impossibilidade de administração da mesma³⁰.

Desvantagens

A principal desvantagem associada ao *SucroMate*^R é que este não está licenciado no mercado veterinário europeu, sendo necessária a sua importação com um certificado específico que nem sempre é fácil de obter⁶. Assim, a maior parte dos MV europeus acabam por ter que procurar outras opções de AIO injetáveis agonistas da GnRH⁶. Tanto quanto é do nosso conhecimento, não estão disponíveis em Portugal outras formulações de acetato de deslorelina injetáveis equivalentes ao *SucroMate*^R ^{46, 47}.

6.2.1.2 Acetato de histrelina

Tal como foi referido anteriormente, também o acetato de histrelina corresponde a um AIO agonista da GnRH. Está descrita a sua administração pela via intramuscular na dose de 0,5 mg e 1 mg^{5, 35}.

Relativamente à sua eficácia na indução da ovulação, Lindholm *et al.*, (2011) realizaram um estudo comparativo da eficácia do acetato de deslorelina e de histrelina na indução da ovulação obtendo uma taxa de ovulação e intervalo de tempo até à ovulação equivalente entre éguas tratadas com acetato de deslorelina injetável e éguas tratadas com 0,5 mg ou 1 mg de acetato de histrelina. Voge *et al.*, (2012) compararam a eficácia da hCG e do acetato de histrelina, nas doses de 1 mg e 0,5 mg, e obtiveram resultados concordantes com o estudo de Lindholm *et al.* (2011).

Apesar da eficácia comprovada do acetato de histrelina enquanto AIO⁶, este está apenas disponível para comercialização na América, sendo que os MV europeus têm que recorrer a outras opções²³.

6.2.1.3 Acetato de buserelina

O acetato de buserelina, outro agonista sintético da GnRH, é também útil enquanto AIO²³. Existem duas formulações do mesmo, uma de baixa concentração, Receptal^R, e outra de elevada concentração, Suprefact^{R6, 23}.

a) **Receptal^R**

O *Receptal^R* (4µg/mL de acetato de buserelina) é um fármaco licenciado em Portugal para indução da ovulação em equinos^{6, 48}. É recomendada a via de administração intravenosa, estando descritos três protocolos de administração, nomeadamente: quatro administrações de 40 µg a cada 12 horas, 20 µg a cada 12 horas ou três administrações de 13,3 µg a cada seis horas⁴⁹.

Relativamente ao momento da ovulação após o tratamento com *Receptal^R*, Barrier-Battut *et al.*, (2000) obtiveram ovulações às 48±0 e 43±10 horas após o tratamento com 40 µg a cada 12 horas. No mesmo estudo, para a dose de 20 µg a cada 12 horas e 13,3 µg a cada seis horas foram obtidas ovulações às 39,5±3,1 e 43,1±2,1 horas, respetivamente.

No que se refere à percentagem de ovulações entre as 24 e as 48 horas após o tratamento com *Receptal^R*, Barrier-Battut *et al.*, (2000), obtiveram percentagens de 47%

e 57% para a dose de 40 µg a cada 12 horas, uma percentagem de 64% para a dose de 20 µg a cada 12 horas e 60% para a dose de 13,3 µg a cada seis horas.

Barrier- Battut *et al.*, (2000) compararam ainda a eficácia do *Receptal*^R e da hCG na indução na ovulação e não obtiveram diferenças estatisticamente significativas entre os dois AIO, pelo que estes autores consideram que o *Receptal*^R pode ser uma opção eficaz tal como a administração de hCG. No entanto, estudos recentes como Newcombe & Cuervo-Arango, (2017), referem que a administração de *Receptal*^R está associada a um maior tempo entre o tratamento e a ovulação e a uma menor percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento.

Também é importante considerar que todas as doses descritas para o *Receptal*^R requerem a sua administração a cada seis ou a cada doze horas, sendo este um plano de administração pouco prático, especialmente se as éguas se encontrarem em manada ou no campo^{6, 23}. Além disso, tendo em conta a baixa concentração do *Receptal*^R e a dose mínima de acetato de bursereлина eficaz na indução da ovulação após administração de uma dose única (0,125 mg), esta técnica é impraticável, pois seriam necessários volumes muito elevados para que a mesma fosse efetiva⁶.

b) *Suprefact*^R

O *Suprefact*^R, um fármaco aprovado para utilização em medicina humana²³, corresponde a uma formulação de concentração elevada de acetato de bursereлина (1,05 mg/mL)⁴². Este possui eficácia comprovada na indução da ovulação aquando de uma única administração de 0,125 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg e 6 mg pela via subcutânea²³.

Relativamente ao momento da ovulação após o tratamento, Levy & Duchamp, (2007) obtiveram 1,9±0,05 dias desde o tratamento até à ovulação e uma percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento de 68% e 89% após a administração de 6 mg de *Suprefact*^R. Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020) obtiveram para as doses de 6 mg, 3 mg, 2 mg e 1 mg percentagens de 78%, 85%, 83% e 87%, respetivamente, sendo que as diferentes percentagens obtidas não foram significativamente diferentes. Newcombe & Cuervo-Arango, (2017) obtiveram para as doses de 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg e 0,125 mg percentagens de 85 a 90%, tendo estes concluído também que as doses administradas possuem eficácia equivalente na indução da ovulação. Nos três estudos referidos acima,

todos concluíram que a hCG e o *Suprefact*^R apresentam eficácia similar na indução da ovulação.

O *Suprefact*^R é uma formulação de acetato de buserelina eficaz na indução da ovulação através da administração de uma dose única pela via subcutânea, o que é considerada uma dupla vantagem⁴². Primeiro, o plano de administração torna-se mais prático, comparativamente ao plano de administração do *Receptal*^{R23} que implica a administração de múltiplas doses intravenosas, e, tal como referido anteriormente, a administração de agonistas sintéticos da GnRH pela via subcutânea, permite a formação de uma onda de LH mais prolongada⁴².

No entanto, a partir de 2016, o *Suprefact*^R deixou de estar disponível para comercialização nos Estados Unidos e em alguns países Europeus, não estando disponível em Portugal⁵⁰⁻⁵², pelo que, apenas 4,3% dos MV da Europa possuem este produto como primeira escolha para a indução da ovulação⁶. Em Portugal, tanto quanto é do nosso conhecimento, também não existem formulações de acetato de buserelina de concentrações equivalentes ao *Suprefact*^{R51,52}. Assim começaram a ser estudadas outras opções eficazes na indução da ovulação, que implicassem também apenas uma única administração subcutânea de um agonista sintético da GnRH, surgindo desta forma o AT²³.

6.2.1.4 Acetato de triptorrelina

O AT corresponde a um agonista sintético da GnRH já com eficácia comprovada enquanto AIO em éguas²³. Como referido, a hormona GnRH é constituída por dez aminoácidos¹², sendo que a molécula de GnRH que constitui o AT possuiu no lugar do aminoácido de glicina um aminoácido de triptofano, o que lhe confere uma elevada afinidade para os seus recetores ao nível da pituitária, elevado tempo de semi-vida e resistência à ação enzimática²³.

Existem duas formulações de AT utilizadas enquanto AIO em éguas: o *OvuGel*^R e o *Decapeptyl*^R.

a) *Ovugel*^R

O *OvuGel*^R corresponde a um gel intravaginal de AT com administração tópica⁵³, que possui eficácia comprovada na indução da ovulação em ovelhas⁵³, mas, tanto quanto

é do nosso conhecimento, a bibliografia existente relativamente à sua eficácia é ainda reduzida.

Sinclair *et al.*, (2017) avaliaram a eficácia do *OvuGel^R* comparando três protocolos de administração, nomeadamente: Protocolo 1, administração de 5 mL de *OvuGel^R* (500µg de AT); Protocolo 2: administração de 10 mL de *OvuGel^R* (1000µg de AT); Protocolo 3: duas administrações, com 24 horas de intervalo, de 5 mL de *OvuGel^R*. Neste estudo concluiu-se que a utilização do protocolo 1 e 2 não possui eficácia na indução de um grande número de ovulações até às 48 horas após o tratamento (56,3%) tal como não permitiu a obtenção de um tempo médio em horas, entre o tratamento e a ovulação, que se incluísse no intervalo de 24 a 48 horas após o tratamento ($72,8 \pm 14$ horas desde o tratamento até ovulação). No mesmo estudo, foi ainda comparada a eficácia da utilização do protocolo 1 e 3. Após a administração do protocolo 1, o tempo médio até ovulação obtido foi de $62,5 \pm 8,8$ horas, sendo que 75% das ovulações ocorreram dentro das 48 horas após o tratamento. Já após administração do protocolo 3, as ovulações ocorreram numa média de $61,5 \pm 9,6$ horas após o tratamento, sendo que apenas 50% das ovulações ocorreram até às 48 horas após o tratamento. Assim em comparação com outros AIO, a administração do *OvuGel^R* leva a uma taxa de ovulações menor, entre as 24 e 48 horas após o tratamento, e a um intervalo de tempo, em horas, superior desde o tratamento até ovulação.

Segundo Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020) esta ineficácia na indução da ovulação associada ao *OvuGel^R* pode dever-se a uma reduzida absorção dos agonistas da GnRH ao nível da vagina.

Relativamente à sua disponibilidade, tanto quanto é do nosso conhecimento, esta formulação não está disponível em Portugal⁵⁴⁻⁵⁶.

b) *Decapeptyl^R*

O *Decapeptyl^R* (0,1 mg/mL) é um fármaco aprovado para utilização em medicina humana e possui como princípio ativo o AT²³. Este recentemente começou a ser considerado uma opção enquanto AIO em éguas estando descrita a sua administração pela via subcutânea numa dose de 0,1 mg²³. Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020) avaliaram a eficácia da administração do *Decapeptyl^R* na dose referida acima e obtiveram uma percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento, de 84,7%. No mesmo estudo, foi ainda possível concluir que a administração de *Decapeptyl^R* apresenta uma

eficácia equivalente à obtida após a administração de hCG ou *Suprefact^R*, na indução da ovulação.

Uma outra vantagem a sublinhar, é que este encontra-se facilmente disponível em Portugal⁵⁷ e está associado a um custo inferior ao hCG⁵⁸. Assim, o AT injetável pode ser uma opção a considerar, especialmente em éguas em que já tenham sido realizadas mais de duas administrações de hCG por época reprodutiva²³ ou quando existe a necessidade de implementar programas de indução da ovulação mais económicos, garantindo da mesma forma a eficácia dos mesmos.

6.3 Hormona luteinizante equina e a hormona luteinizante recombinante equina

A eLH e a reLH são considerados AIO com eficácia equivalente à hCG em éguas²³.

Relativamente à eLH, Gérard & Elodie, (2019) descreveram que a sua administração permite a ovulação em aproximadamente 34 horas após o tratamento. No entanto, a sua comercialização não está aprovada, pois para a sua obtenção é necessária a extração da mesma ao nível da pituitária de equinos, o que em termos éticos não é praticável²³.

No que se refere à reLH, está descrita uma eficácia semelhante à hCG na indução da ovulação, apresentando como vantagem relativamente a esta, o facto de ser menos antigénica em consequência do seu baixo peso molecular²². No entanto, a reLH também não está comercialmente disponível²³.

7. Fatores que condicionam o sucesso da indução da ovulação

No planeamento da indução da ovulação é importante ter em conta alguns fatores que podem condicionar o sucesso da mesma.

Como referido no capítulo 4, os critérios utilizados para a administração de um AIO vão influenciar a sua eficácia, pelo que, aquando da avaliação de um programa de indução da ovulação, devem ser bem definidos os parâmetros utilizados como indicadores para a realização do tratamento⁸. Também a frequência de palpções e ecografias transretais, realizadas desde o tratamento até à ovulação, influencia quer o momento da ovulação quer a percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento⁹. No entanto, existem ainda outros fatores influenciadores do sucesso da indução da ovulação, nomeadamente, a época do ano em que é realizado o tratamento⁶, a idade^{5,6} e a história reprodutiva de cada égua⁴.

7.1 Época do ano

A égua é uma reprodutora sazonal¹⁸, apresentando desta forma, antes e depois da época reprodutiva fisiológica um período de transição inverno-primavera⁴⁵ e um período de transição outono-inverno, respetivamente¹². Estes períodos de transição são caracterizados por uma menor magnitude das ondas de LH, estando associados a uma elevada taxa de folículos anovulatórios¹², a um maior diâmetro médio dos folículos pré-ovulatórios e a intervalos inter-ovulatórios mais prolongados¹².

Tendo em conta que a resposta aos AIO é mais variável durante o período de transição⁴⁵, é essencial avaliar o sucesso da indução da ovulação em diferentes épocas do ano utilizando diferentes AIO⁴⁵. Está descrito que para a indução da ovulação neste período é mais vantajosa a administração de um agonista da GnRH em comparação com a hCG²⁸. No entanto existem diferentes estudos com considerações díspares relativamente à eficácia dos vários AIO disponíveis no período de transição.

Gomes *et al.*, (2014) avaliaram, durante o período de transição, a eficácia da administração de acetato de deslorelina injetável, de hCG e da administração dos dois AIO simultaneamente, e não obtiveram uma variação significativa das percentagens de ovulação entre tratamentos realizados na época de transição ou durante a época reprodutiva fisiológica. Ou seja, tanto o hCG como o acetato de deslorelina injetável foram úteis na indução da ovulação durante o período de transição, não existindo vantagem na administração dos dois AIO concomitantemente. Contrariamente, Green *et al.*, (2007) obtiveram uma percentagem de ovulações, 24 a 48 horas após o tratamento com hCG, menor no início (março a abril) e no fim da época reprodutiva (agosto a outubro), em comparação com o pico da mesma (maio a julho). Green *et al.*, (2007) sugeriram também que esta percentagem é superior aquando do tratamento durante a primavera ou verão em comparação com a sua realização no outono. Ainda relativamente à hCG, Barbacini *et al.*, (2000) verificaram, nos meses de maio, junho e julho, um aumento significativo da percentagem de ovulações dentro das 24 horas após o tratamento, ou seja, uma menor percentagem de ovulações entre as 24 e as 48 horas após o tratamento que significa um menor sucesso do programa de indução da ovulação. No entanto, este aumento do número das ovulações nas primeiras 24 horas após o tratamento ocorre em consequência de um pico endógeno de LH e não como resultado da administração de hCG⁴. Outros estudos, como Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), que

também avaliaram a percentagem de ovulações nas primeiras 24 horas após o tratamento com hCG e AT, não obtiveram uma variação da mesma em diferentes meses do ano.

Existem ainda estudos relativos à eficácia do acetato de buserelina (*Suprefact^R*) em éguas em período de transição e em diferentes meses do ano, tais como Newcombe & Cuervo-Arango, (2017) e Levy & Duchamp, (2007). Levy & Duchamp, (2007) não obtiveram uma variação significativa no momento da ovulação após o tratamento, com acetato de buserelina (*Suprefact^R*) ou hCG, em diferentes meses do ano, apesar de estar decrito um intervalo superior desde o tratamento com AIO até à ovulação no início da época reprodutiva⁹. Newcombe & Cuervo-Arango, (2017) encontraram, em éguas em período de transição e em éguas tratadas no início da época reprodutiva (janeiro a abril), um tempo, entre o tratamento com acetato de buserelina (*Suprefact^R*) e a ovulação, maior. No mesmo estudo, foram obtidas menores percentagens de ovulações em éguas em período de transição mas percentagens equivalentes entre éguas tratadas no início (janeiro a abril) e no pico (maio a julho) da época reprodutiva.

Tendo em conta os estudos mencionados anteriormente, é possível afirmar que a resposta aos AIO pode ser condicionada pela época do ano em que é realizado o tratamento²⁸. Sendo assim, aquando da implementação de um protocolo de indução da ovulação e avaliação da sua eficácia, é imperativo verificar se a época do ano corresponde a um fator influenciador do sucesso do mesmo²⁸.

7.2 Idade

É importante ter em conta a idade da égua aquando da implementação de um programa de indução da ovulação e avaliação da sua eficácia, pois a idade pode influenciar diversos fatores da dinâmica folicular e hormonal durante o ciclo éstrico⁵⁹. Entre estes fatores é de destacar a concentração plasmática de LH, a concentração no fluído folicular de IGF-1, a duração do período inter-ovulatório⁵⁹, o diâmetro médio do folículo pré ovulatório²⁴ e a percentagem de folículos anovulatórios desenvolvidos²².

Morel *et al.*, (2010) obtiveram uma variação significativa nos diâmetros médios dos folículos pré-ovulatórios de éguas de diferentes grupos etários (2 a 7 anos; 8 a 19 anos; >19 anos), sendo que os grupos de éguas mais jovens apresentaram diâmetro médio superior aos grupos de éguas mais velhas. Ou seja, o aumento da idade correlacionou-se negativamente com o diâmetro médio do folículo pré-ovulatório²⁴. Tendo em conta que o número de recetores de LH está diretamente relacionado com o diâmetro médio do

folículo pré-ovulatório, éguas mais velhas vão estar associadas a um menor número de recetores de LH²². Morel *et al.*, (2010), concluiu ainda que as concentrações plasmáticas de LH, durante o período pré-ovulatório, são menores com o aumento da idade. Assim, tendo em conta que a concentração plasmática de LH no período pré-ovulatório está relacionada com o desenvolvimento final do folículo dominante e com a ovulação, éguas mais velhas possuem um crescimento folicular final mais lento e/ou um intervalo superior entre a estabilização do diâmetro médio do folículo pré-ovulatório e a ovulação²⁴. Esta última afirmação vai de encontro ao que está descrito por Ginther *et al.*, (2008), que obtiveram um período interovulatório mais prolongado e uma concentração superior de IGF-1 no fluído folicular em éguas com idade igual ou superior a 18 anos, comparativamente a éguas mais jovens. Está ainda descrito que a percentagem de folículos anovulatórios aumenta com a idade³⁸. Assim, dada a influência que a idade possui nos parâmetros foliculares e hormonais da égua, para a implementação de um programa de indução da ovulação, é essencial reconhecer que este fator pode influenciar a taxa de sucesso do AIO administrado¹⁸

Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), que compraram a eficácia do AT (*Decapeptyl^R*), hCG e acetato de buserelina (*Suprefact^R*) obtiveram, em éguas com idade igual ou superior a 15 anos, um aumento significativo da percentagem de éguas que não ovularam e/ou de éguas que ovularam após as 48 horas após o tratamento. Ou seja, a partir dos 15 anos de idade existiu uma menor percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento. Barbacini *et al.*, (2000), que avaliaram a eficácia da hCG, obtiveram também uma percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento, significativamente inferior em éguas com idades superiores a 16 anos, concluindo que a eficácia da hCG diminui com o aumento da idade das éguas tratadas. Contrariamente, Tazawa *et al.*, (2017) encontraram um tempo médio, desde o tratamento até ovulação, menor em éguas de idades iguais ou superiores a 7 ou 10 anos, comparativamente a éguas com idades inferiores. No entanto, no estudo de Tazawa *et al.*, (2017) a média de idades era inferior à média de idades no estudo de Barbacini *et al.*, (2000). Ainda no estudo de Farquhar *et al.*, (2000), que avaliaram a eficácia do implante subcutâneo de acetato de deslorelina em diferentes intervalos etários (2-4 anos; 5-9 anos; 10-14 anos; 15 a 19 anos; >20 anos), obtiveram uma percentagem de ovulações significativamente menor em éguas com mais de 15 anos, sendo que éguas com mais de 20 anos corresponderam ao grupo em que foi obtida a menor taxa de ovulações.

No entanto, Green *et al.*, (2007), Levy & Duchamp, (2007), McCue *et al.*, (2007), encontraram resultados diferentes dos estudos anteriores. Green *et al.*, (2007) não obtiveram um efeito significativo da idade na percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento com hCG, no entanto, o número de éguas com idades superiores a 15 anos foi reduzido. Levy & Duchamp, (2007) agruparam as éguas em dois grupos etários (éguas com idade ≤ 10 anos; éguas com idade > 10 anos) e obtiveram percentagens de ovulações equivalentes entre os dois grupos de idades após o tratamento com acetato de busserelina (*Suprefact^R*). Também McCue *et al.*, (2007) não obtiveram uma variação da taxa de resposta e momento da ovulação após o tratamento com hCG e com acetato de deslorelina injetável com o aumento da idade, no entanto, a média de idades do referido estudo foi de $13,0 \pm 0,5$ anos e de $10,5 \pm 0,5$ anos para o acetato de deslorelina e para a hCG, respectivamente.

Assim, dada a variação da resposta aos AIO em diferentes estudos em função da idade da égua, para a avaliação do sucesso de um programa de indução da ovulação é impertativo associar os resultados obtidos à idade das éguas tratadas, verificando se houve uma influência da mesma no momento da ovulação e na percentagem de ovulações após o tratamento.

7.3 História reprodutiva

As éguas, consoante a história reprodutiva, podem ser agrupadas em três grupos distintos: éguas que pariram no ano decorrente (*foaling mares*); éguas alfeiras, mas não inseminadas no ano anterior (*maiden mares*); éguas alfeiras e inseminadas no ano anterior (*barren mares*)⁶⁰. É de destacar que as éguas pertencentes ao último grupo, correspondem frequentemente a éguas mais velhas e mais associadas a problemas de fertilidade, devido a perturbações uterinas ou ováricas ou mesmo ao nível dos parâmetros hormonais⁴. Sendo assim, é provável que exista uma variação da resposta aos AIO consoante a história reprodutiva da égua⁴.

No estudo de Voge *et al.*, (2012) foi avaliada a eficácia da hCG e do acetato de histreline em éguas com diferentes histórias reprodutivas e a percentagem de ovulações após o tratamento, não variou significativamente entre *foaling mares*, *maiden mares* e *barren mares*. Já Barbacini *et al.*, (2000) obtiveram uma percentagem de ovulações nas 24 a 48 horas após o tratamento significativamente menor no grupo das éguas alfeiras. Estes resultados vão de encontro aos resultados obtidos por Newcombe & Cuervo-

Arango, (2017) que avaliaram a eficácia da administração de hCG a um grupo de éguas que, na sua maioria (85%), correspondiam a éguas alfeiras. Estes, obtiveram uma percentagem de ovulações após o tratamento, consideravelmente inferior às percentagens descritas por estudos equivalentes (apenas 25,6% das éguas ovularam entre as 32 e as 48 horas após o tratamento).

Assim, apesar das diferenças entre os estudos mencionados, é notório que a história reprodutiva da égua deve ser um fator a ter em conta aquando da avaliação do sucesso de programas de indução da ovulação.

8. Influência da indução da ovulação na fertilidade após a inseminação artificial

A indução da ovulação é considerada um método de controlo folicular preponderante nos programas de IA principalmente aquando da aplicação de sémen congelado. Desta forma é essencial abordar a influência da administração de diferentes AIO na fertilidade após a IA. Tanto quanto é do nosso conhecimento, não existe ainda uma bibliografia muito vasta referente a esta temática, no entanto, a maioria dos estudos que a abordam, focam-se no AIO de primeira escolha, a hCG, ou comparam-no com um agonista da GnRH.

Relativamente à hCG, não é unânime entre estudos se a administração da mesma influência ou não a fertilidade³⁹. Barbacini *et al.*, (2000) concluíram que a sua administração não influencia a fertilidade após a IA com sémen congelado. Também Davies Morel & Newcombe, (2008), não obtiveram uma taxa de fertilidade, após a monta natural, significativamente superior em éguas tratadas com hCG comparativamente a éguas não tratadas. No entanto, relativamente à administração de doses elevadas de hCG, existem diferentes considerações. Segundo alguns autores, tais como McKinnon & Mccue, (2011), a administração de doses superiores a 5000 UI estão associadas a uma redução da fertilidade, mas estudos como Grimmett & Perkins, (2014) obtiveram resultados contraditórios. Estes compararam três doses de hCG, nomeadamente, 1500 UI, 3000 UI e 6000 UI, e concluíram que a sua administração possuiu um efeito significativamente benéfico na fertilidade, independentemente da dose.

Existem também estudos que comparam o efeito, na fertilidade, da administração de hCG com a administração de alguns agonistas da GnRH, nomeadamente Levy & Duchamp, (2007), Voge *et al.*, (2012) e Samper *et al.*, (2002). Levy & Duchamp, (2007) obtiveram, após a IA com sémen congelado, 38,1% e 42,6% de diagnósticos de gestação

positivos em éguas tratadas com acetato de buserelina (*Suprefact^R*) e hCG, respetivamente, sendo que, apesar das taxas de fertilidade de éguas sujeitas a diferentes tratamentos variarem, as diferenças não foram significativas, ou seja, nenhum dos tratamentos influenciou a fertilidade após a IA com sémen congelado. Também Voge *et al.*, (2012) encontraram uma fertilidade, após monta natural ou IA com sémen fresco ou com sémen refrigerado, equivalente entre as éguas tratadas com hCG (68%), 1 mg (68%) e 0,5 mg de acetato de histrelina (61%). Em concordância está também o estudo de Samper *et al.*, (2002) que obtiveram, após monta natural ou IA, fertilidade equivalente entre as éguas tratadas com hCG (66,6%) ou com implantes de acetato de deslorelina (70%).

Apesar das várias considerações de diferentes estudos, é importante ter em conta que a comparação dos seus resultados é difícil, uma vez que a fertilidade é também condicionada por fatores como o tipo de sémen utilizado, a fertilidade inerente a cada garanhão, a frequência de IA relativamente à ovulação, a idade da égua e a sua história reprodutiva³⁷. No entanto, é possível afirmar que a avaliação da taxa de fertilidade após a IA em éguas tratadas com um AIO é um critério essencial a ter em conta na comparação de diferentes protocolos de indução da ovulação.

III. Estudo de caso

1. Introdução

Atualmente em Portugal, a grande maioria dos MV utilizam o controlo reprodutivo associado à IA como principais estratégias de otimização da fertilidade. Este controlo reprodutivo é frequentemente realizado através de palpação e ecografia transretal, feitas de modo regular em associação com a manipulação hormonal do ciclo éstrico^{2,3,6}. Tendo em conta que a indução da ovulação permite prever, com mais precisão, o momento da ovulação após o tratamento²⁸, esta técnica de controlo reprodutivo é essencial aquando da implementação de programas de IA com sémen congelado⁴, uma vez que este tipo de sémen possui uma menor durabilidade no trato reprodutivo da égua⁴, e, portanto, éguas sujeitas a estes programas de inseminação necessitam de um controlo reprodutivo mais exigente³.

Dado que a IA com sémen congelado é cada vez mais requerida na Europa, é imperativo selecionar os AIO mais adequados para o efeito tendo em conta as suas vantagens e desvantagens.

A hCG é considerada o AIO de primeira escolha na Europa⁶, não só pela sua eficácia³⁸, mas também devido à sua elevada acessibilidade em comparação com outros AIO⁶. No entanto, estudos recentes, tais como o realizado por Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020) recomendam a administração de hCG apenas uma a duas vezes por época reprodutiva em consequência de uma possível perda de eficácia da mesma nos ciclos subsequentes, sendo necessária a eleição de um AIO de segunda linha, nomeadamente um agonista da GnRH. Além disso, apesar da bibliografia referir um baixo custo associado a este AIO, em Portugal, em comparação com outros AIO disponíveis, não é o tratamento mais económico⁵⁸.

Relativamente aos agonistas da GnRH disponíveis para a indução da ovulação, são de destacar o acetato de deslorelina, o acetato de histrelina, o acetato de bursereлина⁵ e o acetato de triptorelina (AT)²³. No caso do acetato de deslorelina em formato de implante subcutâneo, *Ovuplant*^R, além da sua administração ser pouco prática em comparação com os AIO injetáveis, a sua utilização não é permitida em alguns países Europeus⁶, não estando disponível em Portugal na concentração pretendida^{44, 47}. No que concerne ao acetato de deslorelina injetável e ao acetato de histrelina, apesar de possuírem eficácia comprovada na indução da ovulação, a sua utilização não está autorizada na Europa^{6, 23}. Relativamente ao acetato de bursereлина, estão descritas duas formulações, o *Receptal*^R e o *Suprefact*^R. O *Receptal*^R, apesar de estar licenciado em Portugal para a indução da ovulação em éguas, possui reduzida eficácia em comparação com outros AIO⁶ e necessita de ser administrado a cada seis ou a cada doze horas, apresentando assim um plano de administração difícil de implementar na prática clínica diária²³. Já o *Suprefact*^R, embora mais eficaz, a partir de 2016 deixou de estar disponível para comercialização na América, e em alguns países Europeus, não sendo comercializado em Portugal⁵⁰⁻⁵². No que se refere ao acetato de triptorelina, existe uma formulação em formato de gel intravaginal, *OvuGel*^R, e uma formulação injetável, *Decapeptyl*^R. O *OvuGel*^R, demonstrou eficácia reduzida na indução da ovulação em éguas, não estando disponível em Portugal⁵⁴⁻⁵⁶, já o *Decapeptyl*^R, demonstrou-se tão eficaz como a hCG e o *Suprefact*^R, na indução da ovulação²³, e está disponível em Portugal⁵⁷ apresentando um reduzido custo comparativamente à hCG⁵⁸.

A eficácia do acetato de triptorelina injetável (*Decapeptyl*^R) enquanto AIO, foi apenas descrita num único estudo (Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020)). Assim, este estudo teve como objetivos:

1. Avaliar a taxa de resposta ovulatória após a administração injetável de AT e hCG;
2. Determinar o efeito do grau de edema uterino no momento do tratamento, da raça, da idade, da época reprodutiva e do mês do ano na taxa de resposta aos AIO;
3. Avaliar a existência de diferenças no diâmetro médio do folículo dominante, no momento do tratamento, entre éguas que responderam e que não responderam ao tratamento de indução da ovulação;
4. Avaliar o tempo, em horas, desde a administração de AT injetável e hCG até à ovulação;
5. Avaliar o efeito da raça, da idade e do mês do ano no tempo, em horas, desde o tratamento de indução da ovulação até à ovulação;
6. Determinar o efeito do tratamento com AT e com hCG na fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado;
7. Analisar a influência da raça, da idade, do mês do ano e da presença de líquido uterino à ecografia no momento do tratamento na fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado.

2. Materiais e métodos

2.1 Caracterização da amostra

Os dados utilizados no presente estudo foram recolhidos em três centros de reprodução, localizados em Portugal, mais precisamente em Évora, Alter do Chão e Samora Correia, e corresponderam a 161 ciclos reprodutivos pertencentes a 94 éguas com idades compreendidas entre os 3 e os 22 anos de idade e com idade média de 10,5 anos. No que concerne à idade a amostra foi dividida em duas classes etárias (éguas com idade igual ou inferior a 10 anos e éguas com idade superior a 10 anos). Relativamente à raça, as éguas foram também distribuídas por dois grupos: o grupo de éguas Puro Sangue Lusitano (éguas PSL) e o grupo de éguas das raças Anglo-Árabe, *Holsteiner*, Luso-Árabe, Português Desporto, Pónei, Puro Sangue Árabe (PSA), *Zangersheide* ou *Trakehner* (éguas de raça variável).

2.2 Desenho experimental

As éguas incluídas no estudo foram seguidas para IA com sémen congelado, sendo o controlo do crescimento folicular e da ovulação efetuado por palpação e ecografia transretal utilizando uma sonda de 5MHz.

A indução da ovulação foi realizada com dois tratamentos de indução da ovulação distintos:

- Administração intramuscular ou subcutânea de 0,1 mg de AT (*Decapeptyl^R*);
- Administração intravenosa de 1500 UI de hCG (*Chorulon^R*).

Todas as éguas foram seguidas por:

- Palpação e ecografia transretal a cada 24 horas, até à identificação de um folículo dominante de diâmetro médio, igual ou superior, a 35 mm;
- Aquando da presença de um folículo dominante de diâmetro médio igual ou superior a 35 mm (diâmetro médio determinado através da média do diâmetro maior e menor do folículo dominante), foi administrado o AIO (AT ou hCG);
- As éguas foram novamente avaliadas por palpação e ecografia transretal às 24 horas após o tratamento e posteriormente a cada quatro a seis horas até à ovulação;
- Até seis horas após a ovulação, realizou-se a IA intrauterina profunda com sémen congelado, numa dose inseminante de 500 a 8300 milhões de espermatozoides móveis;
- O diagnóstico de gestação foi efetuado aos 14 dias pós-ovulação através de ecografia transretal.

Ao longo do controlo reprodutivo foram registados os seguintes parâmetros:

- Idade e raça da égua;
- Época reprodutiva (2017, 2018, 2019, 2020 ou 2021);
- Mês do ano em que foi realizado o controlo reprodutivo;
- Data e hora do tratamento de indução da ovulação;
- Diâmetro médio do folículo dominante no momento da indução da ovulação, em mm;
- Grau de edema uterino no momento da indução da ovulação (Consoante a escala de 0 a 3: Grau 0, sem edema; Grau 1, edema ligeiro; Grau 2, edema moderado; Grau 3, edema elevado^{27, 28});
- Registo da presença de líquido uterino no momento da indução da ovulação;
- Data e hora da ovulação;
- Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação;

- Taxa de resposta ao tratamento, sendo que as éguas foram classificadas com resposta positiva à indução da ovulação se ovularam entre as 24 horas e as 48 horas após o tratamento (ER) ou como éguas não responsivas (ENR) se não ovularam ou ovularam nas primeiras 24 horas ou depois das 48 horas após o tratamento. A taxa de resposta foi calculada em percentagem pelo rácio: (éguas que responderam ao tratamento/éguas sujeitas ao tratamento) * 100;
- Registo da fertilidade aos 14 dias após a ovulação.

2.3 Tratamento estatístico

Numa primeira abordagem, foi utilizado o programa Excel para a organização dos dados registados.

De seguida a análise estatística foi realizada no programa SPSS para realização da estatística descritiva e para comparação de médias através de ANOVA. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3. Resultados e discussão

3.1 Distribuição da amostra

Os 161 ciclos reprodutivos, pertencentes a 94 éguas, decorreram durante as épocas reprodutivas de 2017 (4,3%), 2018 (13,7%), 2019 (24,8%), 2020 (51,6%) e 2021 (5,6%) e entre os meses de janeiro e julho (janeiro, 3,7%; fevereiro, 11,8%; março, 24,8%; abril, 26,7%; maio, 24,8%; junho, 5 %; julho, 3,1%), não se observando diferenças significativas na distribuição da amostra entre épocas e meses do ano ($p > 0,05$).

Relativamente à raça das éguas, de entre os 161 ciclos reprodutivos: 138 ciclos ocorreram em éguas PSL enquanto 23 ciclos em éguas de raças variadas. No que concerne à idade, de acordo com as classes definidas, 88 ciclos referem-se a éguas com idade igual ou inferior a 10 anos e 73 ciclos a éguas com idade superior a 10 anos.

No que se refere à distribuição dos ciclos reprodutivos pelos dois tratamentos de indução da ovulação em estudo: em 119 ciclos as éguas foram tratadas com AT e em 42 ciclos as éguas foram tratadas com hCG, sendo que a distribuição dos ciclos reprodutivos pelos dois tratamentos de indução da ovulação realizados não variou significativamente ($p > 0,05$).

3.2 Taxa de resposta ao tratamento de indução da ovulação

Dos 161 ciclos reprodutivos, 68,3% das éguas responderam ao tratamento de indução

da ovulação (tabela 2). A taxa de resposta em função do protocolo de indução da ovulação realizado variou (tabela 2), mas não significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 2 - Taxa de resposta (% média \pm erro padrão) em função do protocolo de indução da ovulação utilizado (consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Tratamento de indução da ovulação	n	Taxa de resposta (% média \pm erro padrão)
AT	119	68,9 \pm 4,3
hCG	42	66,7 \pm 7,3
Total	161	68,3 \pm 3,7

Tal como no estudo de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), onde também foi avaliada a taxa de resposta após o tratamento com hCG e AT, de acordo com os resultados do presente estudo é possível afirmar que a administração de 0,1 mg de AT é tão eficaz na indução da ovulação como a administração de 1500 UI de hCG. No entanto, Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), obtiveram taxas de resposta superiores às encontradas no presente estudo (tabela 2), nomeadamente 84,7% e 86,8% após a administração de AT e hCG, respetivamente. No estudo de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), as administrações de AT foram realizadas integralmente pela via subcutânea, sendo que no presente estudo estas foram realizadas quer pela via subcutânea quer pela via intramuscular. Tendo em conta que existe uma onda de LH mais prolongada aquando da administração de agonistas da GnRH pela via subcutânea (8 horas), em comparação com a via intramuscular ou intravenosa (3 horas)⁴², e dado que o AT corresponde a um AIO agonista da GnRH²³, as éguas tratadas pela via intramuscular podem ter contribuído para a obtenção de uma taxa de resposta mais baixa em comparação com o estudo de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020). Não obstante, no presente estudo não foi comparada a taxa de resposta em função da via de administração pelo reduzido número de animais em cada grupo, o que impossibilitava retirar conclusões clinicamente significativas.

No que se refere à taxa de resposta em função do grau de edema uterino no momento do tratamento (tabela 3), esta variou, mas também não significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 3 – Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função do grau de edema uterino no momento do tratamento (consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Grau de edema uterino	n	Taxa de resposta (%) média ± erro padrão
0	8	37,5 ± 18,3
1	32	68,8 ± 8,3
2	66	66,7 ± 5,8
3	55	74,6 ± 5,9
Total	161	68,3 ± 3,7

Um dos critérios de administração do AIO utilizado no estudo de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), mencionado anteriormente, foi a presença de grau 2 ou 3 de edema uterino, além da presença de um folículo dominante de diâmetro médio superior a 35 mm. A utilização deste critério, no referido estudo, está relacionada com o facto de estar descrita uma redução da eficácia dos AIO aquando da realização do tratamento sem ter em conta o grau de edema uterino no momento do tratamento⁹. No presente estudo, este critério de administração não foi utilizado, sendo que oito dos 161 ciclos reprodutivos incluídos no estudo, foram tratados aquando de grau 0 de edema uterino. Apesar de não variar significativamente (tabela 3), a taxa de resposta foi visivelmente inferior em éguas tratadas na presença de edema uterino de grau 0 (38%) comparativamente a éguas tratadas na presença de grau 1, 2 ou 3 (69%, 67% e 75%, respetivamente). Dado os resultados do presente estudo, podemos considerar que as éguas tratadas na presença de grau 0 de edema uterino poderiam não estar em condições de serem induzidas, tendo a indução sido realizada precocemente, uma vez que o tratamento de indução da ovulação deve ser realizado em éguas em estro, há pelo menos dois dias²⁸, o que pressupõe a presença de edema uterino²².

Relativamente ao efeito da raça na taxa de resposta após o tratamento (tabela 4), tanto quanto é de nosso conhecimento, não existe bibliografia que relacione diretamente a raça da égua e o sucesso dos programas de indução da ovulação. No entanto, no presente estudo foi possível verificar que éguas da raça PSL apresentaram uma taxa de resposta

significativamente inferior a éguas de raças variadas ($p < 0,05$).

Tabela 4 - Taxa de resposta (% média \pm erro padrão) em função da raça (PSL: Puro Sangue Lusitano. Consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$. Letras diferentes entre linhas correspondem a diferenças significativas).

Raça da égua tratada	n	Taxa de resposta (%) média \pm erro padrão
PSL	138	64,5 \pm 4,1 ^a
Raças variadas	23	91,3 \pm 6,0 ^b
Total	161	68 \pm 47

Dado estes resultados, é possível considerar que poderá haver uma relação entre a taxa de resposta ao tratamento com hCG ou com AT e a raça das éguas tratadas. No entanto, serão necessários mais estudos para poder chegar a uma conclusão fidedigna.

É ainda de referir que a maioria da amostra correspondeu a ciclos reprodutivos de éguas da raça PSL (138 dos 161 ciclos reprodutivos em estudo) e o facto de estas terem apresentado uma taxa de resposta significativamente inferior (tabela 4) pode também ter contribuído para que a taxa de resposta em função de cada protocolo de indução (tabela 2), tenha sido mais baixa em comparação com o estudo de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020), referido anteriormente (84,7% e 86,8% após a administração de AT e hCG, respetivamente, no estudo de Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020); 68,9% e 66,7% após a administração de AT e hCG, respetivamente, no presente estudo).

Relativamente à taxa de resposta em função da idade (tabela 5), não foi demonstrada uma variação significativa da mesma entre os dois intervalos de idade estabelecidos ($p > 0,05$).

Tabela 5 – Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função da classe de idade (≤ 10 anos: idade inferior ou igual a 10 anos; ≥ 10 anos: idade superior a 10 anos. Consideram-se diferenças significativas para p<0,05).

Idade da égua tratada	n	Taxa de resposta (%) média ± erro padrão
≤ 10 anos	88	69,3 ± 4,9
> 10 anos	73	67,1 ± 5,5
Total	161	68,3 ± 3,7

Assim, apesar de alguns estudos descreverem uma redução da taxa de resposta ((% ± erro padrão) com o aumento da idade^{4, 23, 61}, através dos resultados obtidos é possível afirmar que éguas de idade inferior ou igual a 10 anos e éguas com idade superior a 10 anos, apresentam taxas de resposta semelhantes após o tratamento com AT ou hCG.

Estes resultados vão de encontro aos obtidos por Levy & Duchamp, (2007), nos quais a taxa de resposta ao tratamento com acetato de bursarelina (*Suprefact*^R) foram equivalentes entre éguas com idade inferior ou igual a 10 anos e éguas com idade superior a 10 anos. Contrariamente, Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020) encontraram uma redução significativa da taxa de resposta após o tratamento com hCG, AT ou *Suprefact*^R, em éguas a partir dos 15 anos de idade. No presente estudo a definição das classes de idade pode ter influenciado a ausência de diferenças entre classes etárias como descrito por Dordas-Perpinyà *et al.*, (2020).

A taxa de resposta também variou em função da época reprodutiva em que foi realizado o tratamento (tabela 6), mas as diferenças também não foram estatisticamente significativas (p>0,05).

Tabela 6 – Taxa de resposta (% média ± erro padrão) em função da época reprodutiva (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Época reprodutiva	n	Taxa de resposta (%) média ± erro padrão
2017	7	85,7 ± 14,3
2018	22	59,1 ± 10,7
2019	40	80,0 ± 6,4
2020	83	63,9 ± 5,3
2021	9	66,7 ± 16,7
Total	161	68,3 ± 3,7

É importante sublinhar que entre diferentes épocas reprodutivas as éguas controladas foram, maioritariamente, as mesmas, uma vez que estas são seguidas anualmente nos centros de reprodução seleccionados para a recolha de dados. Um fator não tido em conta na análise foram os tratamentos na mesma época ou em épocas anteriores, na medida em que não havia esse registo para algumas éguas. Os critérios para a realização do tratamento de indução da ovulação e o protocolo de controlo reprodutivo foram semelhantes entre épocas. Tendo em conta que a idade da égua^{4, 23, 61} e a sua história reprodutiva^{4, 6, 35}, os critérios utilizados para a realização do tratamento⁸ e a frequência de palpções e ecografias transretais desde o tratamento até ao momento da ovulação⁹ correspondem a alguns dos fatores que podem potencialmente influenciar a eficácia do tratamento de indução da ovulação, sabendo que estes não variaram muito entre épocas, é expectável uma taxa de resposta ao tratamento de indução da ovulação semelhante entre diferentes épocas reprodutivas, nestas éguas.

Existe ainda outro fator que pode influenciar a percentagem de éguas que responde aos AIO. Trata-se do mês do ano em que foi realizado o tratamento de indução (tabela 7), estando descrita uma maior variação da eficácia dos AIO durante o período de transição⁴⁵. Tendo em conta que, no hemisfério norte a época reprodutiva fisiológica das éguas corresponde, aproximadamente, aos meses de abril a setembro¹², os restantes meses considerados no estudo, nomeadamente janeiro, fevereiro e março, podem ter

correspondido ao período de transição de inverno-primavera de algumas éguas. Neste caso poderia ser possível verificar uma diferença significativa na resposta ao tratamento de indução entre os meses de janeiro, fevereiro e março e os meses de abril, maio, junho e julho.

No entanto, no presente estudo, não foram encontradas variações significativas na taxa de resposta ao tratamento de indução realizado em diferentes meses do ano ($p > 0,05$).

Tabela 7 – Taxa de resposta (% média \pm erro padrão) em função do mês do ano (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Mês do ano	n	Taxa de resposta (%) média \pm erro padrão
Janeiro	6	50,0 \pm 22,4
Fevereiro	19	68,4 \pm 10,9
Março	40	70,0 \pm 7,3
Abril	43	69,8 \pm 7,1
Mai	40	65,0 \pm 7,6
Junho	8	75,0 \pm 16,4
Julho	5	80,0 \pm 20,0
Total	161	68,3 \pm 3,7

Estes resultados vão de encontro aos obtidos por Gomes *et al.*, (2014), que também não encontraram uma variação significativa na taxa de resposta após o tratamento de indução da ovulação, entre o período de transição e a época reprodutiva fisiológica, após o tratamento com hCG e/ou acetato de deslorelina. Ou seja, tal como foi sugerido por Gomes *et al.*, (2014) relativamente ao hCG e ao acetato de deslorelina, os resultados do presente estudo permitem-nos considerar que o tratamento com hCG e AT permitem a obtenção de taxas de resposta similares em diferentes meses do ano.

3.3 Diâmetro médio do folículo dominante no momento do tratamento de indução da ovulação em éguas que responderam e que não responderam ao tratamento

O diâmetro médio do folículo dominante no momento do tratamento de indução da ovulação foi 41,08 mm (tabela 8). Este encontra-se dentro dos valores pretendidos,

nomeadamente entre 35 mm e 45 mm, uma vez que a realização do tratamento de indução da ovulação na presença de folículos de diâmetro médio inferior a 35 mm ou superior a 45 mm está associado a uma menor taxa de resposta²⁹.

No presente estudo, relativamente ao diâmetro médio do folículo dominante no momento do tratamento em função da resposta à indução da ovulação (tabela 8), este variou entre ER e ENR, mas não significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 8 - Diâmetro médio do folículo dominante, em mm, no momento do tratamento de indução da ovulação (média em mm \pm desvio padrão) em ER e ENR (ENR: éguas que não responderam ao tratamento; ER: éguas que responderam ao tratamento. Consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Resposta ao tratamento	n	Média em mm \pm desvio padrão
ENR	51	40,49 \pm 3,09
ER	110	41,35 \pm 3,47
Total	161	41,08 \pm 3,37

Apesar dos resultados obtidos, é possível verificar que as ER apresentavam um diâmetro médio do folículo dominante superior (41,35 mm) às ENR (40,49 mm). Tendo em conta que o número de recetores de LH, ao nível do folículo dominante, é diretamente proporcional ao diâmetro médio do mesmo²², eram expectáveis os resultados obtidos, na medida em que o mecanismo de ação de ambos os AIO requerem a presença dos referidos recetores^{32, 41}.

No que se refere ao diâmetro médio do folículo dominante no momento do tratamento de indução da ovulação, este não variou significativamente ($p > 0,05$) em função do tratamento de indução realizado, da raça, da idade da égua, da época reprodutiva ou do mês do ano em que foi realizado o tratamento. Tendo em conta que o diâmetro folicular médio registado pertence ao folículo dominante no momento do tratamento de indução da ovulação e não ao folículo pré-ovulatório, já eram expectáveis os resultados obtidos, uma vez que o critério utilizado para a administração do AIO foi sempre a presença de um folículo dominante de diâmetro médio igual ou superior a 35 mm.

3.4 Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação

O tempo médio desde o tratamento de indução da ovulação até à ovulação, incluindo todos os animais tratados foi de 40:10:40 \pm 25:21:35 horas ($n = 161$). Quando analisados apenas os animais que responderam ao tratamento ($n = 110$) o tempo médio foi de 40:22:03 \pm 5:00:41 horas (tabela 9).

Este tempo médio até à ovulação variou em função do protocolo de indução da ovulação utilizado (tabela 9), mas não significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 9 - Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas \pm erro padrão), em função do protocolo de indução da ovulação utilizado (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Tratamento de indução da ovulação	n	Média de tempo em horas \pm erro padrão
AT	82	40:44:51 \pm 4:11:09
hCG	28	37:54:51 \pm 6:51:48
Total	110	40:22:03 \pm 5:00:41

No que concerne ao tratamento de indução da ovulação utilizando o AT injetável, tanto quanto é do nosso conhecimento, não existe atualmente bibliografia publicada que avalie o momento da ovulação após a administração deste AIO. No entanto, é possível comparar os resultados obtidos após a administração de AT com os que estão descritos relativamente a outros AIO agonistas da GnRH com eficácia comprovada após a sua administração injetável, como por exemplo o acetato de deslorelina. Relativamente a este fármaco, a ovulação ocorre aproximadamente às 40 ou 41 horas após o tratamento^{28, 38}, valores estes que vão de encontro aos obtidos no presente estudo após a administração de AT (ovulação às 40:44:51 \pm 4:11:09 horas após o tratamento com AT). Já no que diz respeito ao momento da ovulação após o tratamento com hCG, a bibliografia refere a ocorrência de ovulação aproximadamente às 36 horas após o tratamento^{28, 31, 32}, momento este semelhante ao obtido após a administração de hCG no presente estudo (ovulação às 37:54:51 \pm 6:51:48 horas após o tratamento com hCG).

É ainda de realçar o erro padrão relativo ao tempo desde o tratamento, com cada um dos protocolos, até à ovulação. Tendo em conta que a indução da ovulação é

especialmente vantajosa em programas de IA com sémen congelado⁴, e dada a necessidade de, neste tipo de programas, a ovulação ocorrer o mais próximo possível da IA, é essencial que o momento da ovulação seja previsto com muita precisão²⁸, ou seja, que o erro padrão, associado à média de tempo até à ovulação, seja o menor possível. Sendo assim, verifica-se que, no presente no estudo, o erro padrão relativo ao momento da ovulação após o tratamento com AT é inferior (4:11:09 horas) ao obtido após o tratamento com hCG (6:51:48 horas), isto é, o intervalo até à ovulação é mais variável aquando da administração de hCG em comparação com o momento de ovulação após a administração de AT (tabela 9). Dado estes resultados, o AT poderá ser mais vantajoso que a hCG em programas de IA com sémen congelado, no entanto, serão necessários mais estudos para confirmar esta hipótese.

Relativamente ao efeito da raça no tempo médio desde o tratamento até à ovulação (tabela 10), não foram obtidas variações significativas do tempo médio até à ovulação em função da raça ($p > 0,05$), sendo de realçar que apenas foram considerados os animais responsivos.

Tabela 10 - Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas \pm erro padrão), em função da raça da égua tratada (PSL: Puro Sangue Lusitano. Consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Raça da égua tratada	n	Média de tempo em horas \pm erro padrão
PSL	80	40:28:09 \pm 5:26:33
Raça Variável	21	39:56:11 \pm 2:30:37
Total	110	40:22:03 \pm 5:00:41

Dado que a taxa de resposta ao tratamento de indução da ovulação foi significativamente inferior em éguas da raça PSL, uma vez que para a determinação do tempo médio até à ovulação apenas foram incluídas éguas responsivas ao tratamento, é evidente a diferença entre o n relativo a éguas PSL (80 ciclos reprodutivos) e a éguas de raça variável (21 ciclos reprodutivos). Deste modo, apenas podemos afirmar que, no grupo de éguas incluídas no estudo, o tempo médio desde o tratamento até à ovulação foi semelhante entre éguas de diferentes raças.

No entanto, existe ainda outro parâmetro a realçar, nomeadamente, o erro padrão associado ao tempo desde o tratamento até ovulação (tabela 10). Este correspondeu, em éguas de raça variável a um valor consideravelmente menor (2:30:37 horas) ao obtido em éguas da raça PSL (5:26:33 horas). Ou seja, as éguas da raça PSL apresentaram um momento da ovulação menos previsível comparativamente a éguas de raças variável.

No que se refere ao tempo médio entre o tratamento e a ovulação em função da classe de idade da égua tratada (tabela 11), apesar de alguns estudos revelarem uma variação, com o aumento da idade, da eficácia dos AIO^{4, 7}, no presente estudo não foram encontradas variações significativas no momento da ovulação após o tratamento entre éguas com idade inferior ou igual a 10 anos e éguas com idade superior a 10 anos ($p > 0,05$).

Tabela 11 - Tempo, em horas, entre o tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas \pm erro padrão) em função da classe de idade (≤ 10 anos: idade inferior ou igual a 10 anos; ≥ 10 anos: idade superior a dez anos. Consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Idade da égua tratada	n	Média de tempo em horas \pm erro padrão
≤ 10 anos	61	39:20:26 \pm 5:42:01
> 10 anos	49	41:38:45 \pm 3:39:42
Total	110	40:22:03 \pm 5:00:41

Estes resultados vão ao encontro aos obtidos por McCue *et al.*, (2007), que também não verificaram uma variação significativa, com o aumento da idade, do momento da ovulação após o tratamento com a hCG ou com o acetato de deslorelina, um AIO agonista da GnRH tal como o AT. Assim, no presente estudo, o momento da ovulação após o tratamento com hCG ou AT, parece não ser influenciado pela idade da égua tratada.

No que concerne o tempo médio, em horas, desde o tratamento de indução da ovulação até à ovulação, este variou em função do mês do ano, mas não significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 12 – Tempo, em horas, entre o momento do tratamento de indução da ovulação e a ovulação (média de horas \pm erro padrão) em função do mês do ano (consideram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Mês do ano	n	Média de tempo em horas \pm erro padrão
Janeiro	3	42:19:00 \pm 08:59:30
Fevereiro	13	40:42:23 \pm 3:22:35
Março	28	40:40:45 \pm 3:26:58
Abril	30	40:33:58 \pm 5:05:36
Mai	26	39:15:34 \pm 6:09:55
Junho	6	40:22:10 \pm 8:04:42
Julho	4	41:20:00 \pm 3:29:17
Total	110	40:22:03 \pm 5:00:41

Estes resultados são concordantes com os obtidos no estudo realizado por Levy & Duchamp, (2007) e por Newcombe & Cuervo-Arango, (2017), que não encontraram variações significativas no tempo entre o tratamento e a ovulação entre diferentes meses do ano, após a administração de acetato de buserelina (*Suprefact^R*) ou hCG. Tal como foi acima referido, no presente estudo também a taxa de resposta após o tratamento não variou significativamente entre diferentes meses do ano (tabela 7), que poderá ser um indicador de que os MV poderão eventualmente confiar na resposta a estes AIO ao longo dos meses de janeiro a julho, sendo esta uma grande vantagem associada a estes dois protocolos de indução da ovulação.

3.5 Influência do tratamento de indução da ovulação na fertilidade após a IA com sémen congelado

No presente estudo, a fertilidade global após a IA com sémen congelado de éguas que responderam ao tratamento com hCG ou com AT (107 éguas), correspondeu a 61% (tabela 13). A bibliografia descreve taxas de fertilidade após a IA com sémen congelado de 0-70%⁶², sendo que são mais comuns taxas de 30-40%⁶³ ou de 25 a 40%⁶². Analisando

a taxa de fertilidade obtida no presente estudo (61%), podemos verificar que a mesma se encontra acima da taxa de fertilidade descrita. São os fatores relacionados com a égua que mais fazem variar as taxas de fertilidade obtidas⁶³, sendo que o momento da IA, relativamente à ovulação, corresponde a um dos fatores mais preponderantes no sucesso dos programas de IA com sémen congelado⁴. Assim a obtenção de uma taxa de fertilidade consideravelmente superior no presente estudo, pode estar relacionada com o facto de a mesma apenas ter incluído éguas que responderam ao tratamento de indução da ovulação. No entanto, é importante referir que a fertilidade é condicionada por mais fatores, entre eles, fatores relacionados com o garanhão utilizado, pelo que a comparação de taxas de fertilidade relativas a diferentes estudos poderá não ser uma abordagem correta^{62, 63}.

Foram obtidas taxas de fertilidade diferentes após a IA com sémen congelado em éguas tratadas com AT (66%) e com hCG (46%), no entanto as diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas (tabela 13).

Tabela 13 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média ± erro padrão) em função do protocolo de indução da ovulação utilizado (consideraram-se diferenças significativas para um valor de $p < 0,05$).

Tratamento de indução da ovulação	n	Fertilidade (%) média ± erro padrão
AT	79	66,0±5,4
hCG	28	46,0±9,6
Fertilidade global	107	61,0±4,7

Estes resultados são concordantes com o estudo de Levy & Duchamp, (2007) em que a fertilidade foi equivalente entre éguas tratadas com hCG e éguas tratadas com acetato de bursereлина (*Suprefact^R*). Além disso, a taxa de fertilidade obtida no presente estudo aquando do tratamento com hCG (46%) é semelhante à obtida no estudo de Levy & Duchamp, (2007) (42,6%). Já relativamente à fertilidade aquando do tratamento com AT, no presente estudo foi obtida uma fertilidade superior (66%) à encontrada no estudo de Levy & Duchamp, (2007) (38,1%), aquando do tratamento com *Suprefact^R*, que corresponde a um AIO agonista da GnRH tal como o AT.

É ainda de referir, que apesar das diferenças entre a fertilidade de éguas tratadas com o AT e hCG não serem significativas, é notória um maior valor de fertilidade após administração de AT (66%) em comparação com a fertilidade obtida em éguas tratadas com hCG (46%), sendo que os valores obtidos aproximaram-se da significância ($p = 0,072$). Uma vez que as éguas tratadas com AT e com hCG foram sujeitas à mesma frequência de controlo folicular e foram ambas inseminadas até às seis horas após a ovulação, estes resultados levam-nos a colocar a hipótese de que as éguas tratadas com hCG possam ter correspondido, na sua maioria, a éguas associadas a história reprodutiva de infertilidade ou a éguas inseminadas com sémen pertencente a garanhões menos férteis. Assim, é possível considerar que se o valor de n tivesse sido superior em ambos os protocolos, haveria a possibilidade de os resultados serem significativamente diferentes.

No que se refere à fertilidade após a IA em éguas PSL e em éguas de raças variadas (tabela 14), não existiu uma variação significativa da mesma entre éguas pertencentes a diferentes grupos de raças ($p > 0,05$).

Tabela 14 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média \pm erro padrão) em função raça (PSL: Puro Sangue Lusitano. Consideraram-se diferenças significativas para um valor de $p < 0,05$).

Raça da égua tratada	n	Fertilidade (%) média \pm erro padrão
PSL	86	64,0 \pm 5,2
Outras raças	21	48,0 \pm 1,2
Fertilidade global	107	61,0 \pm 4,7

Este resultado permite afirmar que a raça da égua, apesar de ter influenciado a percentagem de resposta ao tratamento, não influenciou a fertilidade após a IA com sémen congelado, o que já era expectável uma vez que estes valores de fertilidade pertencem a éguas que responderam ao tratamento de indução da ovulação.

Relativamente à fertilidade após a IA com sémen congelado em função da idade (tabela 15), esta não variou significativamente entre éguas com idade inferior ou igual a 10 anos e éguas com idade superior a 10 anos ($p > 0,05$).

Tabela 15 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média ± erro padrão) em função da classe de idade (≤ 10 anos: idade inferior ou igual a 10 anos; > 10 anos: idade superior a 10 anos. Consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$).

Idade	n	Fertilidade (%) média ± erro padrão
≤ 10 anos	59	58,0 ± 6,5
> 10 anos	48	65,0 ± 7,0
Fertilidade global	107	61,0 ± 4,7

A bibliografia descreve uma influência da idade na fertilidade após a IA com sémen congelado⁶³, sendo que alguns autores sugerem que éguas com idade superior a sete anos possuem taxas de fertilidade consideravelmente inferiores³⁷. No entanto, os resultados do presente estudo estão de acordo com o estudo realizado por Squires *et al.*, (2006), que obtiveram taxas de fertilidade, após a IA com sémen congelado, equivalentes entre éguas de diferentes grupos etários (3-6 anos, 7-9 anos, 10-16 anos, ou idade superior a 16 anos).

Relativamente à fertilidade após a IA com sémen congelado em função do mês do ano em que foi realizado o tratamento de indução da ovulação e a IA (tabela 16), também não foram encontradas variações significativas ($p > 0,05$)

Tabela 16 – Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média ± erro padrão) em função do mês do ano (consideraram-se diferenças significativas para um valor de $p < 0,05$).

Mês do ano	n	Fertilidade média (%) ± desvio padrão
Janeiro	3	33,0 ± 33,3
Fevereiro	12	75,0 ± 13,1
Março	28	57,0 ± 9,5
Abril	28	61,0 ± 9,4
Mai	26	65,0 ± 9,5
Junho	6	33,0 ± 21,1
Julho	4	75,0 ± 25,0
Fertilidade global	107	61,0 ± 4,7

Apesar de não significativa, é notória a menor fertilidade obtida no mês de janeiro (33%). Este mês do ano, como já referido anteriormente, pode ter estado incluído no período de transição de inverno-primavera. Este período está associado a uma fertilidade menor após a IA com sémen congelado devido a uma elevada percentagem de folículos anovulatórios ou em consequência de um momento de ovulação mais imprevisível, uma vez que a magnitude das ondas de LH é menor⁶⁴. No entanto, as 107 éguas incluídas no cálculo da fertilidade corresponderam a éguas que responderam ao tratamento de indução da ovulação e que foram inseminadas até quatro horas após a ovulação, logo a fertilidade obtida no mês de janeiro não pode ser justificada pela hipótese de este mês poder ter correspondido ao período de transição de inverno-primavera. Também é de salientar que o mês de junho esteve associado a uma fertilidade consideravelmente inferior (33%) comparativamente com meses também pertencentes à época reprodutiva fisiológica, tais como maio (65%) ou julho (75%). Assim pode ser colocada a hipótese de que a baixa fertilidade obtida no mês de janeiro e junho possa ter estado relacionada com fatores não associados ao mês do ano em que foi realizado o tratamento de indução da ovulação e IA, tais como a história reprodutiva das éguas tratadas e inseminadas nesses meses ou mesmo com fatores relacionados com o garanhão⁶³. É ainda importante realçar o baixo valor de n associado ao mês de janeiro (3 ciclos reprodutivos) e ao mês de junho (6 ciclos reprodutivos), na medida em que dificulta a interpretação dos resultados obtidos.

No que concerne ao efeito da presença de líquido uterino à ecografia, no momento do tratamento de indução da ovulação, na fertilidade (tabela 17), é importante ter em conta que a presença de líquido uterino à ecografia corresponde a um dos sinais ecográficos mais sugestivos de endometrite, dado que este é concordante com inflamação uterina⁶⁵. Sendo assim, havendo uma diminuição da fertilidade após a IA com sémen congelado em éguas com endometrite diagnosticada, inclusivamente nos ciclos subsequentes ao ciclo de tratamento da respetiva endometrite⁶³, a diminuição da fertilidade em éguas com líquido uterino em comparação a éguas sem líquido uterino no momento do tratamento de indução da ovulação seria um resultado compreensível. No entanto, no presente estudo, a fertilidade após a IA não variou significativamente ($p > 0,05$) entre éguas com e sem líquido uterino à ecografia no momento do tratamento (tabela 17).

Tabela 17 - Fertilidade aos 14 dias após a IA com sémen congelado (% média ± erro padrão) em função da presença de líquido uterino à ecografia no momento do tratamento (consideraram-se variações significativas quando $p < 0,05$).

Presença de líquido uterino à ecografia no momento do tratamento	n	Fertilidade (%) média ± erro padrão
Sem líquido	87	60,0 ± 5,3
Com líquido	20	65,0 ± 10,9
Fertilidade global	107	61,0 ± 4,7

Não foram analisados os dados relativos à presença de líquido após a IA, nem os dados referentes à realização, antes ou após a IA, de tratamentos para resolução da presença de líquido uterino. Assim, na medida em que o embrião só chegará ao útero 5,5 dias após a ovulação⁶⁶, se tiver ocorrido resolução desta situação, não seria expectável haver interferência na fertilidade após a IA.

4. Conclusão

De acordo com os resultados do presente estudo, é possível concluir que a administração subcutânea ou intramuscular de 0,1 mg de AT permite a obtenção de uma taxa de resposta ovulatória similar à encontrada após a administração intravenosa de 1500 UI de hCG. Esta taxa de resposta foi influenciada pela raça da égua tratada, sendo que éguas da raça PSL estiveram associadas a uma taxa de resposta menor. No entanto, esta

não foi afetada pelo grau de edema uterino no momento do tratamento, pela idade, pela época reprodutiva ou pelo mês do ano. O diâmetro médio do folículo dominante no momento do tratamento também não foi um fator significativo na taxa de resposta ao tratamento, uma vez que este foi equivalente entre ER e ENR.

No que se refere ao momento da ovulação após o tratamento, o presente estudo permite considerar que este é equivalente entre éguas tratadas com AT e com hCG, sendo que este não foi influenciado pela raça, idade ou mês do ano do tratamento. No entanto, numa perspetiva de programas de IA com sémen congelado, o AT revelou-se mais útil, uma vez que este AIO, no presente estudo, esteve associado a um momento da ovulação menos variável.

Por fim, no que concerne à influência do tratamento com hCG e AT na fertilidade após a IA com sémen congelado, este estudo permite-nos inferir que os dois AIO em estudo produzem taxas de fertilidade equivalentes. Além disso, não foi verificado um efeito da raça, da idade, do mês do ano ou da presença de líquido uterino à ecografia no momento do tratamento, nas taxas de fertilidade obtidas. No entanto, é de salientar que éguas tratadas com AT alcançaram uma fertilidade superior a éguas tratadas com hCG, sendo que as diferenças se aproximaram da significância. Assim, este pode ser um dado a considerar em estudos futuros, de modo a que possam ser retiradas conclusões mais claras.

Em suma, o AT pode corresponder a um AIO a considerar pelos MV, principalmente em Portugal, onde a disponibilidade de AIO agonistas da GnRH é reduzida⁶ e onde o custo associado ao mesmo é consideravelmente inferior ao hCG⁵⁸, produzindo, no entanto, uma resposta equivalente.

IV. Conclusão Geral

São inúmeras as vantagens associadas aos fármacos de indução da ovulação⁹, sendo estes particularmente úteis na previsão do momento da ovulação em programas de IA com sémen congelado³⁸, que são cada vez mais requeridos na Europa⁴. Como tal, é imperativo avaliar a eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação, identificar os fatores que podem influenciar o sucesso dos mesmos e ainda determinar a influência dos diferentes protocolos utilizados na taxa de fertilidade após a IA.

A hCG é considerada o AIO de primeira escolha na Europa⁶, no entanto, uma vez que a sua utilização está limitada a uma ou duas administrações por época reprodutiva é

essencial que exista um AIO de segunda escolha, nomeadamente um agonista da GnRH²³. Em Portugal, a necessidade de um AIO alternativo à hCG está também relacionada com o facto de este possuir um custo elevado em comparação com os restantes AIO disponíveis. Na Europa existe ainda uma reduzida disponibilidade de AIO agonistas da GnRH e, tanto quanto é do nosso conhecimento, ainda não foi publicada bibliografia que compare a eficácia do hCG com o AT injetável, fármaco este que se encontra facilmente acessível em Portugal²³ e que, em comparação com a hCG, é mais económico⁵⁸. Assim, este estudo permite que os MV possam confiavelmente optar pelo AT injetável, uma vez que o presente estudo permitiu estabelecer uma eficácia equivalente entre ambos os AIO.

No entanto, são de destacar algumas limitações associadas ao presente estudo, nomeadamente o não estabelecimento de um grupo controlo em que não tenha sido realizado qualquer tratamento de indução da ovulação, a não utilização do grau de edema uterino e a tonicidade cervical como parâmetros para administração dos AIO, a determinação de classes de idade muito amplas, o não estabelecimento de uma relação entre a eficácia dos AIO e a história reprodutiva das éguas tratadas, a falta de informação relativamente ao número de ciclos tratados com hCG e AT por época reprodutiva e o estabelecimento da eficácia da administração de AT pela via subcutânea e intramuscular em conjunto e não em separado, não permitindo aferir se a via de administração do AT influenciou a eficácia do mesmo.

Apesar destas limitações, é de reforçar que este estudo permite a apresentação de dados essenciais, especialmente para MV que utilizem a técnica de indução da ovulação como método de controlo reprodutivo em programas de IA.

V. Bibliografia

1. Aurich J.E. (2012) Artificial Insemination in HorsesdMore than a Century of Practice and Research. J Equine Vet Sci
2. Kowalczyk A. Czerniawska-Piątkowska E. & Kuczaj M. (2019) Factors Influencing the Popularity of Artificial Insemination of Mares in Europe. Animals
3. Loomis P.R. & Squires E.L. (2005) Frozen semen management in equine breeding programs. Theriogenology
4. Barbacini S. Zavaglia G. Gulden P. Marchi V. & Necchi D. (2000) Retrospective

- study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen semen. *Equine Vet Educ*
5. Lindholm A.R.G. Ferris R.A. Scofield D.B. & McCue P.M. (2011) Comparison of deslorelin and histrelin for induction of ovulation in mares. *J Equine Vet Sci*
 6. Newcombe J.R. & Cuervo-Arango J. (2017) What are the options for induction of ovulation in the mare in Europe? Buserelin as an alternative to hCG. *J Equine Vet Sci*
 7. Tazawa S.P. Gastal M.O. Silva L.A. Evans M.J. & Gastal E.L. (2017) Preovulatory Follicle Dynamics, Ovulatory and Endometrial Responses to Different Doses of hCG, and Prediction of Ovulation in Mares. *J Equine Vet Sci*
 8. Campbell M. (2015) It's all in the timing: ovulation induction in the mare. *Vet Rec*
 9. Samper J.C. Jensen S. Sergeant J. & Estrada A. (2002) Timing of induction of ovulation in mares treated with ovuplant or chorulon. *J Equine Vet Sci*
 10. P.Brinsko S. & L. Blanchard T. (2011) Chapter 1 - Reproductive Anatomy of the Mare. In *Manual of Equine Reproduction*, pp. 1–9.
 11. Kainer A.R. (2011) Chapter 165 - Internal Reproductive Anatomy. In *Equine Reproduction Second*, pp. 1582–97.
 12. P.Brinsko S. & L. Blanchard T. (2011) Chapter 2 - Reproductive Physiology of the nonpregnant mare. In *Manual of Equine Reproduction*, pp. 10–18.
 13. L. Alexander S. & H.G. Irvine C. (2011) Chapter 168 - FSH and LH. In *Equine Reproduction second*, pp. 1619–30.
 14. W. Christensen B. (2011) Chapter 169 - Estrogens. In *Equine Reproduction*, pp. 1631–36.
 15. Vanderwall, K. D. (2011) Chapter 170 - Progesterone. In *Equine Reproduction second*, pp. 1637–41.
 16. Abdelnaby E.A. & Abo EL-Maaty A.M. (2017) Dynamics of follicular blood flow, antrum growth and angiogenic mediators in mares from deviation to ovulation. *J Equine Vet Sci*

17. Stout, A.E. T. (2011) Chapter 171 - Prostaglandins. In *Equine Reproduction second*, pp. 1642–47.
18. Aurich C. (2011) Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 124: 220–28.
19. Gérard N. & Elodie R. (2019) Cellular and molecular mechanisms of the preovulatory follicle differentiation and ovulation; What do we know in the mare relative to other species. *Theriogenology*
20. C. Sharp D. (2011) Chapter 174 - Melatonin. In *Equine Reproduction second*, pp. 1669–78.
21. Gastal E.L. (2009) Recent advances and new concepts on follicle and endocrine dynamics during the equine periovulatory period. *Anim Reprod Sci*
22. Samper J.C. (2008) Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. *Theriogenology*
23. Dordas-Perpinyà M. Normandin L. Dhier T. Terris H. Cochard A. Frilley C. Huiban F. & Bruyas J.-F. (2020) Single injections of triptorelin or buserelin acetate in saline solution induce ovulation in mares the same as a single injection of hCG. *Theriogenology*
24. Morel M.C., D. Newcombe J.R. & Hayward K. (2010) Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). *J Equine Vet Sci*
25. Nagy P. Guillaume D. & Daels P. (2000) Seasonality in mares. *Anim Reprod Sci*
26. Vizuete G. Diez E. Galisteo J. Aguera E. Aguilera-Tejero E. & Perez-Marín C. (2013) Comparison of Different Treatments for Oestrus Induction in Seasonally Anovulatory Mares. *Reprod Domest Anim*
27. Cuervo-Arango J. & Newcombe J.R. (2008) Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*
28. McKinnon A.O. & McCue P.M. (2011) Chapter 196 - Induction of Ovulation. In *Equine Reproduction second*, pp. 1858–69.

29. Green J.M. Raz T. Epp T. Carley S.D. & Card C.E. (2007) Relationships Between Utero-Ovarian Parameters and the Ovulatory Response to Human Chorionic Gonadotrophin (hCG) in Mares
30. McCue P.M. Magee C. & Gee E.K. (2007) Comparison of Compounded Deslorelin and hCG for Induction of Ovulation in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 27: 58–61.
31. Finan S. Lamkin E. & Mckinnon A. (2016) Comparative efficacy of biorelease deslorelin injection for induction of ovulation in oestrus mares: a field study. *Aust Vet J*
32. Ferris R.A. Hatzel J.N. Lindholm A.R.G. Scofield D.B. & McCue P.M. (2012) Efficacy of Deslorelin Acetate (SucroMate) on Induction of Ovulation in American Quarter Horse Mares. *J Equine Vet Sci*
33. Gastal E.L. Silva L.A. Gastal M.O. & Evans M.J. (2006) Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Anim Reprod Sci*
34. Morel M.C.G.D. & Newcombe J.R. (2008) The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. *Anim Reprod Sci*
35. Voge J.L. Sudderth A.K. P. Brinsko S. Burns P.J. & Blanchard T.L. (2012) Comparison of efficacy of Two Dose Rates of Histrelina to Human Chorionic Gonadotropin for Inducing Ovulation in Broodmares. *J Equine Vet Sci*
36. Zent, W. W. (2011) Chapter 200 - History. In *Equine Reproduction second*, pp. 1967–69.
37. Squires E. Barbacini S. Matthews P. Schwenzer K. Steiner J. & Loomis P. (2006) Retrospective study of factors affecting fertility of fresh, cooled and frozen semen. *Equine Vet Educ*
38. Cox T.J. Squires E.L. & Carnevale E.M. (2009) Effect of Follicle Size and Follicle-Stimulating Hormone on Ovulation Induction and Embryo Recovery in the Mare. *J Equine Vet Sci*

39. Grimmett J. & Perkins N. (2014) Human chorionic gonadotropin (hCG): the effect of dose on ovulation and pregnancy rate in Thoroughbred mares experiencing their first ovulation of the breeding season. *N Z Vet J*
40. DGAV (2021) MedVet: <https://bit.ly/3l9zYuy>.
41. Boakari Y.L. Ferreira J.C. Canesin H.S. Thompson J. & Lima F.S. (2017) Influence of two ovulation-inducing agents on the pituitary response and follicle blood flow in mares. *Theriogenology*
42. Levy I. & Duchamp G. (2007) A single subcutaneous Administration of Burserelein Induces Ovulation in the Mare: Field Data. *Reprod Domest Anim*
43. Vanderwall D.K. Juergens T.D. & Woods G.L. (2001) Reproductive performance of commercial broodmares after induction of ovulation with hCG or ovuplant (Deslorelin). *J Equine Vet Sci*
44. DGAV (2021) MedVet: <https://bit.ly/3HTOkZO>.
45. Gomes R.G. Oliveira R.L. Schutzer C.G. de C. Barreiros T.R.R. & Seneda M.M. (2014) Effect of Deslorelin and/or Human Chorionic Gonadotropin on Inducing Ovulation in Mares During the Transition Period Versus Ovulatory Season. *J Equine Vet Sci*
46. DGAV (2021) MedVet: <https://bit.ly/3ldcZyG>.
47. Infarmed (2016) Prontuário Terapêutico: <https://bit.ly/3l6SQED>.
48. DGAV MedVet: <https://bit.ly/3nUCtCO>.
49. Barrier-Battut I. Le Poutre N. Trocherie E. Hecht S. Grandchamp des Raux A. Nicaise J.L. Vérin X. Bertrand J. Fiéni F. Hoier R. Renault A. Egron L. Tainturier D. & Bruyas J.F. (2000) Use of burserelein to induce ovulation in the cyclic mare. *Theriogenology*
50. Infarmed (2016) Prontuário terapêutico: <https://bit.ly/3HV7cry>.
51. Infarmed (2016) Prontuário Terapêutico: <https://bit.ly/3FP3r4Z>.
52. DGAV (2021) MedVet: <https://bit.ly/3l8ECsE>.
53. Sinclair C.D. Webel S.K. Douthit T.L. Murray L.W. Jager A.L. Grieger D.M. &

- Kouba J.M. (2017) Evaluation of an intravaginal triptorrelin acetate gel for inducing ovulation in mares. *Am Soc Anim Sci*
54. DGAV (2021) *MedVet*: <https://bit.ly/30XVtI6>.
 55. DGAV (2021) *MedVet*: <https://bit.ly/30VrJvv>.
 56. Infarmed (2016) *Prontuário Terapêutico*
 57. Infarmed (2016) *Prontuário Terapêutico*: <https://bit.ly/3lbsM18>.
 58. Infarmed (2021) *Infarmed*
 59. Ginther O.J. Gastal M.O. Gastal E.L. Jacob J.C. Siddiqui M.A.R. & Beg M.A. (2008) Effect of age on follicle and hormone dynamics during the oestrous cycle in mares. *J Equine Vet Sci*
 60. P.Brinsko S. & L. Blanchard T. (2011) Chapter 4 - Breeding Soundness Examination of the Mare. In *Manual of Equine Reproduction Third*, pp. 39–53.
 61. Farquhar V.J. McCue P.M. Vanderwall D.K. & Squires E.L. (2000) Efficacy of the GnRH agonist deslorelin acetate for inducing ovulation in mares relative to age of mare and season. *J Equine Vet Sci*
 62. P.Brinsko S. & L. Blanchard T. (2011) Chapter 14 - Semen preservation. In *Manual of Equine Reproduction*, pp. 213–33.
 63. Samper J.C. (2001) Management and fertility of mares bred with frozen semen. *Anim Reprod Sci*
 64. Cuervo-Arango J. & Clark A. (2010) The first ovulation of the breeding season in the mare: The effect of progesterone priming on pregnancy rate and breeding management (hCG response rate and number of services per cycle and mare). *Anim Reprod Sci*
 65. P.Brinsko S. & L. Blanchard T. (2011) Chapter 6 - Endometritis. In *Manual of Equine Reproduction*, pp. 79–90.
 66. Betteridge K.J. (2011) Chapter 225 - Embryo Morphology, Growth and Development. In *Equine Reproduction*, pp. 2167–86.

VI. Anexos

1. Relatório de estágio

O estágio curricular realizado decorreu na empresa Equimuralha Lda, sediada em Évora, sob orientação da Professora Doutora Elisa Bettencourt, Doutora Liliane Damásio e Professora Doutora Susana Monteiro. Este estágio teve início no dia 1 de setembro de 2020 e decorreu até ao dia 21 de maio de 2021, sendo dividido em duas partes distintas. Uma primeira parte com a duração de seis meses e uma segunda parte com a duração de 3 meses.

Durante este estágio, foi acompanhado o trabalho de cinco veterinários, Doutor Tomé Fino, Doutora Liliane Damásio, Doutora Beatriz Arroja, Doutor João Oliveira e Doutora Ana Galhos. Na primeira parte do estágio, foram acompanhadas as atividades desenvolvidas pelos diferentes médicos veterinários que compõem a equipa nas diferentes áreas que abrangem a clínica e cirurgia de equinos, sendo que os estagiários cumpriam uma escala de urgências em fins-de-semana alternados e, durante a semana, em dias alternados. A segunda parte do estágio, realizado com a Doutora Liliane Damásio, incidiu essencialmente na área da reprodução e neonatologia equina, sendo que foi possível dividir as atividades acompanhadas em três grupos principais: éguas, garanhões e poldros.

Na secção das éguas as principais atividades acompanhadas foram a palpação transretal do trato reprodutivo da égua, o controlo reprodutivo ecográfico, indução da ovulação, indução da luteólise, inseminação artificial com sémen fresco, inseminação artificial com sémen congelado, lavagens uterinas, diagnósticos de gestação, monitorização ecográfica da gestação, recolha de embriões, biópsias uterinas, citologias uterinas, zaragatoas uterinas e indução da lactação. Foram também acompanhados casos de endometrite, retenção placentária, partos distócicos e placentites.

Relativamente aos garanhões, as principais atividades acompanhadas foram o exame do trato reprodutivo do garanhão através de palpação e ecografia testicular e das glândulas acessórias, colheita de sémen em manequins de monta ou em éguas em cio, espermogramas, recolha de amostras para realização de testes sanitários, processamento de doses de sémen fresco e refrigerado e congelação de sémen. Foram acompanhados também casos clínicos tais como, vesiculite seminal do garanhão e orquite crónica.

Por fim, na área da neonatologia, o exame completo do poldro neonato foi um procedimento muito frequente, tendo sido acompanhados diferentes casos clínicos na área, tais como, falha de transferência de imunidade passiva e consequente transferência de plasma, impactação de mecónio, diarreias neonatais, onfaloflebite, persistência do úraco, rutura de bexiga, deformidades flexurais e hérnia umbilical.



Figura 2 - Recolha de sémen através de manequim e vagina artificial.



Figura 3 - Inseminação artificial com sémen fresco.



Figura 1 - Cuidados neonatais após parto distócico.

Gráfico 1 - Distribuição da casuística pelas áreas clínicas e respetiva frequência relativa (%) (n=2387)

