

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

ANDRÉ GOMES LIMA

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE FENILBUTAZONA E
MELOXICAM SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE
FOLÍCULOS PRÉ-OVULATÓRIOS EM ÉGUAS**

ALEGRE - ES

2013

ANDRÉ GOMES LIMA

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE FENILBUTAZONA E
MELOXICAM SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE
FOLÍCULOS PRÉ-OVULATÓRIOS EM ÉGUAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de **Mestre em Ciências Veterinárias**, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dra. Carla Braga Martins

ALEGRE – ES

2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

L732e Lima, André Gomes, 1982-
Efeitos da utilização de fenilbutazona e meloxicam sobre o desenvolvimento de folículos pré-ovulatórios em éguas / André Gomes Lima. – 2013.
52 f. : il.

Orientadora: Carla Braga Martins.
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Égua. 2. Ovulação. 3. Ultrassonografia veterinária. 4. Agentes antiinflamatórios. 5. Folículo hemorrágico anovulatório. I. Martins, Carla Braga. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 619

ANDRÉ GOMES LIMA

EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE FENILBUTAZONA E
MELOXICAM SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE
FOLÍCULOS PRÉ-OVULATORIOS EM ÉGUAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Aprovada em 24 de maio de 2013.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dra. Carla Braga Martins

Universidade Federal do Espírito Santo

Orientadora

Prof. Dra. Louisiane de Carvalho Nunes

Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dra. Cláudia Barbosa Fernandes

Universidade de São Paulo

Aos meus pais, familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço infinitamente a Deus, meu alicerce! Guia da minha caminhada, fonte divina de luz. Obrigado Senhor!

Aos Meus pais, Nelim Lima e Sydnéa Gomes Lima, por todos esforços em prol de minha educação, que por muitas vezes abriram mão de seus próprios sonhos para que os meus se tornassem realidade. Verdadeiros exemplos de luta e perseverança! À Universidade Federal do Espírito Santo, casa que me acolheu há mais de uma década, por todas as oportunidades durante esse período. Minha grande escola da vida.

À minha Orientadora, Carla Braga Martins, por todos os ensinamentos, conversas, conselhos e principalmente pela amizade e confiança. Em muitos momentos me fez acreditar que este projeto era possível.

Aos meus Irmãos Alessandro Gomes Lima, Flávio Gomes Lima e Filipe Gomes Lima, que apesar das distâncias, estão sempre na torcida.

Aos Amigos-Irmãos Eduardo Mancini, Fábio Demolinari, Fernando Stocco, Guilherme Santos, Laino Cola, Leandro de Oliveira, Maurício Venâncio, Paulo Sérgio Jr., Pedro Gabriel Jr., Paulo de Tarso, Ricardo Rover, Salomão Calegari e Victor Corrêa por todo apoio, amizade, confraternizações e muito pé-de-serra. Salve Luiz Gonzaga!

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFES, pelas oportunidades oferecidas.

Às Professoras Isabella Vilhena Freire Martins e Louisiane de Carvalho Nunes pelas participações nas bancas, colaborações e sugestões para a melhoria deste trabalho.

Ao Prof. Dr, Marco Antônio Alvarenga, Universidade Estadual Paulista, pelas sugestões e hormônios cedidos.

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de estudos concedida durante o curso.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Muito obrigado a todos!

“Crê em ti mesmo, age e verá os resultados. Quando te esforças, a vida também se esforça para te ajudar.”

Francisco Cândido Xavier

“A sabedoria de um ser humano não está no quanto ele sabe, mas no quanto ele tem consciência de que não sabe. Você tem essa consciência?”

Augusto Cury

RESUMO

Fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como meloxicam e fenilbutazona, tem sido utilizados para o tratamento de muitas desordens em éguas e podem interferir na atividade reprodutiva pela inibição da COX-2 e, conseqüentemente, a inibição da formação de PGs. Dessa forma, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos do tratamento com AINEs no desenvolvimento de folículos pré-ovulatórios em éguas. Utilizou-se onze éguas durante três ciclos estrais consecutivos, realizando exames ginecológicos e ultrassonográficos a cada 12 horas durante o período pré-ovulatório. Quando folículos de 32 mm de diâmetro foram detectados, administrou-se 1 mg de deslorelina para induzir a ovulação. O primeiro ciclo foi usado como controle e as éguas receberam somente a dose de deslorelina, sem a administração de AINEs. Nos ciclos subsequentes as éguas foram tratadas com deslorelina e AINEs, a saber: no segundo ciclo, cada égua recebeu uma dose deslorelina associada a 4,4 mg/kg de fenilbutazona. No terceiro ciclo administrou-se deslorelina associada a 0,6 mg/kg de meloxicam, uma vez por dia, até o momento da ovulação ou início da hemorragia folicular. Observou-se que todas as éguas pertencentes ao grupo controle ovularam entre 36 e 48 horas após a indução. Durante o ciclo de tratamento com meloxicam, observou-se que 92% (n=10) das éguas não ovularam e, durante o ciclo de tratamento com fenilbutazona, 83% (n=9) não ovularam e pontos hiperecóticos intrafoliculares foram observados durante o exame ultrassonográfico, compatíveis com folículos hemorrágicos, evoluindo para folículos anovulatórios luteinizados. Assim, pode-se inferir que o tratamento com meloxicam e fenilbutazona, em doses terapêuticas, induz a formação de hemorragia intrafolicular e luteinização de folículos anovulatórios.

Palavras-chave: anti-inflamatórios não esteroidais, folículos hemorrágicos, ovulação, ultrassonografia, égua.

ABSTRACT

Nonsteroidal antiinflammatory (NSAIDs) drugs, as meloxicam and phenylbutazone, are used for the treatment of many disorders in mares and could interfere in reproductive activity by inhibiting COX-2 and, consequently, inhibition of PGs formation. The aim of this study was to evaluate the effects of administration of NSAIDs in developing pre-ovulatory follicles in mares. Eleven mares were used in the study during three consecutive cycles and ultrasonographic examination was performed each 12 hours. When follicles of 32 mm diameter were detected, deslorelin (1 mg) was administered to induce ovulation. The first cycle was used as control and they received the same dose of deslorelin, without NSAIDs administration. In subsequent cycles the mares were treated with deslorelin and NSAIDs, as well: in the second cycle, each horse received the same dose of deslorelin associated with 4.4 mg/kg of phenylbutazone. In the third cycle associated deslorelin was administered at 0.6 mg/kg of meloxicam, both used once a day, until the moment of ovulation or beginning of follicular haemorrhage. In the control group all mares ovulated between 36 and 48 hours after induction. During the cycle of treatment with meloxicam, ten mares (92%) failed to ovulate and during the cycle of treatment with phenylbutazone, nine (83%) failed to ovulate, and intrafollicular hyperechoic spots were observed in ultrasound images, consistent with hemorrhagic follicles, evolving to anovulatory follicles luteinized. It can be inferred that treatment with meloxicam and phenylbutazone, in therapeutic doses, induced the formation of intrafollicular haemorrhage and luteinization of anovulatory follicles.

Key-words: Non steroidal antiinflammatory, hemorrhagic follicles, ovulation, ultrasonography, mare.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Vias de formação das prostaglandinas18
- Figura 2 – Imagens ultrassonográficas folículo pré-ovulatório durante o processo normal de ovulação e formação inicial do corpo hemorrágico em égua do ciclo controle após indução com deslorelina (hora 0). a) Após 36 horas o folículo adquire um formato piriforme e há um espessamento da camada granulosa (esquerda). b) Após 48 horas há aumento de ecogenicidade do conteúdo e início do desenvolvimento do corpo hemorrágico35
- Figura 3 - Imagens ultrassonográficas de folículos anovulatórios luteinizado de éguas tratadas com AINEs. Hora 0 definida como o momento da indução com deslorelina: a) após 48 horas, início da hemorragia folicular; b) após 72horas; c) após 96horas; d) após 120horas, hemorragia intensa, observar grande quantidade de partículas ecoicas no antro folicular36
- Figura 4 - Imagens ultrassonográficas de éguas dos ciclos de tratamento em dois momentos diferentes após o tratamento deslorelina (dia 0). a) Dia 5: Primeira evidência de coagulação do conteúdo, 12 horas antes houve intensa hemorragia, mas as manchas ecóicas ainda estavam se movendo livremente; b) a mesma égua da imagem “a” no dia 10 com conteúdo trabeculado mostrando a rede de filamentos de fibrina; c) Dia 6: folículo anovulatório luteinizado (FAL) com aspecto mais compactado; d) a mesma égua da imagem “c” no dia 12 com um FAL compactado e com diâmetro menor37
- Figura 5 - Representação gráfica do percentual de ovulações durante a execução dos ciclos Controle, Fenilbutazona e Meloxicam38
- Figura 6 - Mediana dos folículos e folículos anovulatórios luteinizados das éguas tratadas com AINEs, e folículos e corpos lúteos das éguas dos ciclo controle. O dia 0 indica o momento da indução com deslorelin. CH: corpo hemorrágico; CL: corpo lúteo40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Número de ovulações e percentual de folículos hemorrágicos entre os ciclos Controle, Fenilbutazona e Meloxicam	37
Tabela 2. Comparação das medianas (mm) \pm desvio interquartilico do tamanho folicular entre o ciclo Controle e os grupos tratado com Meloxicam e Fenilbutazona nos diferentes momentos estudados	39

LISTA DE SIGLAS e/ou ABREVIATURAS

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroidais

CEUA – Comitê de Ética para o Uso de Animais

CH – Corpo Hemorrágico

CL – Corpo Lúteo

Cm³ – centímetro cúbico

COX – Cicloxigenase

COX-1 – Cicloxigenase Tipo 1

COX-2 – Cicloxigenase Tipo 2

FAL – Folículo Anovulatório Luteinizado

FH – Folículo Hemorrágico

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

g – grama

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana

Kg – Kilograma

LH – Hormônio Luteinizante

mm – milímetro

PG – Prostaglandinas

PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}

PGE₂ – Prostaglandina E₂

PV – Peso vivo

UFES – Universidade Federal do Espírito Santo

% - Percentual

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 SITUAÇÃO DA EQUIDEOCULTURA NO BRASIL	16
2.2 FISIOLOGIA REPRODUTIVA EQUINA	16
2.3 PROSTAGLANDINAS	17
2.4 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS	19
2.5 EXAME GINECOLÓGICO	20
2.6 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO	21
2.7 OVULAÇÃO	23
2.8 BLOQUEIO DA OVULAÇÃO	25
CAPÍTULO 1	26
3 Cap. 1 - AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DOS EFEITOS DO MELOXICAM E FENILBUTAZONA NO DESENVOLVIMENTO DE FOLÍCULOS PRÉ- OVULATÓRIOS EM ÉGUAS	27
3.1 RESUMO	27
3.2 ABSTRACT	28
3.3 INTRODUÇÃO	29
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.4.1 ANIMAIS	31
3.4.2 EXAMES GINECOLÓGICOS E ULTRASSONOGRÁFICOS	31
3.4.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	32
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.6 CONCLUSÃO	41
3.7 REFERÊNCIAS	42
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	44

5 REFERÊNCIAS GERAIS45
ANEXO51

1 INTRODUÇÃO

Para elevar a eficiência reprodutiva de animais de interesse genético, torna-se imprescindível o conhecimento da fisiologia reprodutiva equina para a realização do manejo reprodutivo adequado, visando o incremento dos lucros e melhor utilização das biotécnicas da reprodução nos criatórios e centrais de reprodução de equinos.

Estudos relacionados à dinâmica folicular vêm sendo realizados com o objetivo de se conhecer melhor a função ovariana e permitir a manipulação do ciclo estral da égua. A enzima ciclooxigenase 2 (COX-2) está envolvida na produção folicular de prostaglandinas (PGs) E_2 e $F_{2\alpha}$, que ocorre aproximadamente 10 a 12 horas antes da ovulação. Estas PGs induzem o aumento do fluxo sanguíneo para o folículo elevando a pressão intrafolicular e iniciam a síntese de enzimas envolvidas na ruptura da parede folicular causada pelo hormônio luteinizante (LH), levando a expulsão do oócito.

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são os fármacos empregados com maior frequência em equinos nas condições que envolvem dor, inflamação ou febre. Os efeitos terapêuticos destes fármacos decorrem da inibição da via da ciclooxigenase (COX), uma das enzimas que degradam o ácido araquidônico, impedindo a formação de prostaglandinas. O meloxicam e a fenilbutazona são AINEs amplamente utilizados em equinos para o tratamento de diversas afecções, como desordens musculoesqueléticas, e podem inibir a via COX-2, prejudicando formação de PGs e, conseqüentemente, interferir na atividade reprodutiva. A inibição da secreção de prostaglandinas e esteróides pode bloquear a ovulação.

Apesar da existência de muitas pesquisas na área de biotecnologias aplicadas à reprodução de equinos, nota-se a escassez de trabalhos relacionados à influência de AINEs sobre a taxa de ovulação em éguas. Devido a utilização intensa dos anti-inflamatorios não esteroidais na rotina e a possibilidade de interferência na ovulação das reprodutoras, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos do tratamento com AINEs no desenvolvimento de folículos pré-ovulatórios em éguas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SITUAÇÃO DA EQUIDECULTURA NO BRASIL

O rebanho de equídeos no Brasil possui em média 5,5 milhões de cabeças de equinos, cerca de 1 milhão de cabeças de asininos e cerca de 1,3 milhões de cabeças de muares. É um setor de grande importância econômica devido ao grande número de empregos que gera, além da renda gerada com o comércio de animais (IBGE, 2010).

O Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalo realizado pelos pesquisadores da Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP) em 2006, mostra que a equinocultura tem ganhado espaço no Brasil e que o agronegócio cavalo possui um enorme potencial de crescimento. Segundo a pesquisa, o Complexo do Agronegócio Cavalo oferece mais de 3 milhões de empregos diretos e indiretos.

2.2 FISILOGIA REPRODUTIVA EQUINA

Na espécie equina, a atividade sexual é demonstrada nos períodos do ano em que há maior luminosidade durante as 24 horas do dia, período onde os dias são mais longos, atingindo até 13 horas de luz por dia (GINTHER et al., 2004). Portanto, as éguas são consideradas poliéstricas estacionais. Nos meses com menor luminosidade, a égua entra no período de anestro fisiológico, caracterizado por não apresentar um folículo dominante capaz de produzir quantidade suficiente de estrógeno (FARIA et al., 2010). Entretanto, algumas éguas podem se comportar como poliéstricas anuais (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O ciclo estral engloba um conjunto de alterações de concentrações hormonais, que ocasiona alterações comportamentais e no trato reprodutivo da égua (MOREL, 2005). A monitorização dessas alterações e a compreensão do ciclo estral normal da égua são essenciais para a aplicação de programas reprodutivos eficientes (EVANS et al., 2007).

Segundo Romano et al. (1998), a duração do ciclo estral na espécie equina é muito variável de animal para animal, sendo a duração do estro, o componente mais

importante nessa variação. A duração do ciclo estral em éguas é em média de $25,24 \pm 6,00$ dias, e a duração do estro é em média de $7,50 \pm 4,16$ dias.

Na espécie equina o ciclo estral é dividido em fase ovulatória, compreendendo o estro e fase luteal, compreendendo o diestro. A fase de estro é caracterizada pela presença de um folículo maior que 25 mm de diâmetro e pela receptividade sexual ao macho (GINTHER, 1992). Enquanto a fase de diestro é caracterizada pelo término das manifestações de cio, que ocorrem 24 a 48h após a ovulação, e formação de corpo lúteo com conseqüente produção de progesterona (ROMANO et al., 1998).

A Dinâmica folicular é o processo contínuo de crescimento e regressão folicular que ocorre nos ovários das éguas, o qual é diretamente influenciado por fatores externos como o fotoperíodo, nutrição, temperatura e o estresse (GINTHER, 1986).

Os efeitos do fotoperíodo sobre a dinâmica folicular influenciam na estação ovulatória. Como exemplo, a atividade folicular do ciclo estral é maior durante a primeira metade da estação, indicado por folículos com diâmetro maior que 20 mm, e maior incidência de ondas ovulatórias menores e maiores. As concentrações do hormônio luteinizante (LH) são maiores em associação com ondas com amplitudes maiores que em ondas menores, embora as concentrações do hormônio folículo estimulante (FSH) sejam semelhantes (GINTHER et al., 2004).

A incidência da ovulação é mínima ou inexistente durante o inverno, aumentando transitoriamente durante a primavera, atingindo o máximo no verão e diminuindo transitoriamente durante o outono (GINTHER et al., 2004). Entretanto Samper (2000) afirma que apesar da égua ser uma espécie poliéstrica estacional de forma natural, em condições de trópico não se observa estacionalidade.

2.3 PROSTAGLANDINAS

As prostaglandinas são derivados endógenos dos ácidos graxos sintetizados a partir dos fosfolípídeos de membrana celular por praticamente todos os tipos de células dos mamíferos. Isoladas primeiramente do sêmen humano por Kurzrok e Lieb na década de 30, quando perceberam que extratos do fluido seminal afetavam a atividade contrátil do útero, e receberam essa denominação, pois acreditava-se serem provenientes da próstata (ADAMS, 2003).

Derivadas de ácidos graxos hidroxilados poli-insaturados com 20 átomos de carbono e um anel ciclo/pentano, as prostaglandinas são compostos que não são estocados em tecidos, mas sim liberados de acordo com a síntese celular a partir de ácidos graxos precursores disponíveis, dentre estes, o ácido araquidônico é considerado sua principal fonte (ADAMS, 2003; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Os fosfolípídeos celulares liberam o ácido araquidônico em resposta à fosfolipase A₂. Esta enzima é ativada por inúmeros estímulos fisiológicos, farmacológicos e patológicos. O ácido araquidônico liberado sofre biotransformação pela enzima cicloxigenase e o produto formado a partir dessa interação é a prostaglandina G₂, que por sua vez é transformada em prostaglandina H₂. Estes compostos são muito instáveis e dão origem a diferentes prostaglandinas como a PGF_{2α} e PGE₂ (ADAMS, 2003). Sendo estas, as prostaglandinas que estão intimamente relacionadas com a reprodução em mamíferos, liberadas por vários tipos celulares presentes no trato reprodutor em resposta a estímulos endócrinos, neurológicos e físicos (ALLEN; COOPER, 1993).

Existem duas vias de formação de prostaglandinas: cicloxigenase-1 (COX-1) e cicloxigenase-2 (COX-2). A COX-1 é secretada constantemente em níveis basais e atua na produção de prostaglandinas com ação protetora da mucosa gastrointestinal. Já a COX-2 é constituinte das vias inflamatórias (Figura 1), mas também possui participação nas vias fisiológicas com a PGF_{2α} e PGE₂, atuando no processo de ovulação e formação do corpo lúteo (ADAMS, 2003). Além disso, sabe-se que a PGE₂ possui efeito positivo sobre a secreção de progesterona pelo corpo lúteo (ALLEN; COOPER, 1993).

Algumas formas de prostaglandinas nunca aparecem na circulação sanguínea, enquanto outras são degradadas ao passarem pelo fígado e pulmões (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Dentre os efeitos atribuídos às prostaglandinas na atividade reprodutiva das éguas destaca-se a contração uterina, favorecendo o transporte espermático e o parto, a ovulação, a formação do corpo lúteo e a luteólise (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

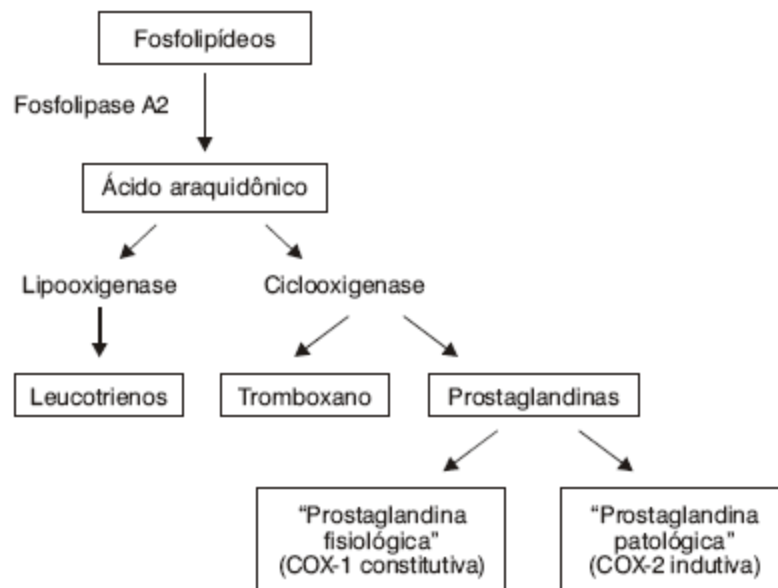


Figura 1. Vias de formação das prostaglandinas. Fonte: Hilário et al. (2006)

2.4 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são os fármacos empregados com maior frequência em equinos nas condições que envolvem dor, inflamação ou febre. Os efeitos terapêuticos destes fármacos decorrem da inibição da via da ciclooxigenase (COX), uma das enzimas que degradam o ácido araquidônico, impedindo a formação de prostaglandinas (MOSES; BERTONE, 2002).

Os AINEs mais utilizados na clínica de equinos são: ácido acetil salicílico, fenilbutazona, flunixin meglumine e cetoprofeno. O carprofeno e o meloxicam foram introduzidos recentemente na terapia anti-inflamatória equina, com o intuito de produzirem menos efeitos adversos, pois atuam inibindo preferencialmente a via da ciclooxigenase-2, via inflamatória (BERETTA et al., 2005; LITTLE et al., 2007; COOK et al., 2009).

A fenilbutazona é uma droga anti-inflamatória cuja atividade assemelha-se a da cortisona. Tem sido utilizada em equinos desde o começo da década de 50, principalmente por sua ação analgésica e antipirética, nas inflamações ósseas e de articulações, assim como claudicações, cólicas agudas, endotoxemia e afecções dos tecidos moles, devido a sua eficácia e baixo custo. Em equinos a duração dos efeitos farmacológicos é de cerca de 8 a 12 horas. Tem a propriedade de diminuir a produção de superóxidos (ação antioxidante), sendo também um inibidor irreversível

da COX. A dose clínica recomendada é 4,4mg/Kg por via intravenosa e sua meia vida é de 3,5 horas no equino (SPINOSA et al., 2011).

O meloxicam é um potente inibidor de tromboxanos e prostaglandinas, com excelentes propriedades antipirética e analgésica, sendo usado para o tratamento de afecções musculoesqueléticas, endotoxemias e pós-cirúrgico. Foi o primeiro inibidor COX-2 seletivo e atualmente é classificado como inibidor preferencial da COX-2 e também inibidor da COX-1. Enquanto em cães a meia-vida é de cerca de 12 a 36 horas, em equinos é de aproximadamente 3 horas, em suínos 4 horas e em bovinos de cerca de 13 horas (ANDRADE, 2008). A dose clínica recomendada é 0,6 mg/Kg por via intramuscular.

Inibidores seletivos da COX-2 têm sido preconizados na reprodução equina para prevenir a endometrite induzida pela cobertura (ROJER et al., 2010) e a liberação de prostaglandinas durante a manipulação da cérvix em transferências de embriões (KOBLSCHKE et al., 2009).

2.5 EXAME GINECOLÓGICO

Através da palpação transretal é possível avaliar as estruturas ovarianas, a tonicidade e grau de dilatação cervical, o tamanho, consistência e tonicidade uterina. O principal objetivo do exame transretal é a avaliação da estrutura, tônus e formato. Normalmente não é possível determinar a presença de pequenos acúmulos de fluido por meio da palpação transretal. O exame dos ovários fornece informações importantes sobre a ciclicidade e anomalias ovarianas (MCKINNON, 1993).

À palpação transretal, em éguas vazias, o corpo do útero está localizado na cavidade pélvica, enquanto os ovários e os cornos uterinos estão na cavidade abdominal (BLANCHARD et al., 2003). No período de anestro o ovário possui cerca de 4 cm, e durante a estação reprodutiva pode atingir 10 cm de diâmetro (SAMPER; PYCOCK, 2007). A classificação da consistência folicular preconizada por Newcombe (2007) e Prestes (2008) considera: 1: sem flutuação, 2: flutuação débil, 3: flutuação média, 4: folículo maduro, 5: folículo rompido (ovulado). A ovulação pode ser caracterizada, por meio da palpação transretal, pela presença de uma depressão no ovário onde se localizava o folículo, ou seja, pela ausência do folículo palpado anteriormente (NEWCOMBE, 2007). Os mesmos autores consideram os

folículos pequenos como sem flutuação, folículos em crescimento apresentando amolecimento como flutuação média e folículos apresentando consistência macia como maduro. A tonicidade ou contratilidade uterina pode ser descrita como: CI; útero relaxado, CII: contratilidade média, CIII: fortemente contraído (BLANCHARD et al., 2003; PRESTES, 2008).

2.6 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO

A ultrassonografia é uma técnica complementar ao exame clínico e possibilita o exame preciso do trato reprodutivo. É uma técnica não invasiva, relativamente simples, segura para o técnico e para o paciente, e fornece informações rápidas, visto que as imagens permitem a interpretação e o diagnóstico imediato na maioria das situações, e em tempo real. Essa técnica é utilizada rotineiramente na medicina veterinária, principalmente para avaliações ginecológicas e obstétricas, por contribuir para o entendimento dos processos reprodutivos e maximização da eficiência reprodutiva (GINTHER, 1986; WOLF; GABALDI, 2002).

Sua utilização possibilita o diagnóstico de prenhez precoce, permite identificar alterações não percebidas pela palpação manual como, tumores, cistos endometriais, presença de secreções no lúmen uterino, entre outras. As estruturas ovarianas como corpos lúteos e folículos também podem ser monitorados por meio da ultrassonografia em relação à quantidade, tamanho, desenvolvimento e características (ANDRADE MOURA, 1996).

As estruturas do trato reprodutivo da égua são bem definidas e facilmente identificadas, o que facilita a interpretação das imagens ultrassonográficas (ANDRADE MOURA, 1996). O estroma ovariano é composto de tecido conjuntivo e na imagem ultrassonográfica caracteriza-se por apresentar um aspecto uniforme e ecogênico (BLANCHARD et al., 2003). Enquanto os folículos são estruturas vesiculares e aparecem na imagem com forma arredondada e anecóica (ANDRADE MOURA, 1996). Já os corpos lúteos são visualizados como uma área do ovário que apresenta uma típica ecogenicidade delimitada por uma linha hipocóica de baixa intensidade que a separa do parênquima ovariano, a forma da glândula luteal é irregular na maioria das vezes (KÄHN, 1991).

O exame ultrassonográfico possibilita a determinação precisa do número, localização, tamanho e forma dos folículos ovarianos e o controle folicular possibilita a cobertura ou inseminação próxima ao momento da ovulação, o que contribui para que os gametas estejam viáveis no momento da fertilização (BLANCHARD et al., 2003).

O diâmetro folicular é utilizado para estimar o momento da ovulação. Folículos destinados a ovular começam a crescer cerca de sete dias antes da ovulação, e crescem em torno de 2,5 mm (PIERSON, 1993) a 2,7 mm por dia (SAMPER; PYCOCK, 2007).

A imagem ultrassonográfica do útero pode ser acentuadamente alterada pela fase do ciclo estral e está relacionada com as concentrações de hormônios esteróides ovarianos circulantes. Durante o diestro, as pregas endometriais normalmente não são visualizadas (GINTHER, 1995; GINTHER; PIERSON, 1984a). Nesta fase do ciclo estral a ecotextura uterina é mais homogênea quando comparada ao estro. É possível também observar o contato entre as superfícies mucosas identificado por uma linha hiperecótica quando o útero é visualizado longitudinalmente. Durante o estro, as pregas endometriais são facilmente observadas, devido ao edema induzido pelo aumento nas concentrações circulantes de estrógeno. A imagem ultrassonográfica se torna mais heterogênea, com aspecto de raios de uma roda, onde as porções centrais das pregas aparecem com maior ecotextura e as porções edemaciadas das pregas apresentam-se anecóicas (GHINTER, 1992; BLANCHARD et al., 2003; SAMPER; PYCOCK, 2007). Esse edema geralmente diminui com a proximidade da ovulação (SAMPER, 1997; PELEHACH et al. 2000).

A avaliação da ecotextura uterina tem se mostrado bastante útil na clínica reprodutiva equina, como parte da rotina de exames ginecológicos, na indicação do momento ideal para a inseminação artificial ou monta natural, bem como para a indicação subjetiva das concentrações de progesterona (PYCOCK et al., 1995).

Na espécie equina a avaliação da ecotextura uterina é realizada por meio de um escore de edema endometrial de acordo com a imagem ultrassonográfica obtida. O sistema de escore que varia numa faixa de 1 a 4 (onde 1 é considerado como edema mínimo e 4, o edema máximo) tem sido utilizado conforme a intensidade do edema das pregas uterinas (GINTHER; PIERSON, 1984a; GINTHER 1995).

Essas pregas endometriais tornam-se visíveis ao final do diestro (escore 1), tornando mais proeminentes durante o estro (escore 4) aproximadamente 6 dias antes da ovulação e geralmente diminuem 24 a 48 horas antes da ovulação (GASTAL et al., 1998).

2.7 OVULAÇÃO

Em comparação com outras espécies de animais domésticos, o ovário da égua é uma estrutura única, caracterizada por um tamanho extremamente grande (35-120 cm³ de volume e 40-80g de peso) e a presença de uma fossa de ovulação (KIMURA et al., 2005).

A ovulação é um processo complexo que envolve a ruptura do folículo dominante na região da fossa ovulatória quando o folículo atinge, em média, 40 a 45 milímetros de diâmetro (SAMPER, 1997), com extrusão do fluido folicular, células da granulosa e oócito (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Se a ovulação for dupla, poderá ocorrer com folículos ≤ 25 mm (SAMPER e PYCOCK, 2007).

Os folículos pré-ovulatórios normalmente mudam de forma 24 horas antes da ovulação, passam da forma esférica para a forma de pera. A parede folicular se torna mais espessa e apresenta aspecto recortado, a ecogenicidade do fluido folicular pode aumentar (BLANCHARD et al., 2003).

A maturação histológica do folículo pré-ovulatório em equinos é caracterizada pelo espessamento da camada de células da granulosa e acúmulo abundante de matriz extracelular. O processo ovulatório envolve um único e específico padrão de regulação gênica nas células da teca e granulosa. Isto inclui as diferenças na expressão de uma variedade de fatores, entre eles as prostaglandinas e enzimas metabolizadoras de prostaglandinas (SAYASITH et al., 2007).

O aumento das concentrações de PGF_{2 α} e de PGE₂ no fluido folicular não ocorre imediatamente após o pico de gonadotrofinas (hormônio luteinizante e hormônio folículo estimulante), como se observa para as concentrações de esteróides. Na égua, a cicloxigenase-2 está envolvida na produção folicular de PGF_{2 α} e PGE₂, 10 a 12 horas antes da ovulação (SIROIS; DORE, 1997).

Segundo Poyser (1981), é possível que a PGE₂ e a PGF_{2 α} iniciem a síntese de enzimas envolvidas no colapso da parede folicular, e que ocasionem aumento do

fluxo sanguíneo para o folículo e aumento da pressão intrafolicular, por meio do qual se produz a expulsão do oócito com a ruptura da parede do folículo. A PGE₂ é um potente fator luteotrófico que participa da remodelação das camadas foliculares, culminando com a formação do corpo lúteo (SHELTON et al., 1990).

A indução da ovulação tem como finalidade sincronizar a ovulação o mais próximo possível da cobertura ou inseminação, diminuir os custos e a resposta inflamatória no útero de éguas consideradas susceptíveis a inflamação pós-cobertura. A ovulação deve ser induzida quando o folículo atingir 35 mm, momento em que se torna responsivo ao LH. Dessa forma, a maioria das éguas irão ovular de 36 a 48 horas após a indução (PALMER, 1993).

Os agentes mais comumente utilizados para a indução da ovulação na espécie equina são a Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH) e a Deslorelina (análogo do GnRH) (BLANCHARD et al., 2003).

A administração de uma dose (1500-3000 IU) de gonadotrofina coriônica humana (hCG) em éguas durante o estro, induz o aumento na concentração de LH (GINTHER et al., 2009) até 12 horas após o tratamento e a expressão de COX-2 nas células da granulosa 24 a 30 horas após a administração. Esse aumento da expressão de COX-2, induz o aumento gradual nas concentrações de PGF_{2α} e PGE₂ no fluido folicular iniciando 33 horas após a administração de hCG e atingindo o pico após 39 horas (SIROIS; DORE, 1997).

Inicialmente a dose recomendada de deslorelina para induzir a ovulação em éguas é de 1.5mg (McCUE et al., 2007). Porém, os resultados dos estudos de Lindholm et al. (2010) sugerem que uma dose tão baixa quanto 0,5 mg pode produzir resultados semelhantes a um custo menor. Além disso, não foi observada diferença significativa entre a eficácia da deslorelina ou buserelina na estimulação da liberação de LH hipofisária ou a indução da ovulação. Doses de 1,5, 1,0 e 0,5 mg de deslorelina e buserelina foram igualmente eficazes na indução da ovulação em até 48 horas após a administração.

2.8 BLOQUEIO DA OVULAÇÃO

A falha na ovulação em éguas pode ser proveniente de uma hemorragia no folículo pré-ovulatório dominante, que deixa de romper ou ovular, com subsequente organização de seu conteúdo e em algumas ocasiões ocorre a luteinização da parede folicular e do conteúdo. Este processo é bastante relevante em éguas, pois acarreta diminuição nos índices reprodutivos (CUERVO-ARANGO; NEWCOMBE, 2009). Quando há hemorragia intrafolicular e este folículo falha na ovulação, a estrutura resultante deste processo recebe a denominação de folículo hemorrágico (GINTHER; PIERSON, 1984b), folículos hemorrágicos anovulatórios (CARNELAVE et al., 1989), e folículos anovulatórios persistentes (McCUE; SQUIRES, 2002).

Inicialmente, o pico pré-ovulatório de gonadotrofinas induz o aumento imediato e temporário nas concentrações plasmáticas de progesterona. Posteriormente, a secreção de estradiol e de $\text{PGF}_{2\alpha}$ também aumenta (SHELTON, 1990). A inibição da secreção de prostaglandinas e esteróides bloqueia a ovulação. Quando a síntese de prostaglandinas é inibida, o oócito permanece dentro do folículo luteinizado (GINTHER, 2009).

Em um estudo realizado com seis éguas em período pré-ovulatório, Cuervo-Arango e Domingo-Ortiz (2011) trataram os animais com altas doses de flunixin meglumine (2,2mg/Kg/BID) e observaram o desenvolvimento de folículos anovulatórios em 83% dos animais tratados. Eventualmente esses folículos tiveram seu conteúdo organizado e luteinizado.

CAPÍTULO 1

Tratamento clínico com fenilbutazona e meloxicam no período pré-ovulatório influencia na taxa de ovulação em éguas?

3. Cap. 1 – TRATAMENTO CLÍNICO COM FENILBUTAZONA E MELOXICAM NO PERÍODO PRÉ-OVULATÓRIO INFLUENCIA NA TAXA DE OVULAÇÃO EM ÉGUAS?

3.1 RESUMO

A presença de folículos hemorrágicos anovulatórios durante o ciclo estral das éguas causa impacto financeiro, retardando a concepção e aumentando o número de serviços por gestação. Fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como meloxicam e fenilbutazona, são utilizados para o tratamento de diversas afecções em éguas e podem prejudicar a formação de PGs e, conseqüentemente, interferir na atividade reprodutiva. Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos do tratamento com AINEs no desenvolvimento de folículos pré-ovulatórios em éguas. Utilizou-se 11 éguas durante três ciclos estrais consecutivos, realizando exames ginecológicos e ultrassonográficos a cada 12 horas. Quando folículos de 32 mm de diâmetro foram detectados, administrou-se 1 mg de Deslorelina para induzir a ovulação. O primeiro ciclo foi usado como controle e as éguas receberam somente a dose de deslorelina. Nos ciclos subsequentes, além de receber a mesma dose de deslorelina, cada égua foi tratada com AINEs. Sendo no segundo ciclo a aplicação de 4,4 mg/kg de fenilbutazona, e no terceiro ciclo 0,6 mg/kg de meloxicam, uma vez por dia, até o momento da ovulação ou início da hemorragia folicular. Observou-se que todas as éguas pertencentes ao ciclo Controle ovularam entre 36 e 48 horas após a indução. No ciclo de tratamento com meloxicam, dez (92%) éguas não ovularam e, no ciclo de tratamento com fenilbutazona, nove (83%) éguas não ovularam e pontos hiperecóticos intrafoliculares foram observados na ultrassonografia, compatíveis com folículos hemorrágicos. Assim, pode-se inferir que o tratamento com meloxicam e fenilbutazona, em doses terapêuticas, induz a formação de hemorragia intrafolicular e luteinização de folículos anovulatórios.

Palavras-chave: anti-inflamatórios não esteroidais, folículos hemorrágicos, ovulação, ultrassonografia, égua.

3.2 ABSTRACT

The presence of anovulatory hemorrhagic follicles during the estrous cycle of mares causes financial impacts, slowing conception and increasing the number of services per pregnancy. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as meloxicam and phenylbutazone are used in the treatment of several disorders in mares, and these drugs can impair the formation of prostaglandins (PGs) and consequently interfere with reproductive activity. The present study aimed to evaluate the effects of treatment with NSAIDs on the development of pre-ovulatory follicles in mares. In total, 11 mares were studied over three consecutive estrous cycles, and gynecological and ultrasound examinations were performed every 12 hours. When 32 mm diameter follicles were detected, 1 mg of deslorelin was administered to induce ovulation. The first cycle was used as a control, and the mares received only a dose of deslorelin. In the subsequent cycles, in addition to receiving the same dose of deslorelin, each mare was treated with NSAIDs. In the second cycle, 4.4 mg/kg of phenylbutazone was administered, and in the third cycle, 0.6 mg/kg of meloxicam was administered once a day until ovulation or the beginning of follicular hemorrhage. All of the mares ovulated between 36 and 48 hours after the induction in the control cycle. In the meloxicam cycle, 10 mares (92%) did not ovulate, while in the phenylbutazone cycle, 9 mares (83%) did not ovulate. In both treatments, intrafollicular hyperechoic spots indicative of hemorrhagic follicles were observed on ultrasound. Thus, our results suggested that treatment with meloxicam and phenylbutazone at therapeutic doses induced intrafollicular hemorrhage and luteinization of anovulatory follicles.

Key words: non-steroidal anti-inflammatory drugs, hemorrhagic follicles, ovulation, ultrasound, mare.

3.3 INTRODUÇÃO

Um grande desafio para o profissional que trabalha com equinos é elevar a eficiência reprodutiva de animais de interesse genético, dessa forma torna-se imprescindível o conhecimento da ginecologia e fisiologia reprodutiva equina, a qual pode ser utilizada com múltiplos objetivos permitindo o incremento dos lucros, a maximização dos índices reprodutivos e a melhor utilização das biotécnicas da reprodução (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Estudos relacionados à dinâmica folicular vêm sendo realizados com o objetivo de se conhecer melhor a função ovariana e permitir a manipulação do ciclo estral da égua. A ovulação é um processo complexo que envolve a ruptura do folículo dominante na região da fossa ovulatória quando o folículo atinge, em média, 40 a 45 milímetros de diâmetro (SAMPER, 1997).

A enzima ciclooxygenase 2 (COX-2) está envolvida na produção folicular de prostaglandinas (PGs) E₂ e F_{2α}, que ocorre aproximadamente 10 a 12 horas antes da ovulação. Estas PGs induzem o aumento do fluxo sanguíneo para o folículo elevando a pressão intrafolicular e iniciando a síntese de enzimas envolvidas na ruptura da parede folicular causada pelo hormônio luteinizante (LH), levando a expulsão do oócito (POYSER, 1981; SHELTON et al., 1990; SIROIS; DORE, 1997).

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são os fármacos empregados com maior frequência em equinos nas condições que envolvem dor, inflamação ou febre. Os efeitos terapêuticos destes fármacos decorrem da inibição da via da ciclooxygenase (COX), uma das enzimas que degradam o ácido araquidônico, impedindo a formação de prostaglandinas (MOSES; BERTONE, 2002).

A indução da ovulação tem como finalidade sincronizar a ovulação o mais próximo possível da cobertura ou inseminação, diminuir os custos e a resposta inflamatória no útero de éguas consideradas susceptíveis a inflamação pós-cobertura. A ovulação deve ser induzida quando o folículo atingir 35 mm, momento em que se torna responsivo ao LH. Dessa forma, a maioria das éguas irão ovular de 36 a 48 horas após a indução (PALMER, 1993).

Quando há hemorragia intrafolicular e este folículo falha em ovular, a estrutura resultante deste processo recebe a denominação de folículo hemorrágico

(GINTHER; PIERSON, 1984b), folículos hemorrágicos anovulatórios (CARNELAVE et al., 1989), e folículos anovulatórios persistentes (McCUE; SQUIRES, 2002).

Apesar da intensa pesquisa na área de biotecnologias aplicadas à reprodução de equinos, nota-se a escassez de trabalhos sobre a influência de AINEs sobre a taxa de ovulação em éguas. Devido a utilização intensa de AINEs na rotina da clínica de equinos e a possibilidade de interferência na ovulação das reprodutoras, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos do tratamento com fenilbutazona e meloxicam, em doses terapêuticas, no desenvolvimento de folículos pré-ovulatórios em éguas.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 11 éguas híbridas, da raça Mangalarga Marchador, com idade entre 3 e 12 anos, com peso corporal variando entre 310 a 450 kg e escore de condição corporal entre 4 e 6, segundo a escala de HENNEKE et al. (1983), onde 1 é considerado extremamente magro e 9, extremamente gordo (ANEXO). O estudo foi realizado na estação reprodutiva de setembro a dezembro de 2012. As éguas foram mantidas a pasto, em propriedade situada no município de Alegre, ES, sob as mesmas condições de manejo, com pastagem mista de gramínea Kikuiu (*Pennisetum clandestinum*) e Batatais (*Paspalum notatum*), sob iluminação natural, recebendo suplementação com ração comercial peletizada para equinos com 13% de proteína bruta (1,0 Kg/100Kg PV/dia), sal mineral formulado para a espécie em ingestão forçada (50g/animal) e água *ad libitum*. Os animais permaneceram neste regime de tratamento durante todo o período experimental.

3.4.2 EXAMES GINECOLÓGICOS E ULTRASSONOGRÁFICOS

Os procedimentos realizados foram aprovados de acordo com as diretrizes da Comissão de Ética para o Uso de Animais da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUA/UFES), protocolo 102/2011.

As éguas foram submetidas a exames ginecológicos e ultrassonográficos a cada 24 horas no diestro e início do estro, e a cada 12 horas durante o período pré-ovulatório de cada ciclo estral (folículo de 32 mm).

A palpação transretal foi realizada para a avaliação do sistema reprodutivo avaliando tamanho, forma e consistência uterina, presença de conteúdo no lúmen uterino, estruturas ovarianas e presença de alterações.

Para a realização dos exames ultrassonográficos dos órgãos reprodutivos foi utilizado um aparelho de ultrassonografia modelo *Sonosite Titan®* equipado com um transdutor linear transretal de 7,5 MHz.

Determinou-se o diâmetro de cada folículo diariamente considerando a média da máxima área transversal entre a altura e a largura, realizando duas mensurações

perpendiculares por folículo, a partir de uma imagem congelada no monitor do aparelho de ultrassonografia.

O grau de edema endometrial foi determinado diariamente por meio de cortes ultrassonográficos transversais dos cornos uterinos e longitudinais do corpo do útero. O grau de edema foi determinado utilizando-se um sistema de escore de um a quatro (mínimo e máximo) de acordo com a intensidade do edema das pregas endometriais, conforme preconizado por GINTHER (1995).

A ovulação foi detectada pela ausência do folículo pré-ovulatório identificado no exame ultrassonográfico anterior e confirmada pela formação posterior do corpo hemorrágico no mesmo ovário.

A formação do folículo hemorrágico anovulatório foi identificado pelo exame ultrassonográfico como uma imagem de pontos hiperecóticos flutuantes no interior do antro folicular e ausência da ovulação. A luteinização da camada granulosa foi identificada pelo espessamento e aumento da ecogenicidade da parede folicular.

O ponto máximo de hemorragia folicular foi determinado pela maior presença de pontos hiperecóticos antes da formação de coágulos no interior do folículo.

3.4.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O protocolo experimental seguiu um esquema de monitoração de todas as éguas durante três ciclos estrais consecutivos. Todos os animais, nos três ciclos, receberam uma dose de 1mg de acetato de deslorelina (análogo sintético de GnRH) quando detectado um folículo de 32mm e edema endometrial grau dois.

No primeiro ciclo (Ciclo Controle), os animais não foram tratados com anti-inflamatórios, receberam apenas a dose de deslorelina e foram monitorados por palpação transretal e ultrassonografia. No segundo ciclo (Ciclo Fenilbutazona) cada égua recebeu, além da dose de deslorelina, uma dose diária de fenilbutazona¹ (4,4mg/kg), iniciando no dia em que a égua apresentou um folículo de 32mm e edema endometrial grau dois.

De forma semelhante, no terceiro ciclo (Ciclo Meloxicam), cada égua recebeu, além da dose de deslorelina, uma dose diária de meloxicam² (0,6 mg/kg), iniciando no dia em que a égua apresentou um folículo de 32mm e edema endometrial grau dois. As aplicações de fenilbutazona e meloxicam continuaram até a ocorrência da

ovulação ou hemorragia folicular com quantidade moderada de pontos hiperecóticos no interior do folículo, detectados pelo exame ultrassonográfico.

As coletas de dados foram registradas de acordo com o tempo, em horas, que os eventos aconteciam, em relação ao momento da indução com a deslorelina, a saber: M0 (momento da indução), M24 (após 24 horas), M48 (após 48 horas), M72 (após 72 horas) e M96 (após 96 horas).

O número de ovulações entre o ciclo controle e os ciclos de tratamento foi comparado pelo teste exato de Fisher ao nível de 1% de significância.

Para análise do tamanho do folículo nos diversos momentos e tempo de ovulação ou formação do folículo hemorrágico foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ao nível de 1% e 5% de significância, respectivamente.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mediante análise dos dados foi possível observar que todas as éguas pertencentes ao grupo Controle (n=11) ovularam entre 36 e 48 horas após o tratamento com acetato de deslorelina (Figura 2).

A dose de deslorelina utilizada nesse estudo (1mg) mostrou ser eficaz em ocasionar a ovulação em 100% das éguas durante a execução do ciclo controle. Esse resultado corrobora com os obtidos por Lindholm et al. (2010), que obteve sucesso na indução da ovulação em éguas no intervalo de 36 a 48 horas após a indução.

Entretanto, durante o ciclo de tratamento com Meloxicam, 10 das 11 éguas tratadas, não ovularam. No ciclo Fenilbutazona (n=11), nove animais falharam na ovulação. Cuervo-Arango e Domingo-Ortiz (2011), também notaram diminuição significativa no número de ovulações nos ciclos tratados com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Esses autores observaram falha na ovulação em cinco das seis éguas tratadas com flunixin meglumine. Sugere-se que esse fato ocorra devido à inibição da produção folicular das prostaglandinas $F_{2\alpha}$ e E_2 , relacionadas com o aumento do fluxo sanguíneo para o folículo, aumento da pressão intrafolicular, ruptura da parede do folículo e consequente expulsão do oócito (POYSER, 1981; SHELTON, 1990; SIROIS; DORE, 1997; GINTHER, 2009).

Os animais que não ovularam, em ambos os ciclos tratados com anti-inflamatórios, desenvolveram hemorragia intrafolicular, apresentando perda da aparência anecóica do conteúdo e preenchimento por pontos hiperecóticos flutuantes no líquido folicular (Figura 3). Essas estruturas evoluíram para um conteúdo organizado por meio de formação de linhas hiperecóticas (coágulos de fibrina), até luteinização do conteúdo e da parede folicular, denominados folículos anovulatórios luteinizados (FAL), como representado na figura 4.

Quando ocorre hemorragia intrafollicular e falha na ovulação, a estrutura resultante deste processo recebe a denominação de folículo hemorrágico (GINTHER E PIERSON, 1984b), folículos hemorrágicos anovulatórios (CARNELAVE et al., 1989), e folículos anovulatórios persistentes (McCUE; SQUIRES, 2002).

A aparência ultrassonográfica dos FAL foi determinada como estruturas ecóicas trabeculadas, formadas por uma rede de fibrina, semelhante a uma teia de

aranha (Figura 4a e 4b) ou como estruturas ecóicas sólidas, com ou sem uma cavidade central (Figura 4c e 4d). Estes achados ultrassonográficos diferiram dos observados após a ovulação normal e formação precoce do corpo hemorrágico (Figura 4).

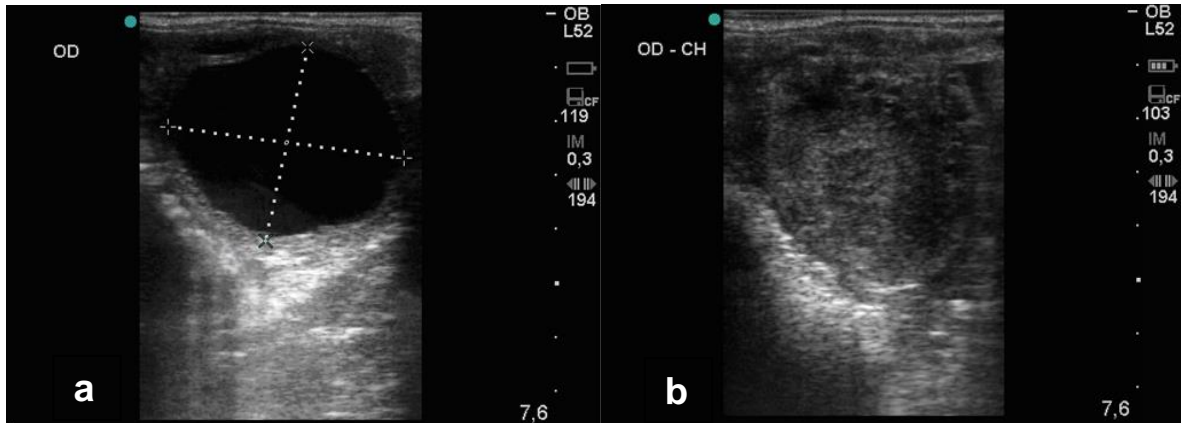


Figura 2 – Imagens ultrassonográficas do folículo pré-ovulatório durante o processo normal de ovulação e formação inicial do corpo hemorrágico em uma égua do ciclo controle após indução com deslorelina (hora 0). a) Após 36 horas o folículo adquire um formato piriforme e há um espessamento da camada granulosa. b) Após 48 horas há aumento de ecogenicidade do conteúdo e início do desenvolvimento do corpo hemorrágico.

Durante a realização do exame ultrassonográfico, foi possível observar que 12 horas antes da primeira evidência de coagulação do conteúdo (Figura 3), houve intensa hemorragia, mas as manchas ecóicas ainda se moviam livremente.

Notou-se que o desenvolvimento de FAL foi significativamente maior ($p < 0,01$) nos ciclos Meloxicam 91% (10/11) e Fenilbutazona 82% (9/11), quando comparado com os animais pertencentes ao ciclo Controle onde nenhuma égua desenvolveu folículos hemorrágicos (0%), como representado na tabela 1 e figura 5.

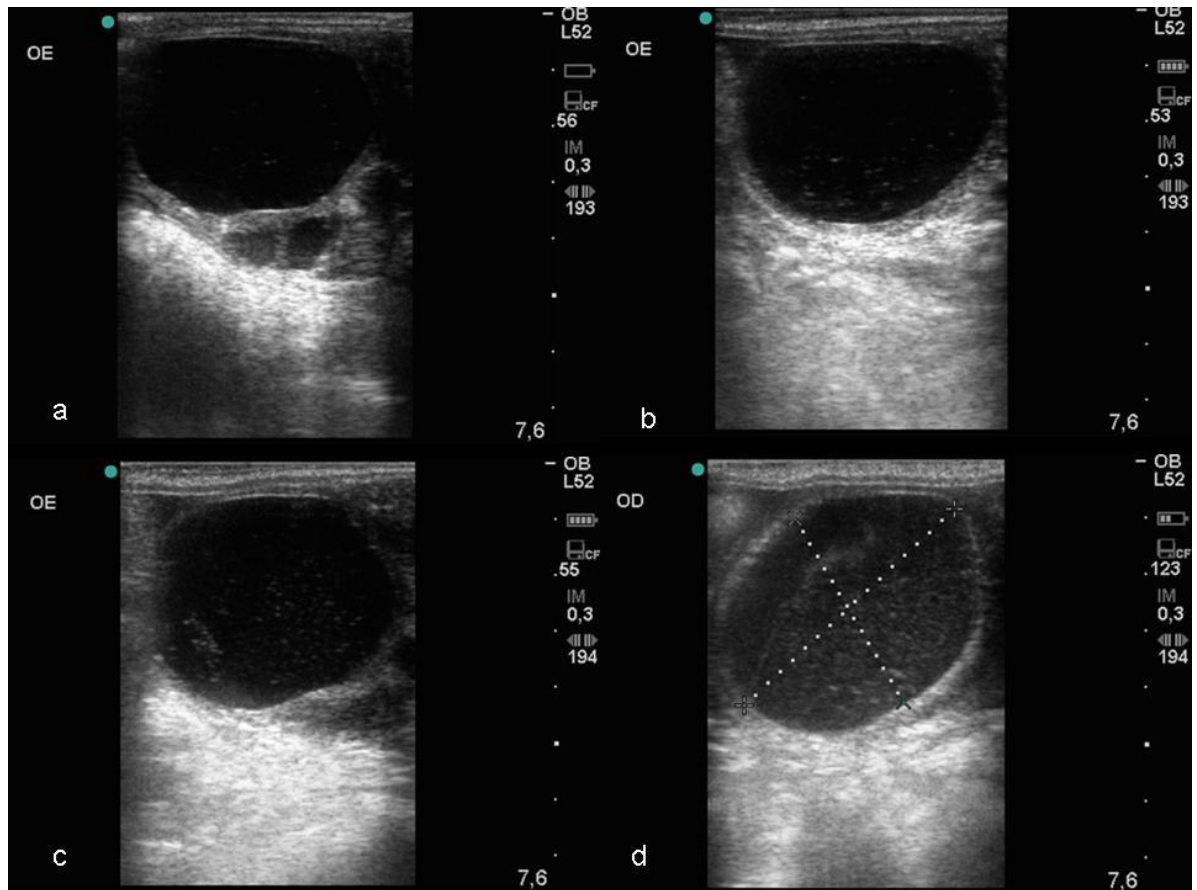


Figura 3 – Imagens ultrassonográficas de folículos anovulatórios luteinizados de éguas tratadas com AINEs. Hora 0 definida como o momento da indução com deslorelina: a) após 48 horas, início da hemorragia folicular; b) após 72 horas; c) após 96 horas; d) após 120 horas, hemorragia intensa, observar grande quantidade de partículas ecogênicas no antro folicular.

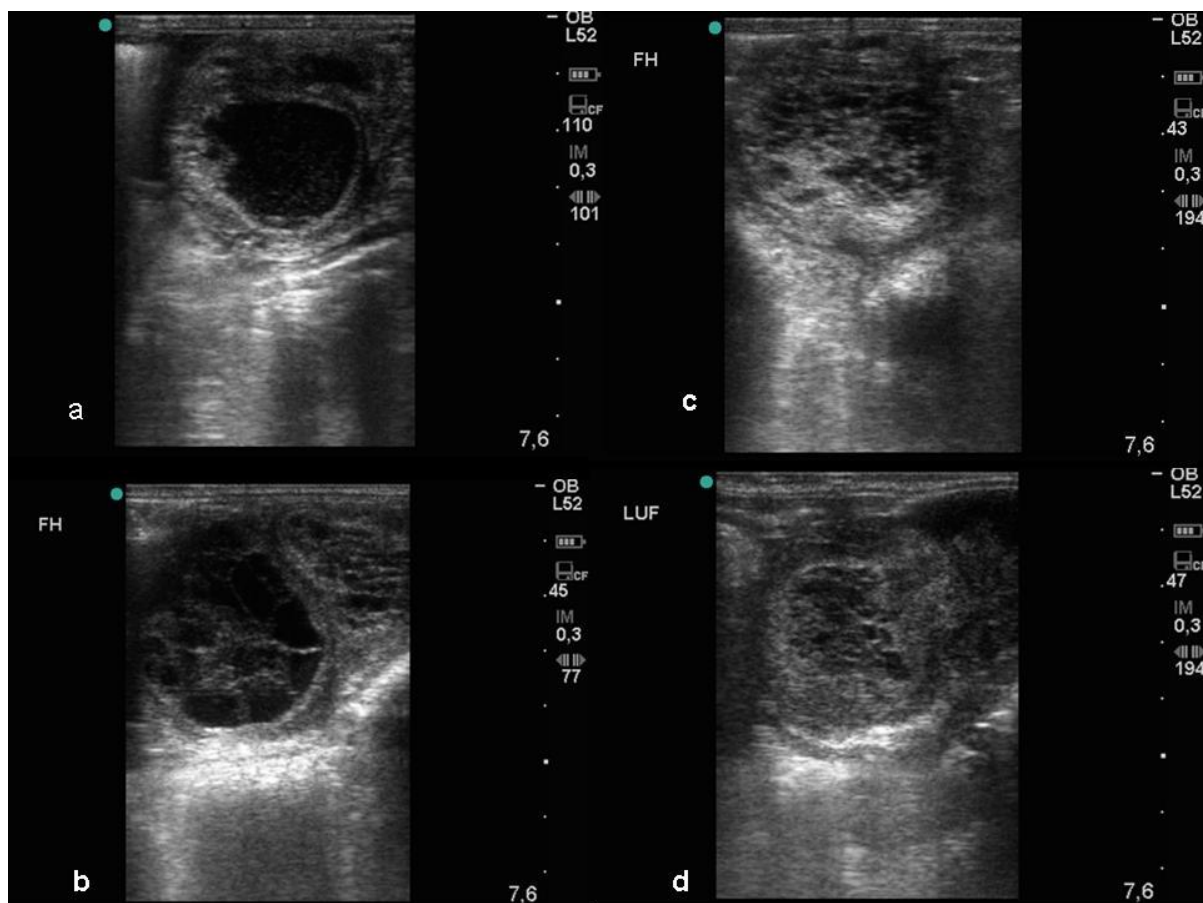


Figura 4 - Imagens ultrassonográficas de duas éguas pertencentes aos ciclos de tratamento em dois momentos diferentes após o tratamento deslorelina (dia 0). a) Dia 5: primeira evidência de coagulação do conteúdo, 12 horas antes houve intensa hemorragia, mas as manchas ecóicas ainda estavam se movendo livremente; b) a mesma égua da imagem “a” no dia 10 com conteúdo trabeculado mostrando a rede de filamentos de fibrina; c) Dia 6: folículo anovulatório luteinizado (FAL) com aspecto mais compactado; d) a mesma égua da imagem “c” no dia 12 apresentando FAL compactado e com diâmetro menor.

Tabela 1- Número de ovulações e percentual de folículos hemorrágicos entre os ciclos Controle, Meloxicam e Fenilbutazona.

Ciclos	Número Ovulações	% Folículo Hemorrágico
Controle	11	0 ^a
Meloxicam	1	91 ^b
Fenilbutazona	2	82 ^b

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste Exato de Fisher ($p \leq 0,01$).

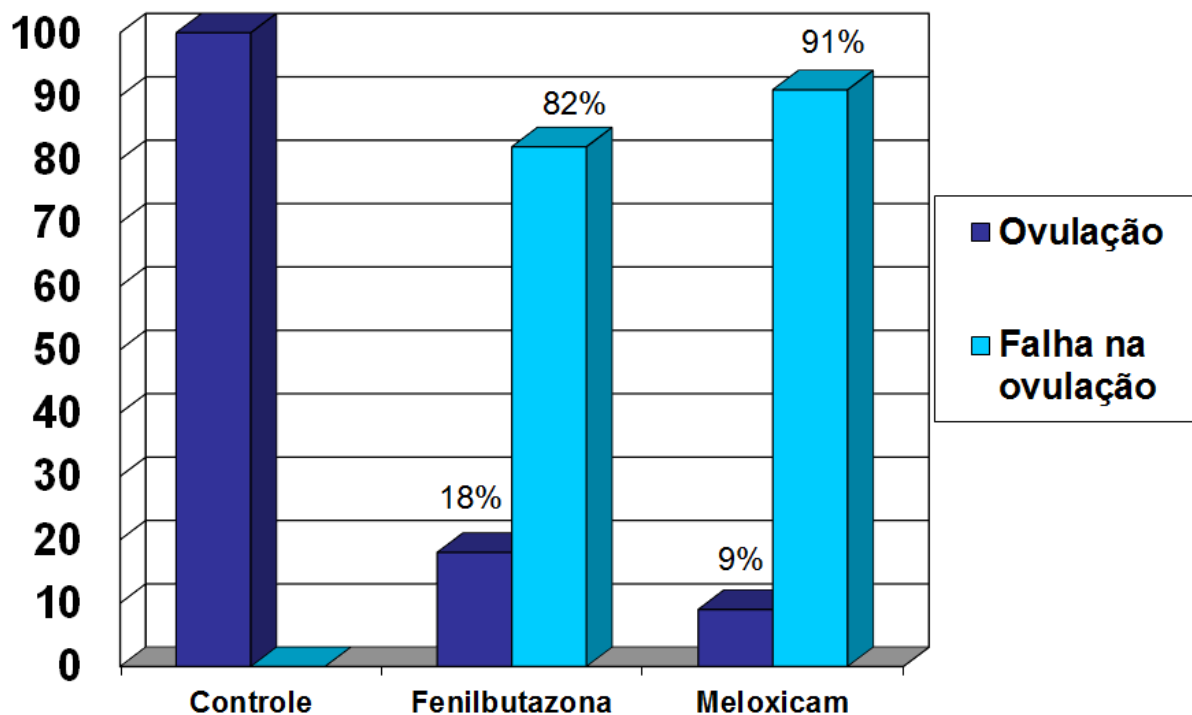


Figura 5 - Representação gráfica do percentual de ovulações em éguas pertencentes aos ciclos Controle, Fenilbutazona e Meloxicam.

O tamanho do folículo no momento da indução à ovulação com o acetato de deslorelina (M0) e nos tratamentos subsequentes com os anti-inflamatórios (M24, M48, M72 e M96) não diferiu entre os grupos ($p>0,01$). Não houve diferença no tamanho dos folículos quando comparou-se com o momento subsequente no mesmo grupo ($p>0,01$), como demonstrado na tabela 2.

Os resultados demonstram que não houve influência de AINEs sobre a taxa de crescimento folicular. O folículo dominante destaca-se dos demais cerca de seis dias antes da ovulação, crescendo cerca de 2,5 mm (PIERSON, 1993) A 2,7 mm (SAMPER; PYCOCK, 2007) por dia, até que ocorra a ovulação. A taxa de crescimento diário encontrada neste estudo foi de 2,75 mm por dia, semelhante à descrita pelos autores.

Tabela 2. Comparação das medianas (mm) \pm desvio interquartilico do tamanho folicular entre o ciclo Controle e os ciclos tratados com Meloxicam e Fenilbutazona nos diferentes momentos estudados em éguas Mangalarga Marchador.

Grupo	Tempo				
	0h	24h	48h	72h	96h
Controle	33 \pm 1,0	35 \pm 1,5	-	-	-
Meloxicam	33 \pm 0,5	37 \pm 2,5	39 \pm 2,5	42 \pm 1,7	48 \pm 0,5
Fenilbutazona	32 \pm 1,0	35 \pm 1,0	36 \pm 3,0	38 \pm 2,7	42 \pm 0,7

Observou-se ainda, aumento significativo do tamanho folicular entre os tempos 0 e 48, 0 e 72, e 0 e 96 horas no ciclo tratado com Fenilbutazona . No ciclo Meloxicam notou-se diferença significativa no tamanho folicular entre os tempos 0 e 48, e 0 e 72, 0 e 96, e 24 e 96 horas ($p < 0,01$). Quando comparamos o tamanho dos folículos nesses tempos de mensuração, verifica-se diferença, mostrando o crescimento normal dos folículos pré-ovulatórios, como demonstrado por Pierson (1993), até a formação do folículo hemorrágico.

Não houve diferença significativa no tamanho do folículo no momento da ovulação ou início da hemorragia folicular entre os grupos ($p > 0,01$). O tempo médio para a ovulação ou para a primeira observação da hemorragia folicular diferiu entre o grupo Controle em relação aos grupos Meloxicam e Fenilbutazona ($p < 0,05$). Tal fato pode ser explicado pela falha na ovulação provocada pelo tratamento com AINEs nos ciclos Fenilbutazona e Meloxicam, que ultrapassaram o intervalo de 36 a 48 horas após a indução. Enquanto no ciclo controle, ocorreu a evacuação do conteúdo folicular com a ovulação ocasionando a diminuição no tamanho. O tempo para a ovulação ou início da hemorragia folicular encontrado nesse estudo, corrobora com o tempo observado por Cuervo-Arango e Domingos-Ortiz (2011). No entanto, esses autores administraram altas doses de Flunixin Meglumine (2,2mg/Kg), duas vezes ao dia. Embora, no presente estudo, os animais tenham sido tratados com doses terapêuticas dos fármacos, também foi possível observar aumento na duração da fase folicular do ciclo das éguas.

Houve diferença significativa ($p < 0,01$) no tamanho do corpo lúteo presente nos animais pertencentes ao ciclo Controle em relação ao folículo anovulatório luteinizado formado nos ciclos Fenilbutazona e Meloxicam. Enquanto a mediana \pm desvio interquartilico do corpo lúteo foi 32 \pm 1,5 , o tamanho dos FAL no ciclo

Fenilbutazona foi 56 ± 4 e no ciclo Meloxicam foi $52,5 \pm 2$. No entanto, não houve diferença no tempo médio para a ovulação ou início da hemorragia folicular quando comparamos somente os ciclos Fenilbutazona e Meloxicam ($p < 0,05$), conforme apresentado na figura 6.

Esses resultados são semelhantes aos observados por Cuervo-Arango e Domingo-Ortiz (2011) que também observaram um tamanho menor do corpo lúteo quando comparado com o tamanho do FAL formado nas éguas tratadas com flunixin meglumine. Ainda no mesmo estudo, o tempo para ovulação ou formação do folículo hemorrágico não diferiu. Entretanto os autores utilizaram duas aplicações diárias de AINEs, enquanto que neste estudo foi preconizado a utilização de uma aplicação diária dos AINEs. Esse fato pode ser explicado pela inibição inespecífica tanto da cicloxigenase-1 quanto da cicloxigenase 2 pelo flunixin meglumine, além de uma meia-vida curta, de aproximadamente 3,5 horas no equino. Daí sugere-se a necessidade de altas doses para que ocorra hemorragia intrafolicular.

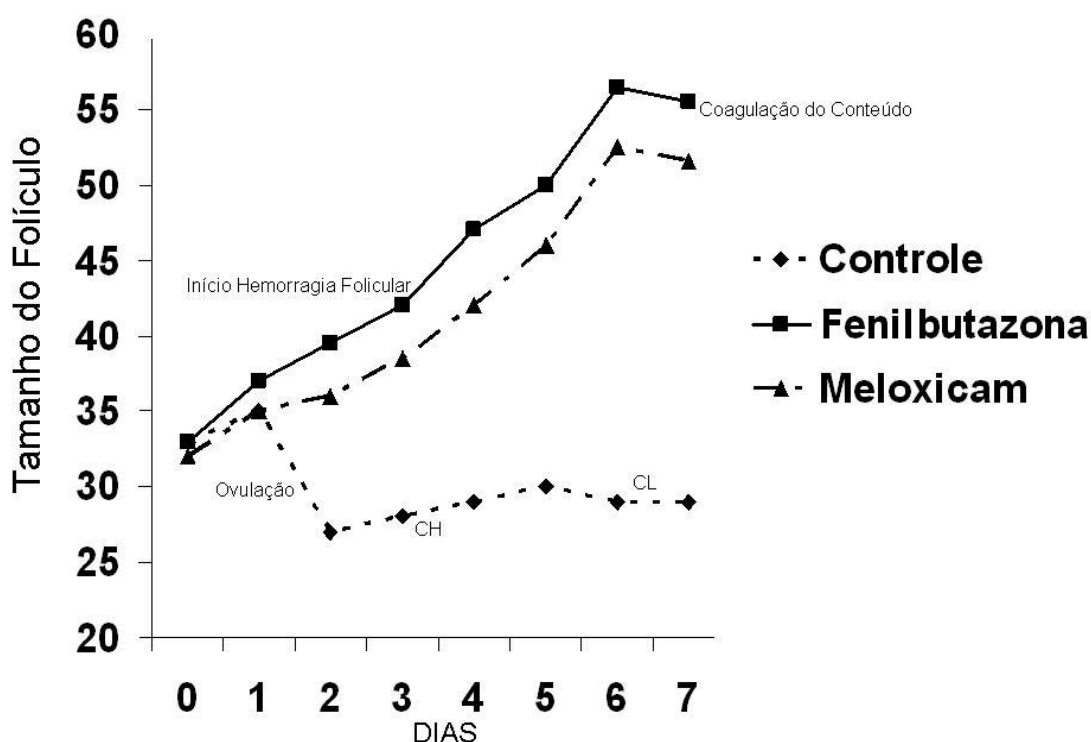


Figura 6 - Mediana do tamanho dos folículos e folículos anovulatórios luteinizados das éguas tratadas com AINEs, e folículos e corpos lúteos das éguas do ciclo controle. O dia 0 indica o momento da indução com deslorelina. CH: corpo hemorrágico; CL: corpo lúteo.

3.6 CONCLUSÕES

O tratamento com fenilbutazona e meloxicam, em doses terapêuticas, induz a hemorragia intrafolicular e luteinização de folículos anovulatórios.

Os diferentes tratamentos não influenciam na taxa diária de crescimento folicular.

O tamanho dos folículos hemorrágicos anovulatórios nos ciclos de tratamento com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são maiores em relação aos corpos lúteos formados após a ovulação no ciclo controle.

O tratamento com AINEs prolonga a fase folicular do ciclo estral em éguas no período pré-ovulatório.

3.7 REFERÊNCIAS

CARNEVALE E.M.; SQUIRES E.L.; MCKINNON A.O.; HARRISON L.A. Effect of human chorionic gonadotropin on time to ovulation and luteal function in transitional mares. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 9, p. 27-29, 1989.

CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J.R. The effect of hormone treatments (hCG and cloprostenol) and season on the incidence of hemorrhagic anovulatory follicles in the mare: A field study. **Theriogenology**. v. 72. p. 1262-1267. 2009.

CUERVO-ARANGO, J.; DOMINGO-ORTIZ, R. Systemic treatment with high dose of flunixin-meglumine is able to block ovulation in mares by inducing hemorrhage and luteinisation of follicles. **Theriogenology**. v. 75, p. 707–714, 2011.

GINTHER O.J.; PIERSON RA. Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare: ovaries. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 4, p. 11-16. 1984b.

GINTHER, O.J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: horses. Book 2**. Wiscosin: Equiservices, 1995.

GINTHER OJ, BEG MA, GASTAL EL, GASTAL MO, COOPER, D.A. Treatment with human chorionic gonadotropin (hCG) for ovulation induction is associated with an immediate 17 β -estradiol decrease and a more rapid LH increase in mares. **Animal Reproduction Science**. v. 114, p. 311–317, 2009.

HENEKEE, D.R.; POTTER, G.D.; KREIDER, J.L.; YEATS, B.F. Relationship between condition score, physical measurements e body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**. v. 15, p. 371-372, 1983.

LINDHOLM, A.R.G.; BLOEMEN, E.H.G.; BROOKS, R.M.; FERRIS, R.A.; McCUE, P.M. Comparison of deslorelin and buserelin in mares: LH response and induction of ovulation. **Animal Reproduction Science**. v. 34, p. 568-570, 2010.

McCUE P.M.; SQUIRES E.L. Persistent anovulatory follicles in the mare. **Theriogenology**. v. 58, p. 541-543, 2002.

McCUE, P.M.; MAGEE, C.; GEE, E.K. Comparison of compounded deslorelin and hCG for induction of ovulation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 27, p. 58–61, 2007.

MOSES, V.S.; BERTONE, A.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 18, n. 1, p.21-37, 2002.

PALMER, E. Introduction of ovulation. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Malvern: Lea & Febiger. p. 344-347, 1993.

PIERSON, R. A. Folliculogenesis and ovulation. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine reproduction**. Malvern: Lea & Febiger. p. 161-171, 1993.

POYSER, N.L. **Prostaglandins in Reproduction**. Research Studies Press, Chichester, 1981.

SAMPER, J.C. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. **AAEP PROCEEDINGS**. v. 43, p. 189-191, 1997.

SHELTON, K.; PARKINSON, T.J.; HUNTER, M.G. Prostaglandin E-2 as a potentialluteotrophic agent during early pregnancy in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 90, p. 11-17, 1990.

SIROIS J.; DORE M. The late induction of prostaglandin G/H synthase-2 in equine preovulatory follicles supports its role as a determinant of the ovulatory process. **Endocrinology**. v. 138, p. 4427–4434, 1997.

4 CONSIDERACOES FINAIS

O emprego de anti-inflamatórios é amplamente utilizado na clinica de equinos. Contudo há o uso indiscriminado destes fármacos por parte dos proprietários e/ou funcionários e treinadores. Deve-se atentar para o uso racional de AINEs em éguas durante a estação de monta.

5 REFERENCIAS GERAIS

ADAMS, H.R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

ALLEN, W.R.; COOPER, M.J. Prostaglandins. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Filadélfia: Willians & Wilkins,1993. p. 456-472.

ANDRADE MOURA, J.C.; MERKT, H. **A ultrassonografia na reprodução equina**. 2ª ed. Salvador: Editora Universitária Americana, 1996.

BERETTA, C.; CARAVAGLIA, G.; CAVALLI, M. COX-1 and COX-2 inhibition in horse blood by phenylbutazone, flunixin, carprofen and neloxicam: in vitro analysis. **Pharmacological Research**. v. 52, n. 4, p. 302-306, 2005.

BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P.; RIGBY, S.L. **Manual of equine reproduction**. 2ª ed. St. Louis: Missouri. 2003.

CARNEVALE E.M.; SQUIRES E.L.; MCKINNON A.O.; HARRISON L.A. Effect of human chorionic gonadotropin on time to ovulation and luteal function in transitional mares. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 9, p. 27-29, 1989.

COOK, V.L.; MEYER, C.T.; CAMPBELL, N.B.; BLIKSLAGER, A.T. Effect of firocoxib or flunixin meglumine on recovery of ischemic-injured equine jejunum. **American Journal of Veterinary Research**. v. 70, n. 8, p. 992-1000, 2009.

CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J.R. The effect of hormone treatments (hCG and cloprostenol) and season on the incidence of hemorrhagic anovulatory follicles in the mare: A field study. **Theriogenology**. v. 72. p. 1262-1267. 2009.

CUERVO-ARANGO, J.; DOMINGO-ORTIZ, R. Systemic treatment with high dose of flunixin-meglumine is able to block ovulation in mares by inducing hemorrhage and luteinisation of follicles. **Theriogenology**. v. 75, p. 707–714, 2011.

EVANS, T. J.; CONSTANTINESCU G.M.; GANJAM V.K. Clinical Reproductive Anatomy and Physiology of the Mare. In: Youngquist R.S.; Threlfall W.R. **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. 2^a ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2007, p. 47-67.

FARIA, D.R.; GRADELA, A. Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.34, n.2, p.114-122, 2010.

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; GINTHER, O.J. The suitability of echotexture characteristics of the follicular wall for identifying the optimal breeding day in mares. **Theriogenology**. v. 50, p. 1025-1038, 1998

GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L.; SPINILLI, V.; GINTHER, O.J. Relationships between body condition and follicle development in mares. **Animal Reproduction**. v.1, n.1, p.115-121, 2004.

GASTAL, E.L. Recent advances and new concepts on follicle and endocrine dynamics during the equine periovulatory period. **Animal Reproduction**. v.6, n.1, p.144-158, 2009.

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

GINTHER O.J.; PIERSON RA. Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare: ovaries. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 4, p. 11-16. 1984b.

GINTHER, O.P. In: GINTHER, O.P. **Ultrasound imaging and reproductive events in the mare**. 1^a ed. Madison: Equiservices, 1986.

GHINTER, O.J. **Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects**. 2^a ed. Equiservices Publishing, 1992.

GINTHER, O.J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: horses. Book 2.** Wiscosin: Equiservices, 1995.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction.** v.1 n.1, p.31-44, 2004.

GINTHER OJ, BEG MA, GASTAL EL, GASTAL MO, COOPER, D.A. Treatment with human chorionic gonadotropin (hCG) for ovulation induction is associated with an immediate 17 β -estradiol decrease and a more rapid LH increase in mares. **Animal Reproduction of Science.** v. 114, p. 311–317, 2009.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal.** 7^a ed. São Paulo: Manole, 2004.

HILARIO, M.O.E.; TERRERI, M.T.; LEN, C.A. Anti-inflamatórios não-hormonais: inibidores da cicloxigenase 2. **Jornal de Pediatria.** v. 82, p. 206-212, 2006.

HENEKEE, D.R.; POTTER, G.D.; KREIDER, J.L.; YEATS, B.F. Relationship between condition score, physical measurements e body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal.** v. 15, p. 371-372, 1983.

KÄNH, W. **Atlas und lehrbuch der ultraschalldiagnostik.** 1^a ed. Hannover: SchulterscheVerlage, 1991.

KIMURA, J.; HIRANO, Y.; TAKEMOTO, S.; NAMBO, Y.; ISHINAZAKA, T.; MISHIMA, T.; TSUMAGAR, S.; YOKOTA, H. Three-dimensional reconstruction of the equine ovary. **Anatomy Histology and Embryology.** v. 34, p. 48–51, 2005.

KOBLISCHKE, P.; BUDIK, S.; MÜLLER, J.; AURICH, C. Practical experience with the treatment of recipient mares with a nonsteroidal anti-inflammatory drug in an equine embryo transfer programme. **Reproduction in Domestic Animals.** v. 44 p. 823-229, 2009.

LINDHOLM, A.R.G.; BLOEMEN, E.H.G.; BROOKS, R.M.; FERRIS, R.A.; McCUE, P.M. Comparison of deslorelin and buserelin in mares: LH response and induction of ovulation. **Animal Reproduction Science**. p. 568-570, 2010.

LITTLE, D.; BROWN, S.A.; CAMPBELL, N.B.; MOSER, A.J.; DAVIS, J.L.; BLIKSLAGER. Effects of the cyclooxygenase inhibitor meloxicam on recovery of ischemia-injured equine jejunum. **American Journal of Veterinary Research**. v. 68, n. 6, p. 614-624, 2007.

McCUE P.M.; SQUIRES E.L. Persistent anovulatory follicles in the mare. **Theriogenology**. v. 58, p. 541-543, 2002.

McCUE, P.M.; MAGEE, C.; GEE, E.K. Comparison of compounded deslorelin and hCG for induction of ovulation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 27, p. 58–61, 2007.

MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine reproduction and external perineal conformation**. 1^a ed. Philadelphia: Lea & Febinger, 1992.

MCKINNON,A.O.; VOSS, J.L. Breeding the problem mare. In:_____. **Equine Reproduction**. 2^a ed. Malvern: Lea & Febiger, 1993. p. 368-378.

MOREL M. D. Control of reproduction. In: DAVIES, M.M. **Breeding Horses**. 1^a ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltda, 2005. p. 37-55.

MOSES, V.S.; BERTONE, A.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 18, n. 1, p.21-37, 2002.

NEWCOMBE, J.R. The follicle: Practical aspects of follicle control. In: SAMPER, J.C.; PYCOCK, J.F.; McKINNON, A.O. **Current therapy in equine reproduction**. 1^a ed. Missouri: Saunders, 2007, p.17-21.

PALMER, E. Introduction of ovulation. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. 2^a ed. Malvern: Lea & Febiger, 1993, p. 344-347.

PELEHACH LM, SHARP DC, PORTER MB, DIXON LN, MCDOWELL KJ. Role of oestrogen and progesterone in the control of uterine edema in pony mares. **Biology of Reproduction Supplement**. v. 62, p. 386-392, 2000.

PIERSON, R. A. Folliculogenesis and ovulation. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine reproduction**. 2^a ed. Malvern: Lea & Febiger, 1993. p. 161-171.

POYSER, N.L. **Prostaglandins in Reproduction**. 1^a ed. Research Studies Press, Chichester, 1981.

PRESTES, N.C. Sistema Reprodutor: Semiologia do Sistema Reprodutor Feminino. In: FEITOSA, F.F.L. **Semiologia veterinária a arte do diagnóstico**. 1^a ed. São Paulo: ROCA, 2008. p. 307-320.

PYCOCK, J.F.; DIELEMAN, S.; DRIFJHOUT, P.; VAN DER BRURG, Y.; OEI, C.; VAN DER WEIJDEN, G.C. Correlation of plasma concentrations of progesterone and oestradiol with ultra-sound characteristics of the uterus and duration of oestrous behavior in the cycling mare. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 30, p. 224-227, 1995.

ROMANO, M.A.; MUCCIOLO, R.G.; SILVA, A.E.D.F. Biologia reprodutiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 35, n. 1, p. 25-28, 1998.

SAMPER, J.C. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares, **AAEP Proceedings**. v. 43, p. 189-191, 1997.

SAMPER, J. C. **Equine breeding management and artificial insemination**. Editorial Saunders, 2000.

SAMPER, J.C.; PYCOCK, J.F. The normal uterus in estrus. In: SAMPER, J.C.; PYCOCK, J.F.; MCKINNON, A.O. **Current therapy in equine reproduction**. 1^a ed. Missouri: Saunders, 2007. p. 32-35.

SHELTON, K.; PARKINSON, T.J.; HUNTER, M.G. Prostaglandin E-2 as a potentialluteotrophic agent during early pregnancy in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 90, p. 11-17, 1990.

SIROIS J.; DORE M. The late induction of prostaglandin G/H synthase-2 in equine preovulatory follicles supports its role as a determinant of the ovulatory process. **Endocrinology**. v. 138, p. 4427–4434, 1997.

WOLF A.; GABALDI, S.H.; Acompanhamento ultrassonográfico em grandes animais. **Ciências Agrárias e da Saúde**. v. 2, p. 77-89, 2002.

ANEXO

Escala de avaliação do escore corporal segundo Henekee et al. (1983).

Condição	Pontuação	Descrição
Extremamente magro	1	Animal extremamente emaciado; saliências ósseas aparecendo, especialmente vértebras cervicais e lombares.
Muito magro	2	Animal emaciado; saliências ósseas ainda visíveis na paleta e pelve; vértebras cervicais discretamente visíveis.
Magro	3	Pescoço magro; junção acentuada do pescoço, cernelha e paleta; estrutura pélvica ainda acentuada.
Moderadamente magro	4	A espinha ainda aparece, mas as vértebras não são individualizadas; linha da costela ainda visível.
Moderado	5	Lombo relativamente achatado; costelas não visíveis, porém facilmente palpáveis.
Levemente gordo	6	Pescoço, paleta e cernelha com formas arredondadas; área do lombo pode ter leve depressão ao longo da espinha; base da cauda e costelas com consistência macia.
Moderadamente gordo	7	Gordura depositada ao longo da cernelha e pescoço; base da cauda macia; costelas cobertas por gordura; dobras sobre a espinha podem ser visíveis.
Gordo	8	Pescoço engrossado; acúmulo de gordura nas nádegas; dobras evidentes ao longo da espinha; difícil palpação das costelas.
Extremamente gordo	9	Pescoço, cernelha e paleta inchadas de gordura; dobras proeminentes nas costas