

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL

CAMPUS DE PATOS – PB

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**MONOGRAFIA**

**Uso da Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) na indução da ovulação  
de éguas no Estado da Paraíba**

Géssica Sizara Pereira de Oliveira

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL

CAMPUS DE PATOS – PB

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**MONOGRAFIA**

**Uso da Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) na indução da ovulação  
de éguas no Estado da Paraíba**

Géssica Sizara Pereira de Oliveira

Graduanda

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro

Orientador

Patos – PB

Outubro de 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

O48u Oliveira, Gêssica Sizara Pereira de  
Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) na indução da ovulação de éguas no estado da Paraíba / Gêssica Sizara Pereira de Oliveira. – Patos, 2014.  
34f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro”  
Referências.

1. Eqüino. 2. Reprodução. 3. Gonadotrofinas.  
I. Título.

CDU 636.082

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL

CAMPUS DE PATOS – PB

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Géssica Sizara Pereira de Oliveira

**Graduanda**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

**Aprovada em** ...../...../.....

**Média:** \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

\_\_\_\_\_

Nota: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro

Orientador

\_\_\_\_\_

Nota: \_\_\_\_\_

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Norma Lúcia de Souza Araújo

Examinador I

\_\_\_\_\_

Nota: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Jeferson Azevedo Neto

Examinador II

## DEDICATÓRIA

“À minha bonequinha de porcelana, Alícia, por ser fonte de estímulo e inspiração. Responsável por muitos sorrisos, por me fazer sempre ansiar tornar-me um ser humano melhor, e dá o meu melhor em tudo.”

## AGRADECIMENTOS

Ao responsável por todas as bênçãos, felicidades e conquistas em minha vida, **Deus**, que me deu força, coragem, fé e otimismo para prosseguir mesmo havendo tantos motivos e obstáculos que poderiam ter-me feito abdicar deste sonho.

À minha filha, **Alícia**, por ter o poder de me fazer esquecer os problemas e as tristezas, sempre proporcionando alegrias e carinhos. Por ser o maior motivo da minha felicidade e do meu desejo de tornar-me uma profissional bem sucedida.

À minha mãe, **Selma**, por ser um presente de Deus em minha vida, não medindo esforços para que esse sonho se tornasse realidade, se fazendo presente e prestativa em momentos cruciais dessa jornada.

Ao meu pai, **Gilson**, exemplo de homem e de pai, tanto para mim quanto para minha filha, por ser o responsável, mesmo que inconscientemente e involuntariamente, pela minha paixão pelos animais e minha escolha em seguir essa bela profissão.

À minha irmã, **Gislayne**, que compartilhou muitos momentos importantes comigo durante essa etapa, me apoiando sempre.

À minha sobrinha, **Ana Luísa**, por me ensinar o que é o amor de mãe mesmo antes de sê-la, por ser a companheira inseparável de Alicinha, proporcionando maravilhosos momentos de descontração.

Ao meu orientador, professor **Carlos Peña**, não só pela orientação no desenvolvimento deste trabalho, mas pela amizade, sempre se mostrando preocupado e presente. Por ser exemplo de profissional, competente e responsável.

Aos amigos de infância, **Ana Débora** (Debynha, prima), **Laís Azevedo** (Lalá), **Gigliato Guibson** (Gigi), **Emanuelle Medeiros** (Manú), pelo carinho, amizade sincera e companheirismo de longos anos. Por nunca se afastarem

mesmo estando distantes, e por saber que posso sempre contar com vocês, sendo a recíproca bastante verdadeira.

Aos amigos que fiz através da Medicina Veterinária e que pretendo carregar por toda a vida, **Jessyka Carvalho** (Titia), **Flaviana Moraes** (Flavi), **Valdeci Júnior** (Juninho, Satanás), **Hítalo Guedes** (Hitinho), **Filippo Diogo** (Pipo, cunhado), **José Wilson Júnior** (bebê), **Ivson Rodrigues** (Zequinha), **Thalles Torres** (Tatá), **Jaciana Leal** (Jacy), por todos os momentos vividos juntos, sejam de alegria ou desespero, sejam nas farras ou nas provas, sejam curando uma ressaca ou um amor, sempre procurando nos ajudar mutuamente.

À minha mais que amiga, **Jessyka Carvalho**, com quem eu sempre pude e posso contar para qualquer coisa, por estar sempre disponível e atenciosa até mesmo com os meus mais loucos devaneios, minhas crises de carência, e minhas bobagens, desde o primeiro período do curso. Por ter me ajudado a criar forças nos momentos em que eu achei que era incapaz, e por me dar segurança de sua sincera e eterna amizade.

À minha amiga e companheira de apartamento, **Flaviana Moraes**, minha gêmea, confundida como sendo minha irmã em todos os lugares em que frequentamos. Por me aguentar diariamente, me ajudando a cuidar de Alícia, sendo ouvinte das minhas lamentações intermináveis e das minhas alegrias incontroláveis.

Ao meu amigo, **Valdeci Júnior**, conselheiro e confidente, por me mostrar a realidade dos fatos, quando eu muitas vezes não quis enxergar. Por compartilhar momentos e histórias, e sempre ter a frase pronta para dizer: “eu te avisei!”. Estou esperando os 40% do seu salário.

A toda a turma de formandos 2014.2, pelos cinco anos mais lindos e intensos já vividos por mim. Por ser a melhor turma de todos os tempos, empenhada e compromissada, por fazer história no curso de Medicina Veterinária da UFCG.

Ao médico veterinário, **Paulo de Siqueira Moraes**, profissional da mais alta competência, credibilidade e responsabilidade, por todos os conhecimentos repassados, a quem eu devo muito do que sei.

À professora, **Verônica Trindade**, pela ajuda e apoio no meu período gestante e de pós-parto, momento em que precisei bastante.

À todos os professores da unidade acadêmica de Medicina Veterinária do CSTR que contribuíram para minha formação profissional.

Aos funcionários do CSTR e do Hospital Veterinário, em especial a **Renato, Damião, Tereza, Gileno** (Seu Cuité), **Adriano**, "**Finha**", pelo carinho, cuidado, atenção e amizade.

Aos familiares que não foram aqui citados, mas que contribuíram de alguma forma, com palavras de incentivo e energias positivas direcionadas à realização deste sonho.

À todos muito obrigada!



## SUMÁRIO

**Lista de Figuras**

**Lista de Tabelas**

**Resumo**

**Abstract**

<b>1 Introdução</b> .....	13
<b>2 Revisão de Literatura</b> .....	15
2.1 Ciclo Estral.....	15
2.2 Oogênese e foliculogênese.....	17
2.3 Desenvolvimento folicular e ovulação.....	18
2.4 Uso do hCG na indução da ovulação.....	21
2.5 Gonadotrofina coriônica humana (hCG).....	23
2.6 Êxito da inseminação artificial usando sêmen refrigerado.....	24
<b>3 Material e métodos</b> .....	27
3.1 Animais experimentais.....	27
3.2 Local do experimento.....	27
3.3 Metodologia.....	27
3.4 Análise estatística.....	28
<b>4 Resultados e Discussão</b> .....	29
<b>5 Conclusão</b> .....	31
<b>Referências</b> .....	32

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Égua demonstrando sinais de cio (elevação da cauda).....	17
<b>Figura 2.</b> Estágios do desenvolvimento folicular.....	18
<b>Figura 3.</b> Endométrio de égua com edema de grau 4.....	22
<b>Figura 4.</b> Desenvolvimento folicular em uma égua.....	27
<b>Figura 5.</b> Folículo dominante em uma égua com 38.86 mm.....	27

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Distribuição de frequência do intervalo entre aplicação de hCG e a ocorrência da ovulação (horas).....29
- Tabela 2.** Fertilidade em éguas Quarto de Milha e Mangalarga após o uso de diferentes dosagens de hCG, inseminadas com sêmem refrigerado.....30
- Tabela 3.** Tamanho do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação após o uso de diferentes dosagens de hCG.....30

## RESUMO

**OLIVEIRA, GÉSSICA SIZARA PEREIRA DE. Uso do hCG na indução da ovulação de éguas.** Patos, UFCG. 2014. 27p. (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

Foram analisados dados referentes ao uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) na indução da ovulação em 40 éguas da raça Quarto de Milha e Mangalarga criadas em diversas regiões do estado da Paraíba. Foi testado o uso de 1500 e 2500 UI intramuscular, avaliando-se a indução da ovulação, a taxa de gestação, e o tempo de resposta indutora. As fêmeas foram divididas em 4 grupos com 10 fêmeas, assim distribuídas: G1 Quarto de Milha com 1500 UI, G2 Mangalarga com 1500 UI, G3 Quarto de Milha com 2500 UI e G4 Mangalarga com 2500 UI. O hCG foi usado quando foi diagnosticado um folículo dominante com 35mm e a inseminação artificial usando sêmen refrigerado a 5°C, realizada 24 horas após. Verificou-se que não houve diferença na taxa de gestação entre os grupos, entre as raças, assim como no tempo decorrido para indução da ovulação.

**Palavras-chave:** equino, reprodução, gonadotrofinas.

## ABSTRACT

**OLIVEIRA, GÉSSICA SIZARA PEREIRA DE. Use of hCG for induction of ovulation in mares.** Patos, UFCG. 2014. 27p. (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

Data on the use of Human Chorionic Gonadotropin (hCG) in inducing ovulation in 40 mares of Quarter Horse and Mangalarga created in various regions of the state of Paraíba were analyzed. The use of 1500 and 2500 IU intramuscularly was tested aimed evaluating the induction of ovulation, pregnancy rate, duration of response inducer. The females were divided into 4 groups of 10 females, as follows: G 1 Quarter Horse with 1500 IU, G2 1500 IU with Mangalarga , G3 Quarter Horse with 2500 IU and G4 2500 IU Mangalarga The hCG was used when a dominant follicle of 35mm was diagnosed. The artificial insemination with refrigerated semen 5°C was performed 24 hours following. It was found that there was no difference in pregnancy rates between groups, between races, as well as the elapsed time for ovulation induction.

**Key words:** equine, reproduction, gonadotropins.

## 1. Introdução

A biotecnologia aplicada à reprodução vem se aprimorando e difundindo-se cada vez mais, sendo um importante instrumento para o melhoramento genético. Principalmente no setor da equinocultura, onde houve um aumento significativo nos últimos anos na prestação de serviços; na comercialização e no número de criadores, sendo o Brasil o segundo no ranking de maior população de cavalos no mundo, a biotecnologia vem sendo largamente utilizada. De acordo com estudos recentes, esse setor é responsável por gerar aproximadamente 600 mil empregos diretos, e mais de 3 milhões indiretamente.

Para utilizar-se dessas biotecnologias torna-se necessário o conhecimento e manejo do ciclo estral equídeo, sua duração e suas fases, já que é de extrema importância mensurar o exato momento da ovulação, para melhor aproveitamento das técnicas ligadas à reprodução, como o momento ideal para inseminar a fêmea, por exemplo, considerando ainda que há variações individuais em cada égua, diferindo quanto à duração do período estral; momento da ovulação; ou diâmetro folicular.

Portanto, a indução da ovulação torna-se um instrumento primordial para obter-se êxito em programas de reprodução assistida, melhorando o manejo reprodutivo e sincronizando a ovulação, sendo possível reduzir o número de coberturas e inseminações por estro, diminuindo os custos e otimizando o material (sêmen) e o garanhão.

Com frequência agentes hormonais são administrados em períodos programados em égua e jumentas no estro, para induzir a ovulação, como é o caso da gonadotrofina coriônica humana (hCG).

O hCG é um hormônio secretado na placenta humana, onde estimula a função luteal e proporciona a manutenção da gravidez nas mulheres. No entanto, nas outras espécies, o hCG possui atividade semelhante ao hormônio luteinizante (LH), provocando a ruptura do folículo e a consequente expulsão do ovócito, podendo induzir a ovulação em até 48 horas após sua administração.

O presente trabalho objetiva comprovar a eficácia da gonadotrofina coriônica humana na indução da ovulação de éguas, definindo a dose eficaz, e verificando o tempo em que o hCG induzirá a ovulação após sua administração e as taxas de fertilidade subsequente no uso da inseminação artificial.

## 2. Revisão de Literatura

### 2.1 Ciclo estral

A expressão ciclo estral é usada para animais que possuem períodos limitados de receptividade sexual (estro), podendo este ser descrito em termos comportamentais (se o animal está sexualmente receptivo, indicando estro; ou não receptivo, indicando diestro) ou com relação à atividade das gônadas, se for possível diferenciar folículos (estro) e corpo lúteo (diestro), segundo Cunningham (1992). “Na égua, como é relativamente difícil identificar o corpo lúteo à palpação retal, é costume classificá-la quanto ao comportamento sexual, como no estro ou no diestro.” (CUNNINGHAM, 1992).

Segundo Moreira (2010), durante o ciclo estral há uma fase folicular (estro), onde a fêmea se prepara para receber o garanhão, com o aparelho genital encontrando-se capaz de aceitar e transportar o sêmen aos oviductos para fins de fertilização, sendo também o período no qual ocorre a ovulação; e uma fase lútea (diestro) onde o aparelho genital torna-se apto para receber e desenvolver um embrião, culminando com o fim do corpo lúteo e início da seguinte fase folicular.

“O ciclo ovulatório da égua tem duração média de 21 dias, consistindo de 14 dias de diestro (fase luteínica) e 7 dias de cio, período em que ela está sexualmente receptiva. [...] Na égua, a secreção ovulatória de LH é prolongada, apresenta aumento gradual dos níveis de LH ao longo do cio e atinge o pico no dia seguinte à ovulação. Não existe um aumento abrupto na secreção de LH antes da ovulação, como acontece, por exemplo, com a ovelha. A elevação do FSH ocorre aproximadamente a cada 10 dias de intervalo, no meio do cio e após a ovulação. Também existem períodos de secreção de FSH e LH surpreendentemente diferenciados. Por exemplo, no início do cio, o nível de FSH está baixo enquanto o de LH aumenta e, no meio do diestro, a concentração de FSH aumenta enquanto a de LH permanece baixa.” (HAFEZ e HAFEZ, 2004, pág.197).

De acordo com Hafez e Hafez (2004), a regularização do ciclo estral é realizada por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, sendo os hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas, e os esteroides secretados pelos ovários, os principais. “Durante o ciclo estral, hormônios envolvendo o eixo hipotálamo,



hipófise, ovário e útero se inter-relacionam e exercem papel fundamental na ciclicidade, determinando fases específicas do ciclo”. (MEIRA, 2008 in BARTOLI, 2009). O GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina) é muito influente nessa regularização, já que qualquer alteração em sua síntese, liberação ou degradação, afetam diretamente a liberação das gonadotrofinas. Além de ser responsável pelo estímulo na produção de LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante) (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Segundo Moreira (2010), o GnRH é produzido pelo hipotálamo, sendo liberado no sistema hipotalâmico-hipofisário, e responsável pela síntese e liberação das gonadotrofinas FSH e LH, a partir da glândula hipofisaria anterior. Com a maturação folicular, há liberação de estrógeno o que causa um feedback positivo na liberação de LH, ou seja, promove ainda mais liberação do hormônio luteinizante, na presença de baixas concentrações de progesterona circulante. O inverso ocorre quando os folículos encontram-se na fase de crescimento, já que há um feedback negativo na liberação de FSH, portanto, esta é inibida, com a liberação de estrógeno e inibina pelas folículos. Assim como a progesterona produzida pelo corpo lúteo também possui esse efeito de feedback negativo sob a liberação de LH.

Segundo Hafez e Hafez (2004), a duração do cio depende de cada espécie, ou ainda de uma fêmea para outra (dentro da mesma espécie), podendo variar ainda, assim como o momento da ovulação, sobre a influência de fatores internos e externos, como o fotoperíodo e a temperatura ambiental, por exemplo. Na égua é onde ocorre maior variabilidade, dentro dos animais domésticos, sendo seu padrão de secreção de LH (hormônio luteinizante) influenciado pelo fotoperíodo.

A égua possui ainda o que é chamado de cio do potro, que corresponde ao período de estro que ocorre de 6-8 dias após o parto. Há opiniões divergentes a respeito de se utilizar ou não este período para reprodução. Uma vantagem de se usufruir desse período é que não há perda de tempo, no entanto afirma-se que a taxa de fertilidade é menor, devido as alterações sofridas pelo útero após o parto (Moreira, 2010). Segundo este autor, a maioria das éguas após o cio do potro continuam ciclando normalmente, em intervalos de vinte e um dias, no entanto, ocorre em algumas um período de anestro, que

pode ser atribuído à lactação, voltando ao normal logo após o desmame do potro.

Durante o cio (estro) a égua está preparada para aceitar o garanhão, o trato genital prepara-se para receber e transportar os espermatozoides. O endométrio apresenta edema, e o útero torna-se mais contrátil. Com a secreção de progesterona, o edema é dissipado. (ALLEN et al., 2002 e PELEHACH et al., 2002 in SOUSA, 2006). A melhor forma de detectar o cio nas éguas é através da presença do garanhão, já que esta nessas circunstâncias apresenta comportamento bastante característico, como: elevação da cauda, adoção da posição de urinar por um longo tempo e sem evidência de esforço, exposição do clitóris (LEBLANC et al., 2003 in FERREIRA, 2009).



**Figura 1.** Égua demonstrando sinais de cio (elevação da cauda). PENA-ALFARO, 2013.

De acordo com Crowell-Davis (2007) in Ferreira (2010), no anestro mesmo não havendo atividade ovariana, a fêmea pode apresentar um comportamento de receptividade sexual, acredita-se que este fato deve-se a estimulação hormonal que ocorre fora do ovário, como o córtex adrenal que secreta androgênios, progestagênios, e estrogênios, por exemplo.

## **2.2 Oogênese e foliculogênese**

De acordo com Van Den Hurk; Bevers; Beckers (1997) in Sousa (2006), é no início do desenvolvimento fetal, por meio de mitoses, que as células primordiais se diferenciam em oogônias. A partir disso as oogônias se dividem por meiose, dando origem aos oócitos primários, que ficaram em estado de latência (GINTHER, 1990 in SOUSA, 2006).

A foliculogênese acontece paralelamente ao crescimento do oócito, com o desenvolvimento das camadas foliculares a partir de sucessivas divisões, formando as células da granulosa, esta formará a zona pelúcida (que se localiza internamente a granulosa, obtendo contato direto com o oócito), e há ainda uma última camada, denominada de teca folicular. Nesse estágio o folículo é denominado de primário ou pré-antral, segundo Cunningham (1992).



**Figura 2.** Estágios do desenvolvimento folicular. Fonte: GUIDO, M. C., 2005.

“[...] As células da teca forma-se ao redor das células da granulosa e originam duas subcamadas: a teca externa, constituída quase totalmente por tecido conjuntivo, e a teca interna que é a subcamada vascular. As células da teca produzem andrógenos esteroides e as células da granulosa produzem estrógeno e inibina [...]” (KENNEY et al., 1979 in SOUSA, 2006 PÁG 27).

Cunningham (1992), afirma que inicialmente ao crescimento folicular, as gonadotrofinas não são necessárias. No entanto tornam-se essenciais quando o folículo adquire antro (folículo antral), fator que é evidenciado pela presença de receptores de FSH nas células da granulosa, e de receptores de LH nas células da teca (Webb et al., 1999 in Sousa, 2006).

### **2.3 Desenvolvimento folicular e ovulação**

Para que ocorra o surgimento do folículo antral, há a formação do líquido folicular (estimulada pelo FSH), que tornará o antro cada vez maior, decorrente da resposta ao estrógeno que estimula as células a se dividirem aumentando assim o tamanho do folículo, até chegar ao seu crescimento final e culminar com a ovulação, de acordo com Cunningham (1992).

Segundo Ginther (1993) in Sousa (2006), o desenvolvimento folicular acontece em ondas, que podem ser classificadas em maiores, quando há folículo dominante e outros menores; ou ondas menores, quando não há dominância.

Essas ondas ainda podem ser classificadas em primárias e secundárias, de acordo com Moreira (2010). As ondas principais primárias costumam aparecer no meio do diestro, enquanto que as secundárias, no fim do estro e/ou início do diestro, quando ocorre a ovulação. No entanto, ocorrem ainda as ondas foliculares menores, o que diferencia um tipo de onda de outro é que em uma onda menor a diferença do diâmetro do folículo dominante para o segundo folículo maior, é mínima, geralmente menos do que seis milímetros. Já na onda principal, a diferença é de no mínimo quinze milímetros. Contudo, os folículos em desenvolvimento de uma onda podem misturar-se com os folículos em regressão da outra onda, sendo necessária mais de uma ultrassonografia para diferenciar o estado folicular (Moreira, 2010).

Após a concentração de FSH aumentar até chegar ao seu pico, quando o folículo de maior tamanho atinge 13 mm, há uma redução no FSH circulante. Quando o folículo atinge 22 mm está instalada a fase de dominância, e este começará a se desenvolver mais do que os outros (que regredirão) até atingir o tamanho pré-ovulatório. O folículo dominante liberará um hormônio, a inibina, que será responsável por impedir o crescimento do segundo maior folículo (Ginther, 2000 e Gastal et al., 1997 in Sousa, 2006).

De acordo com Moreira (2010), muitos folículos desenvolvem-se mesmo na fase de diestro, no entanto esses folículos não chegam a fase ovulatória devido a elevada concentração de progesterona circulante, oriunda do corpo lúteo presente nesta fase.

Segundo McKinnon et al (1993) in Moreira (2010), o folículo apresenta-se sob a forma esférica e firme, no entanto, quando em sua fase pré-ovulatória, tornam-se menos intumescidos e assim, perdem um pouco de sua característica esférica. Como a palpação é bastante subjetiva para identificar o tipo de folículo e o estado em que se encontra, utiliza-se a ultrassonografia como meio mais eficaz de mensurar e monitorar o desenvolvimento folicular, podendo ser possível com folículos tão pequenos como com dois milímetros de diâmetro.

Uma onda de LH altera as condições do folículo e estimula a liberação do oócito. (CUNNINGHAM, 1992) Na égua, diferente de outros animais domésticos, essa onda de LH é gradualmente crescente, iniciando-se em média cerca de sete dias antes da ovulação. Atingindo seu pico 1 a 3 dias após a ovulação (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

“A ovulação na espécie equina ocorre quando o folículo atinge por volta de 35 mm a 60 mm, sendo que a média está em torno de 45 mm.” (GINTHER, 1990; PIERSON; GINTHER, 1985; SHIRAZI; GHARAGOZLOO; GHASEMZADEH-NAVA, 2004 in SOUSA, 2006, pág. 31).

De acordo com Moreira (2010), a ovulação é um transcurso no qual o fluido antral e o oócito são expelidos de um grande folículo, através de uma ruptura a nível da fossa de ovulação. Esse processo é relativamente rápido, e está completo em aproximadamente sessenta segundos.

Segundo Hafez e Hafez (2004), de acordo com o crescimento folicular, ocorre uma protuberância na superfície do ovário, e haverá aumento da vascularização do folículo, exceto no centro, onde será localizada a ruptura folicular. Nas éguas, só ocorre ovulação em uma área delimitada do ovário, a fossa ovulatória, diferentemente dos outros mamíferos onde ocorrer pode em qualquer local da superfície do ovário.

Segundo Ginther (1995) in Moreira (2010), na região onde se encontrava o folículo ovulatório pode-se observar após a ovulação, uma depressão na superfície ovariana, vista como uma área hiperecótica, formação do corpo hemorrágico, que dará origem ao corpo lúteo, responsável por secretar progesterona.

De acordo com Moreira (2010), há tipos diferentes de corpos lúteos, os primários, secundários e os acessórios. Os corpos lúteos primários são resultantes de ovulações de folículos dominantes em ondas primárias principais no fim do estro (predomínio de estrógeno); os secundários, de folículos dominantes de ondas secundárias que ocorrem durante a gestação ou diestro (predomínio de progesterona); e os acessórios, são resultados das ovulações de folículos de ondas foliculares gestacionais. Os corpos lúteos acessórios permanecem até aproximadamente o quinto mês de gestação nas éguas, fornecendo progesterona para a manutenção da gravidez, enquanto a placenta não está totalmente apta para suprir a necessidade de progesterona. Já os primários e secundários, sofrem luteólise no fim do diestro.

”O tempo de vida do corpo lúteo depende da liberação endógena de prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) pelo endométrio, de forma pulsátil, entre os dias 13 e 16 pós-ovulação. A PGF<sub>2α</sub> entra na circulação e atinge os ovários por via sistêmica. A PGF<sub>2α</sub> provoca uma rápida luteólise resultando numa diminuição da concentração de progesterona circulante, que por sua vez liberta o bloqueio de secreção de LH. A maturação folicular e os sinais comportamentais característicos da fase folicular do ciclo estral começam então. A variação da duração da fase lútea é geralmente resultado de disfunções uterinas que provocam a secreção de PGF<sub>2α</sub> que encurta o diestro ou persistência espontânea do CL que prolonga o diestro devido à falta de liberação de PGF<sub>2α</sub>” (Daels, 1993 in Moreira, 2010 PÁG 7 e 8).

#### **2.4 Uso do hCG na indução da ovulação**

A indução da ovulação é utilizada para sincronizar o ciclo estral (o mais próximo possível da cobertura) em éguas cíclicas visando aprimorar o manejo reprodutivo; bem como em éguas que não estão ciclando, no tratamento para anestro, segundo Melo (2006).

De acordo com Hafez (2004), todos os animais domésticos são capazes de ovular espontaneamente, no entanto, quando as fêmeas encontram-se em anestro da lactação, ou passaram por longos períodos de subnutrição, e animais pós-púberes, podem necessitar de uma terapia hormonal.

Ainda segundo Hafez (2004), há um pico natural de hormônio luteinizante (LH), resultando de um feedback positivo com relação a secreção de estrógeno pelo folículo em desenvolvimento. Assim sendo pode-se

promover esse pico com a administração de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), ou provocar um pico artificial com o uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG).

Para estimular o crescimento de folículos ovarianos, pode-se utilizar hormônio folículo estimulante (FSH) ou gonadotrofinas placentárias (eCG ou hCG). Uma das vantagens das gonadotrofinas sob o FSH e LH refere-se ao tempo de meia vida, sendo curto no hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), necessitando portanto de múltiplas aplicações, enquanto o hCG, por exemplo, produziria em uma única aplicação a mesma taxa de crescimento folicular e ovulação. Além de ser possível a administração de uma grande dose de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas), que também provocará a ovulação, por meio da liberação de LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante) endógenos (HAFEZ, 2004).

Palmer in Melo (2006), afirma que a utilização de agentes indutores da ovulação é mais propícia quando há um folículo de aproximadamente 35mm nas éguas. “Deste modo, após a indução da ovulação, a maioria das éguas irão ovular no período correspondente a 36 e 48 horas da indução, demonstrando uma variação individual acentuada, a qual pode estar relacionada ao diâmetro ovulatório de cada animal” (Samper in Melo, 2006).

Diversos autores relatam que após a aplicação de hCG (por via endovenosa ou intramuscular), a ovulação ocorre cerca de 48 horas depois, em aproximadamente 80% dos casos, com uma dose que pode variar de 1000 a 3000 UI, enquanto que em éguas que não receberam nenhum tratamento, a ovulação ocorre em até 7 dias após a detecção de um folículo com aproximadamente 30 mm de diâmetro.

Pode utilizar outros hormônios em combinação com o hCG para sincronização do estro, como é o caso da progesterona. (Moreira, 2010)

Para avaliar o diâmetro folicular e classificar o escore do edema endometrial (varia de 0 a 5, sendo 0 sem edema e 5 edema máximo), utiliza-se da ultrassonografia.



**Figura 3.** Endométrio de égua com edema de grau 4. Fonte: ALFARO, 2013.

## **2.5 Gonadotrofina coriônica humana (hCG)**

O hCG é uma glicoproteína placentária grande, cujo peso molecular equivale a 40.000 dáltons, sua constituição inclui uma porção alfa e outra beta (HAFEZ, 2004). Sendo secretada na placenta humana, o  $\beta$ -hCG possui funções muito importantes na gravidez, sendo responsável por manter o corpo lúteo, e portanto, a produção de progesterona em um determinado período gestacional. Na mulher a detecção do  $\beta$ -hCG é indicativo de gravidez (WINTER e RUBIN, 2005 in BARTOLI, 2009).

“O hCG é extraído da urina de mulheres grávidas. Depois da fertilização do óvulo, o modo de manter os altos níveis de progesterona varia: no caso da mulher, a implantação do embrião induz o endométrio a produzir a gonadotrofina coriônica humana e passa a manter a atividade luteínica” (ARANGO e NEWCOMBE, 2007 in BARTOLI, 2009).

Segundo Antunez (2012), o hCG em outras espécies possui atividade semelhante ao LH (hormônio luteinizante), e devido a isso é utilizado como indutor de ovulação. E de acordo com Bergfelt (2000) in Melo (2006), o hCG já vem sendo usado por muitos anos, desde a década de 70, para reduzir o tempo de estro e acelerar a ovulação, sendo muito eficiente quando comprovada a presença de folículos pré-ovulatórios.

Devido sua meia-vida longa, em torno de 10 horas, o hCG é provavelmente o hormônio mais utilizado na reprodução equina, promovendo a



maturação folicular e ovulação de forma sincrônica (SQUIRES, 2008 in BARTOLI, 2009).

Segundo Samper (2008) in Bartoli (2009), o hCG deve ser sempre administrado por via parenteral, já que por via oral o hormônio é destruído pelo trato gastrointestinal. Passando aproximadamente 6 horas da aplicação intramuscular, se obtém níveis plasmáticos, sendo o hCG distribuído primariamente nos ovários da fêmea.

Mesmo sendo um excelente indutor de ovulação, o hCG apresenta inconveniências, quando administrado sucessivas vezes dentro de uma mesma estação reprodutiva. De acordo com Roser et al. (1979) in Melo (2006), há formação de anticorpos após 2 a 5 aplicações. Alguns autores relatam que a via intramuscular tem maior probabilidade de levar a formação de anticorpos, sendo a via intravenosa a mais indicada para a administração do hCG.

“A utilização de uma dose de dexametasona (20mg de fosfato de sódio de dexametasona + 40mg fenilpropionato de dexametasona) simultaneamente ao hCG, objetivando a inibição da formação de anticorpos não foi eficiente de acordo com Duchamp et al. (1987), entretanto estes mesmos autores admitem a possibilidade de uma única dose não ser eficiente na inibição do sistema imunológico” (MELO, 2006).

## **2.6 Êxito da inseminação artificial usando sêmen refrigerado**

De acordo com Moreira (2010), a utilização da IA em equinos começou a ser utilizada na década de 30, como alternativa para prevenção de transmissão doenças, não exercendo o papel de peça fundamental nos programas de reprodução, sendo uma das principais biotecnologias nessa área, como exerce atualmente.

Segundo Samper (2000) in Moreira (2010), a inseminação artificial é uma técnica aplicada para depositar espermatozoides vivos e saudáveis no útero, em um momento propício. Parece ser um procedimento bastante simples, no entanto, há quesitos que devem ser levados em consideração para que o programa de IA obtenha sucesso, como por exemplo: inspecionar por meio de exames se o garanhão é de qualidade, se o seu desempenho reprodutivo é satisfatório; exame reprodutivo da égua, que inclui seu estado geral de saúde; armazenamento e manejos apropriados do sêmen; indução da

ovulação para precisão do momento correto da inseminação; técnica adequada.

A viabilidade do espermatozoide após o momento da cobertura é de até 72 horas, enquanto que o óvulo mantém-se funcional por 6 a 18 horas após a ovulação. Com base nesses dados recomenda-se que a inseminação seja realizada em intervalos de 48 horas até a detecção da ovulação ou fim do cio, proporcionando dessa forma, taxas de prenhez por ciclo de até 79%, de acordo com Ferraz (2006).

Ferraz (2006) observou que éguas cobertas antes de ocorrer a ovulação obtiveram taxas de prenhez mais elevadas do que as que eram cobertas no dia propriamente dito, sendo no entanto semelhante à taxa de concepção pré-ovulatória as éguas cobertas até 12 horas após a ovulação.

Segundo Nunes et al (2006), o fator que mais exerce influência sob a fertilidade é o intervalo entre a inseminação e a ovulação, e não o número de inseminações realizadas dentro de um mesmo ciclo. Portanto o número de inseminações pode ser reduzido, desde que seja executado um controle do desenvolvimento folicular eficiente.

O sêmen utilizado para inseminação artificial pode ser fresco, refrigerado ou congelado, sendo o resfriado um sêmen diluído com diluidor adequado e arrefecido lentamente (0,3° C por minuto) a 5-8° C, podendo ser utilizado dentro de um prazo de 12 a 36 horas após a colheita (Moreira, 2010).

De acordo com Moreira (2010), as taxas de gestação diferem conforme o tipo de sêmen utilizado, sendo muito melhores para o sêmen refrigerado quando comparadas ao sêmen congelado. Pode-se esperar taxas de concepção médias de 55-70% para o sêmen refrigerado, enquanto que para o sêmen congelado observa-se taxas de 35-50%.

Nem todos os garanhões podem ser utilizados para o resfriamento de sêmen, devido a baixa motilidade espermática progressiva que se apresenta após o resfriamento (Canisso et al, 2008).

### **3. Material e Métodos**

#### **3.1 Animais experimentais**

Foram utilizados dados referentes a 40 éguas, das raças Mangalarga e Quarto de milha, submetidas a programas de reprodução assistida, visando o uso da inseminação artificial ou monta natural associado a transferência de embriões. Todas as fêmeas selecionadas gozam de fertilidade comprovada e bom estado de saúde geral. A idade das fêmeas utilizadas varia entre 6 e 12 anos.

#### **3.2 Local do Experimento**

Os animais incluídos no presente trabalho foram mantidos em diversas criações na Paraíba, nos municípios de Alagoinha, Campina Grande, Patos, Ingá.

#### **3.3 Metodologia**

Foram analisados registros relacionados à vida reprodutiva das fêmeas antes citadas, considerando especificamente o uso da Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) na indução da ovulação previa à inseminação artificial. Foram formados dois grupos quanto às raças, Mangalarga e Quarto de Milha. Dentro de cada grupo foi realizada comparação entre as dosagens utilizadas, 1500 e 2500 UI. O acompanhamento da dinâmica folicular e da ecotextura uterina foram realizados através dos exames ultrassonográficos, iniciando no primeiro dia do cio até a constatação da presença de um folículo de 35 mm, momento no qual foi aplicada a dosagem comparativa de hCG. Após 24 horas foi realizada a inseminação artificial com sêmen refrigerado a 5°C proveniente de uma central de inseminação, utilizando diluente comercial Botu-sêmen, e a técnica da inseminação realizada pela via transcervical com pipeta de inseminação própria introduzindo a mão pela vagina e realização de nova avaliação do tamanho folicular e a ovulação. A ecotextura uterina foi avaliada considerando a classificação proposta por Samper (1997) que realizou um estudo correlacionando a predição da ovulação em éguas sadias e cíclicas, associado com as modificações da textura uterina. A classificação foi dada com uma pontuação (0 a 5), onde zero representava o útero na fase de diestro (sem

edema); 1 = leve edema; 2 = moderado; 3 = marcante em todo o útero; 4 = máximo, às vezes pequena quantidade de líquido no lúmen uterino e edema marcante no corpo do útero; 5 = anormal, ecotextura padrão descaracterizada (irregular e desorganizada).



**Figura 4.** Desenvolvimento folicular em uma égua. Fonte: PEÑA-ALFARO,2013



**Figura 5.** Folículo dominante em uma égua com 38.86 mm. Fonte: PEÑA-ALFARO, 2013.

### **3.4 Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada em microcomputador, empregando o programa estatístico InStat 3. Os valores obtidos foram analisados em percentual e comparados pelo teste de Chi Quadrado ( $X^2$ ) e apresentados em forma de tabelas. O teste foi aplicado ao nível de 5% de significância.

#### 4. Resultados e Discussão

A tabela 1 mostra a distribuição de frequência do horário do exame pós-aplicação da gonadotrofina coriônica humana e sua relação com a ocorrência da ovulação. Observou-se que a maioria das éguas ovulam após 48 horas da aplicação do hCG, ocorrendo poucos casos com ovulação em até 36 horas, e praticamente nenhum em 72 horas. Esses dados concordam com as informações de Ronca (1993); Melo (2003), que afirma que 80% das éguas ovularam até 48 horas; Sousa (2006); Bartoli (2009) e Antunez (2010). No entanto não houve diferenças significativas com relação à raça ou a dosagem utilizada.

Tabela 1 Distribuição de frequência do intervalo entre aplicação de hCG e a ocorrência da ovulação em horas em éguas das raças mangalarga e quarto de milha no estado da Paraíba. Patos, 2014

Grupos	Até 36	Até 48	Até 72
Quarto de Milha 1500 UI	01 (2) <sup>a</sup>	07 (7,1) <sup>b</sup>	02 (0,7) <sup>a</sup>
Quarto de Milha 2500 UI	02 (1,8) <sup>a1</sup>	06 (6,4) <sup>b1</sup>	01 (0,7) <sup>a1</sup>
Mangalarga 1500 UI	0 (2) <sup>a2</sup>	10 (7,1) <sup>b2</sup>	0 (0,7) <sup>a2</sup>
Mangalarga 2500 UI	05 (2) <sup>a3</sup>	05 (7,1) <sup>b3</sup>	0 (0,7) <sup>a3</sup>

Q<sup>2</sup> = 9,37 Letras diferentes diferença estatística p ≥ 0,05

Pode-se constatar na tabela 2 taxas de fertilidade de 65% tanto para os grupos que receberam uma dosagem de hCG menor, 1500 UI, quanto para as éguas onde foram aplicadas 2500 UI. Essas taxas estão de acordo com o que já foi informado por Moreira (2010), onde éguas inseminadas com sêmen refrigerado possuem taxas de concepção que variam de 55-70%. No entanto, essas altas taxas de fertilidade da inseminação artificial, apenas são possíveis com a utilização da sincronização da ovulação, como é o caso das aplicações da gonadotrofina coriônica humana (hCG) (Samper in Moreira, 2010).

Tabela 2 Fertilidade em éguas Quarto de Milha e Mangalarga após o uso de diferentes dosagens de hCG, inseminadas com sêmen refrigerado no estado da Paraíba. Patos, 2014

Grupos	Inseminadas	Gestantes	Fertilidade
1500 UI	20	13	65%
2500 UI	20	13	65%

As éguas foram inseminadas antes que ocorresse a ovulação, com uma média aproximada de 41 mm o folículo pré-ovulatório, não ocorrendo diferenças significativas nem entre as raças, tão pouco entre as dosagens utilizadas. Considerando que a ovulação ocorrerá até 48 hs pós aplicação do hCG, considerasse que estes valores estejam dentro dos valores normais, uma vez que ainda ocorrerá crescimento folicular nas horas subsequentes à última verificação da dinâmica folicular. A média do tamanho folicular no momento da ovulação nas éguas foi de 45 mm (GINTHER, 1990; PIERSON; GINTHER, 1985; SHIRAZI; GHARAGOZLOO; GHASEMZADEH-NAVA, 2004 in SOUSA, 2006). No presente estudo não foi avaliado o referido tamanho no momento da ovulação, pelo fato de que esses dados não constavam nos dados das fichas reprodutivas avaliadas.

Tabela 3 Tamanho do folículo pré-ovulatório de éguas Mangalarga e Quarto de Milha no momento da inseminação após o uso de diferentes dosagens de hCG no estado da Paraíba. Patos, 2014

Grupos	Éguas (N)	Média± ds (mm)
Quarto de Milha 1500 UI	10	41.64±1.894
Quarto de Milha 2500 UI	10	42.25±1.990
Mangalarga 1500 UI	10	41.88± 1.732
Mangalarga 2500 UI	10	41.42± 2.979

Médias não diferentes estatisticamente a 5%.

## **5. Conclusão**

Diante dos resultados obtidos com este experimento, conclui-se que o uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) é eficiente na indução da ovulação de éguas, tendo a maioria das fêmeas uma resposta ovulatória em até 48 horas após sua aplicação. O uso de uma dose maior, 2500 UI, não acarretou diferenças dos resultados quando comparada a 1500 UI, no que diz respeito a comparação das raças utilizadas como também nas taxas de fertilidade e antecipação da ovulação.



## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, H. B. DE et al. Sincronização de estro e dinâmica folicular de éguas Crioulas submetidas a tratamentos com norgestomet, acetato de melengestrol e altrenogest. *Braz. J. vet. Res. animal Sci.*, volume 38, n. 6, p. 267-272. São Paulo, SP. 2001.

ANTUNEZ, Lucas. *Uso da Gonadotrofina Coriônica Humana na indução da ovulação de éguas em diferentes e repetidas doses durante uma estação de monta*. Pelotas, RS. 2012

BARTOLI, Emerson Luiz. *Uso de Gonadotrofina Coriônica Humana no Controle Reprodutivo de Éguas*. São Paulo, SP. 2009.

CANISSO, Igor Frederico et al. Inseminação artificial em equinos: sêmen fresco, diluído, resfriado e transportado. *Revista Acadêmica de Ciência Agrária e Ambiental*, volume 6, p. 389-398. Curitiba, PR. 2008.

CUNNINGHAM, James G. *Tratado de Fisiologia Animal*. Editora Guanabara Koogan, ed. 1, Ano: 1992.

FERREIRA, Alexandra Pereira de Castro. *Indução da ovulação em éguas*. Vila Real, Portugal. 2010.

FERRAZ, L.E.S e VICENTE, W.R.R. Influência do momento da cobrição, em relação à ovulação, na fertilidade e na ocorrência de morte embrionária precoce em equinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, volume 58, p. 537-543. Jaboticabal, SP. 2006.

FERRAZ, L.E.S; VICENTE W.R.R; RAMOS P.R.R. Concentração de progesterona e de estradiol 17-b e características ultra-sonográficas da vesícula embrionária no início da gestação em éguas Puro Sangue Inglêss. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, vol.53. nº.4, Belo Horizonte, MG. 2001

FERREIRA, Ana Isabel Teixeira. Reprodução Equina. Porto, Portugal. 2009.

FLEURY, P.D.C., Alonso, M.A., Sousa, F.A.C., Andrade, A.F.C., Arruda, R.P. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.31, n.1, p.27-31, jan./mar. 2007.

HAFEZ ESE, Hafez B, Reprodução Animal, ed. 7, editora Malone Ltda. 2004.

LIMA, M.C.C., SILVA FILHO, J.M., CARVALHO, G.R. Efeito do número de inseminações artificiais por ciclo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen eqüino diluído, resfriado a 20oC e transportado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, p.1649-1653, 2000.

MELO, Cely Marini. Indução de ovulação em éguas. Botucatu, SP. 2006.

MOREIRA, Joana Cabral da Gama de Alpoim. Inseminação artificial em éguas: estudo da utilização de uma dose reduzida de sêmen congelado em diferentes locais de deposição. Lisboa, Portugal. 2010.

NUNES, D. B.; Zúccari, C. E. S. N.; Silva, E. V. C. Fatores relacionados ao sucesso da inseminação artificial de éguas com sêmen refrigerado. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, volume 30, p. 42-56. Belo Horizonte, MG. 2006.

ROMANO, M.A.; MUCCILOLO, R.G.; SILVA, A.E.D.F. Biologia reprodutiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação. *Braz. J. vet. Res. animal. Sci.* volume 35, n. 1, p. 25-28. São Paulo, SP. 1998.

RONCA, A. T. M. V. et al. Eficiência Reprodutiva de éguas submetidas ao fotoperíodo artificial e tratadas com hCG e progesterona. Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia, volume 22, n. 2, p. 261-269. Viçosa, MG. 1993.

SOUSA, Fernando Augusto Cogo de. Efeito da Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) sobre as características reprodutivas de fêmeas equinas candidatas a receptoras de embriões. Pirassununga, SP. 2006.

XAVIER, I. L. G. DE S. et al. Efeitos do local de deposição do sêmen e do intervalo inseminação/ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fresco diluído. Revista Brasileira de Zootecnia, volume 39, n. 3, p. 512-519. Belo Horizonte, MG. 2010.