

Efeito do uso de dinoprost trometamina sobre a taxa de gestação em éguas Mangalarga Marchador*

Flávia Crespo Vieira de Leal Fonseca^{1,2+}, Júlio César Ferraz Jacob², Marcus André Ferreira Sá^{2,3}, Gabriel Almeida Dutra², Yuri Barbosa Guerson² e Vera Lúcia Teixeira de Jesus²

ABSTRACT. Fonseca F.C.V.L., Jacob J.C.F., Sá M.A.F., Dutra G.A., Guerson Y.B. & Jesus V.L.T. [Effect of the use dinoprost tromethamine on pregnancy rate in Mangalarga Marchador mares.] Efeito do uso de dinoprost trometamina sobre a taxa de gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):164-168, 2016. Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: fvieira.vet@hotmail.com

The aim of this study was to determine if the use of Dinoprost Tromethamine during diestrus affected the pregnancy rate in Mangalarga Marchador mares. A retrospective study through analyzing records of 173 Mangalarga Marchador mares totaling 669 estrous cycles. The data were separated into four groups: group I (n = 53 cycles): not submitted to hormonotherapy (control); Group II (n = 86 cycles): cycles submitted induction of ovulation using 1000 IU of hCG; Group III (n = 222 cycles): cycles submitted to oestrus induction with 5.0 mg of Dinoprost Tromethamine; Group IV (n = 308 cycles): estrus cycles induced with 5.0 mg Dinoprost tromethamine and ovulation induced using 1000 IU of hCG. Induction of ovulation occurs when the dominant follicle reached ≥ 35 mm diameter. The use of PGF_{2 α} was from the seventh day after ovulation. Pregnancy diagnosis was performed 15 days after the ovulation detection in matrix mares. For embryo donors, was considered as a positive result the uterine washed resulting in embryo recovery. Was used the chi-square test (5% significance) and Fisher exact test, when recommended. The pregnancy rate obtained in the group I was 54.71% (29/53) in group II 59.3% (51/86) in group III 49.55% (110/222) and Group IV 59, 41% (183/308). There was no statistical difference (p = 0.132) for the pregnancy rate among the groups. Thus, use of Dinoprost Tromethamine in the seventh day after ovulation did not influence the pregnancy rate.

KEY WORDS. Luteolysis, fertility, estrous, diestrus.

RESUMO. O objetivo desse estudo foi verificar se o uso de Dinoprost Trometamina durante o diestro afetou a taxa de gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador. Foi realizado estudo retrospectivo através de análise de registros de 173 éguas da raça Mangalarga Marchador, totalizando 669 ci-

clos estrais. Os dados obtidos foram separados em quatro grupos: grupo I (n = 53 ciclos): ciclos não submetidos à hormonioterapia (controle); grupo II (n=86 ciclos): ciclos submetidos apenas à indução da ovulação utilizando 1000 UI de hCG; grupo III (n = 222 ciclos): ciclos submetidos à indução

* Recebido em 29 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 27 de outubro de 2016.

¹ Médico-veterinário, Universidade Estácio de Sá (UNESA), Estrada da Boca do Mato, 850, Vargem Pequena, Rio de Janeiro, RJ 22783-320. *Autor para correspondência, E-mail: fvieira.vet@hotmail.com

² Médico-veterinário, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-00. E-mails: julioresp@ufrj.br; gabriel_gad@msn.com; yuriguerson@hotmail.com; jesus@ufrj.br

³ Médico-veterinário, Centro Universitário de Barra Mansa (UBM), Rua Vereador Pinho de Carvalho, 267, Centro, Barra Mansa, RJ 27330-550. E-mail: marcus.ferreira85@hotmail.com

do estro com 5,0 mg de Dinoprost Trometamina; grupo IV (n = 308 ciclos): ciclos submetidos à indução do estro com 5,0 mg Dinoprost trometamina e indução ovulação utilizando 1000 UI de hCG. A indução da ovulação ocorreu quando o folículo dominante atingiu diâmetro ≥ 35 mm. A utilização da PGF_{2 α} foi a partir do sétimo dia após a ovulação. O diagnóstico de gestação foi realizado 15 dias após a data da detecção da ovulação em éguas matrizes. Para éguas doadoras de embrião, considerou-se como resultado positivo o lavado uterino que resultou em recuperação embrionária. Foi utilizado o teste Qui-Quadrado (a 5% de significância) e Fisher Exato, quando recomendado. A taxa de gestação obtida no grupo I foi 54,71% (29/53), no grupo II 59,3% (51/86), no grupo III 49,55% (110/222) e no grupo IV 59,41% (183/308). Não houve diferença estatística (p = 0,132) para a taxa de gestação entre os grupos analisados. Sendo assim, utilização de Dinoprost Trometamina a partir do sétimo dia após a ovulação não influenciou a taxa de gestação. PALAVRAS-CHAVE. Luteólise, fertilidade, estro, diestro.

INTRODUÇÃO

No Brasil, segundo o IBGE, temos um número de 5,5 milhões de equinos que, conforme Medeiros & Guerra (2006) geram um faturamento total na ordem de R\$ 7,3 bilhões com geração de 641 mil empregos diretos, seis vezes mais do que a indústria automotiva e 20 vezes mais do que a aviação civil e outros importantes setores da economia brasileira. Quando se somam as ocupações diretas e indiretas, o agronegócio cavalo gera 3,2 milhões de postos de trabalho.

A égua é considerada uma espécie poliéstrica sazonal, ou seja, a fêmea apresenta uma época de reprodução restrita a apenas alguns meses do ano, na qual ocorrem vários ciclos estrais. Por possuir um período limitado de estação reprodutiva a coordenação apropriada dos eventos endócrinos é fundamental para o sucesso da gestação. Por isso, o encurtamento do intervalo entre estros em éguas tem um impacto econômico importante na indústria de criação de equinos. Existem muitos pontos que tornam o uso de análogos de prostaglandina benéficos como: retorno ao estro mais precocemente em éguas que não ficaram gestantes, doadoras de embriões conseguem produzir maior número de produtos por encurtar o ciclo estral e indução ao estro na ausência de exame ultrassonográfico ou observação dos sinais de "cio", visando sempre aumentar a eficiência reprodutiva da égua.

As prostaglandinas consistem numa cadeia de ácidos graxos de 20 carbonos, que são derivados a partir de ácido araquidônico e controlam a duração do ciclo estral da égua através da determinação do tempo de vida funcional do corpo lúteo (Niswender et al. 2000). As prostaglandinas são formadas pela maioria das células do corpo e atuam como mediadores lipídicos com função autócrina e parácrina. Elas não são armazenadas, por isso são sintetizadas a todo o momento, a partir do ácido araquidônico, pela ativação das células por traumas mecânicos, por citocina específica, fator de crescimento, dentre outros (Six & Dennisy 2000).

Os análogos da Prostaglandina F_{2 α} (PGF_{2 α}), são comumente usados na reprodução equina visando à lise do corpo lúteo (CL) e, conseqüente, indução do estro, assim como para a interrupção precoce da gestação, para indução da contratilidade uterina para eliminação de fluidos, para a sincronização do estro e da ovulação (Newcombe et al. 2008). Além disso, ainda tem sido associado ao aumento da taxa de ovulação múltipla em éguas (Ginther et al. 2008).

MacPherson (2009) afirma que a administração da prostaglandina só é efetiva entre os dias cinco a 16 após a ovulação, enquanto que Squires (2008) refere o intervalo de cinco a 10 dias após a ovulação. Além disso, o intervalo médio entre o tratamento e o início do cio é de três a quatro dias e a ovulação ocorre oito a 10 dias depois do mesmo tratamento (Alcántara et al. 2005, Metcalf & Thompson 2010).

No entanto, pesquisas recentes têm sugerido que a administração de PGF_{2 α} durante o diestro em éguas pode estar associado a menores taxas de gestação em comparação a éguas que não foram submetidas a este tratamento (Nielsen et al. 2008). Nesse estudo em que éguas tratadas com Cloprostenol (4 a 7 dias) após a ovulação, a taxa de gestação foi reduzida em 20 a 30% no ciclo subsequente em comparação ao grupo de éguas que não foram tratadas, (Cuervo-Arango 2010). Entretanto, Katila (2003) realizou um estudo em que não foi observada diferença taxa de gestação entre os grupos controle, indução da ovulação com hCG, indução ao estro com PGF_{2 α} e indução do estro com PGF_{2 α} associada a indução da ovulação com hCG. Assim como Metcalf & Thompson (2010) também não encontram diferença entre o grupo de éguas tratadas com Cloprostenol (n = 231) e não-tratadas (n = 230) porém, nesse estudo os animais que não apresentaram sinais de cio em 5 dias foram excluídos.

A ocorrência de folículos hemorrágicos anovulatórios (HAF's) diminui a taxa de gestação durante a

estação de monta. Num estudo realizado por Ginther & Pierson (1989) em 213 ciclos de 102 éguas foi encontrada uma incidência de 5% de HAF's. Outra incidência foi reportada por Mccue e Squires (2002) em um estudo retrospectivo de 1835 ciclos estrais de 721 éguas, sendo observado uma incidência total de 8,2%. Além disso, Ginther et al. (2006) observaram que éguas com histórico de formação de folículo hemorrágico a taxa de formação desse foi de 54% (7/13) nos ciclos estrais analisados, e que éguas sem histórico de HAF's não desenvolveram folículos anovulatórios nos seis ciclos analisados, demonstrando assim que há uma repetitividade nessas éguas. Em outro estudo realizado por Ginther et al. (2007) foi verificado uma incidência de HAF's de 5% no início e de 20% no final da estação reprodutiva das éguas estudadas.

Segundo Cuervo-Arango (2009), éguas tratadas com Cloprostenol foram mais propensas a desenvolver HAF's durante o estro subsequente ao tratamento do que as éguas que apresentaram ciclo espontâneo, sendo encontrado uma incidência de 8,4%, 7,6% ($P > 0,05$), 3,7% ($P = 0,008$) e de 0,8% ($P < 0,001$) de HAF nos grupos tratado com Cloprostenol sódico, com Cloprostenol sódico associado ao hCG e ciclo espontâneo, respectivamente, nos 765 ciclos analisados de 207 éguas ao longo de dois anos. Assim como, em estudo realizado por Ginther (2008) em que houve uma maior incidência de HAF's nos ciclos estrais induzidos com Cloprostenol sódico (20%, $p > 0,007$) no dia 10 do ciclo e onde todos os folículos maiores que 6mm foram aspirados para induzir uma nova onda folicular, em comparação aos ciclos espontâneos (2%), indicando que esta elevada incidência está relacionada ao desenvolvimento imediato de um folículo e ao aumento contínuo da concentração de LH após a administração do análogo de prostaglandina.

Portanto, o uso de análogos de PGF_{2α} pode influenciar a taxa de fertilidade em éguas submetidas ao tratamento, diante disso, o objetivo desse estudo foi verificar se o uso de Dinoprost Trometamina durante o diestro afetou a taxa de gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador.

MATERIAL E MÉTODOS

Para tanto, foi realizado estudo retrospectivo através de análise de registros de 173 éguas da raça Mangalarga Marchador, totalizando 669 ciclos estrais. Os dados incluídos no presente estudo consideraram éguas pesando entre 300 e 500 kg (dados relativos a animais magros ou obesos foram descartados), com idade entre 3 e 15 anos e ciclando regularmente. Os animais que tiveram os dados incluídos neste estudo foram mantidos em piquetes,

com acesso ao sal mineral e água fresca *ad libitum*, suplementados com ração concentrada (12% P.B), 1,0% do peso vivo P.V., diariamente.

Os dados obtidos foram separados em quatro grupos, de acordo com o tratamento recebido: grupo I (n = 53 ciclos): ciclos não submetidos à hormonioterapia luteolítica ou indutora de ovulação (controle); grupo II (n=86 ciclos): ciclos submetidos apenas à indução da ovulação utilizando 1000 UI de Gonadotrofina Coriônica humana (hCG; Chorulon® -MSD Saúde Animal, Brasil) por via endovenosa (E.V.); grupo III (n = 222 ciclos): ciclos submetidos à indução do estro com 5,0 mg de Dinoprost Trometamina (Lutalyse® - Pfizer, Brasil); grupo IV (n = 308 ciclos): ciclos submetidos à indução do estro com 5,0 mg Dinoprost trometamina e indução ovulação utilizando 1000 UI de hCG.

De acordo com os dados registrados nas fichas de controle individual, o acompanhamento folicular foi realizado através de ultrassonografia transretal utilizando-se aparelho DPS Mindray, modelo DP 2200 VET, equipado com transdutor linear de 5,0 Mhz, a cada dois dias a partir da detecção da divergência folicular (presença de folículos com diâmetro ≥ 25 mm) e diariamente após a detecção de folículo ≥ 30 mm até a detecção da ovulação e formação do corpo lúteo. Os folículos foram mensurados pela média aritmética dos diâmetros da sua maior largura e sua maior altura. A administração do hCG ocorreu quando o maior folículo atingiu diâmetro ≥ 35 mm. Para o grupo que usou PGF_{2α}, essa foi administrada a partir do sétimo dia após a ovulação até o décimo dia.

Quando ocorreu a formação de folículos hemorrágicos anovulatórios (HAF's) no ciclo subsequente a administração da Prostaglandina, os dados foram incluídos nos grupos de animais não gestantes. Os folículos foram classificados como hemorrágicos quando os mesmos possuíam fluido folicular com ecotextura anecóica e com presença de pontos ecóicos flutuantes em seus interiores acompanhados do espessamento da parede folicular, aumento de seu diâmetro (≥ 55 mm) e posterior organização do conteúdo intrafolicular com áreas ecogênicas.

O diagnóstico de gestação foi realizado 15 dias após a data da detecção da ovulação em éguas matrizes. Para éguas doadoras de embrião, considerou-se como resultado positivo o lavado uterino que resultou em recuperação embrionária. Os lavados uterinos para recuperação embrionária foram realizados oito dias após a detecção da ovulação.

Para avaliar o efeito do uso de Dinoprost Trometamina sobre a fertilidade das éguas, foi utilizado o teste Qui-Quadrado (a 5% de significância) e Fisher Exato, quando recomendado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos nas fichas de acompanhamento individual, a taxa de gestação foi 55,75% (373/669) por ciclo estral. A taxa de gestação obtida no grupo I foi 54,71% (29/53), no grupo II 59,3% (51/86), no grupo III 49,55% (110/222) e

no grupo IV 59,41% (183/308) (Tabela 1). Não houve diferença estatística ($p = 0,132$) entre os grupos analisados.

Ocorreu a formação de folículos hemorrágicos anovulatórios em 5,68% (38/669) dos ciclos analisados. Apesar de que a maioria dos ciclos (530) terem sido aplicado PGF_{2 α} a incidência de folículo hemorrágico encontrada está próxima a descrita por Ginther & Pierson (1989) e McCue & Squires (2002), que observaram incidência de 5 e 8 %, respectivamente sem aplicação da PGF_{2 α} . Cuervo-Arango & Newcombe (2009) e Ginther & Al-Manum (2009) sugerem que a regressão dos folículos e/ou a formação de HAF's possa estar relacionada ao uso de PGF_{2 α} .

Em estudos anteriores não foi observado um efeito negativo na indução do estro com a administração de PGF_{2 α} nas taxas de gestação (Samper et al. 1993). No entanto, médicos veterinários de equinos têm tido a impressão de que éguas acasaladas e ovuladas logo após o tratamento PGF_{2 α} tem apresentado baixa fertilidade. Esta afirmação tem sido discutida em conferências veterinárias e livros de texto (Pycock 2007).

Em um estudo realizado por Katila (2003) não foi observado diferença estatística na taxa de gestação dos grupos estudados, as taxas de gestação por ciclo estral analisado encontradas foram de 43,6% (380/871), 47,9% (282/589), 48,7% (114/235) e 48,7% (114/203), para os grupos controle, indução da ovulação com hCG, indução ao estro com PGF_{2 α} e indução do estro com PGF_{2 α} associada a indução da ovulação com hCG, respectivamente. Além disso, também não observado diferença na taxa de gestação nos diferentes intervalos de resposta a aplicação da Prostaglandina e a inseminação artificial. Diferentes preparações e concentrações de análogos de PGF_{2 α} foram utilizados ao longo dos anos deste estudo, mas a maioria das éguas recebeu 0.25 - 0.125 mg de Cloprostenol sódico via intramuscular. Conforme o presente estudo na pesquisa referenciada não se sabia o dia exato do ciclo estral em que os animais se encontravam e na maior parte das vezes o análogo de prostaglandina foi administrado quando um corpo lúteo era detectado pelo exame ultrassonográfico.

Tabela 1. Taxa de gestação obtida nos grupos GI (controle), GII (hCG), GIII (PGF_{2 α}) e GIV (PGF_{2 α} + hCG).

	GI	GII	GIII	GIV
Taxa de gestação por grupo	54,71% (29/53)	59,3% (51/86)	49,55% (110/222)	59,41% (183/308)

Não houve diferença estatística ($p = 0,132$).

Semelhante ao presente estudo, Metcalf & Thompson (2010) obtiveram taxa de gestação de 58% (269/461), não observando diferença estatística entre os grupos não-tratados (135/230) e tratados (134/231) com 125 ou 250 μ g de Cloprostenol Sódico ($p < 0,001$). Provavelmente, isto ocorreu devido ao fato de não ter sido levado em consideração o intervalo entre o dia da ovulação e o tratamento com PGF_{2 α} , nos dois trabalhos.

Contudo, Nielson et al. (2008) observaram que a administração de 125 mg de Cloprostenol em éguas no diestro ($n = 490$) apresentou influência negativa na taxa de gestação por ciclo. Entretanto, esses autores utilizaram a PGF_{2 α} em animais que apresentavam algum tipo de patologia reprodutiva (ausência de sinais de estro). Isto pode ter levado a baixas taxas de gestação por razões não relacionadas ao uso da PGF_{2 α} .

Ao comparar a taxa de gestação entre grupos que apresentaram diferentes intervalos de resposta da ovulação a aplicação da Prostaglandina, Cuervo-Arango et al. (2010) evidenciaram menor taxa de gestação (20-30%) no grupo que apresentou menor intervalo da ovulação a aplicação da PGF_{2 α} (4-7 dias - G II) em comparação aos grupos com maior intervalo (8-10 dias - G III e acima de 11 dias - G IV) e o não-tratado (G I). As taxas de gestação encontradas no referido estudo foram 64%, 46,7%, 71,7% e 73,7%, para os grupos GI, GII, GIII e GIV, respectivamente. Esses autores acreditam que a baixa taxa de gestação encontrada no grupo com intervalo menor que 7 dias está relacionada ao fato desses animais terem sido inseminados três a seis dias após a aplicação de PGF_{2 α} e, com isso, apresentaram redução de sua fertilidade.

No presente estudo, não houve diferença significativa entre os grupos controle e tratados, essa discordância com o trabalho de Cuervo-Arango et al. (2010), pode estar relacionado ao dia do ciclo estral em que ocorreu a administração do análogo de Prostaglandina, pois essa ocorreu aleatoriamente a partir do sétimo dia após a ovulação. Além disso, as diferenças encontradas entre ambos os estudos também podem estar relacionadas aos diferentes tipos e dosagens de análogos de Prostaglandina utilizados (5,0 mg Dinoprost Trometamina x 250 μ g Cloprostenol Sódico), apresentando diferentes efeitos luteolíticos para cada fase do ciclo estral.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que a utilização de Dinoprost Trometamina para indução da lise do CL e antecipação de um novo ciclo estral, a partir do sétimo

dia após a ovulação não influenciou na taxa de gestação, e não aumentou a incidência de HAF's.

REFERÊNCIAS

- Alcántra B., Boeta M. & Porras A. Luteolysis, Estrus Induction, and Clinical Side Effects in Mares Treated With a PDF_{2a} Analog, Cloprostenol (Sinocrel 11-21). *Journal of Veterinary and Science*, 25:384-386; 2005.
- 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*, 72:1262-1267, 2009.
- Cuervo-Arango J. & Newcombe J.R. Cloprostenol in equine reproductive practice: something more than a luteolytic drug. *Reproduction in Domestic Animals*, 45:8-11, 2010.
- Ginther O.J. & Pierson R.A. Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 9:4-12, 1989.
- Ginther O.J., Gastal E.L., Gastal M.O. & Beg M.A. Conversion of a viable preovulatory follicle into a hemorrhagic anovulatory follicle in mares. *Animal Reproduction*, 3:29-40, 2006.
- Ginther O.J., Gastal E.L., Gastal M.O. & Beg M.A. Incidence, endocrinology, vascularity, and morphology of haemorrhagic anovulatory follicles in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 27:130-9, 2007.
- Ginther O.J., Jacob J.C., Gastal M.O., Gastal E.L. & Beg M.A. Induction of haemorrhagic anovulatory follicles in mares. *Reproduction, Fertility and Development*, 20:947-954
- Ginther O.J., Jacob J.C., Gastal M.O., Gastal E.L. & Beg M.A. Follicle and systemic hormone interrelationships during spontaneous and ablation-induced ovulatory waves in mares. *Animal Reproduction Science*, 106:181-187, 2008.
- Ginther O.J. & Al-Manun M. Increased frequency of double ovulations after induction of luteolysis with exogenous prostaglandin F_{2a}. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29:581-583, 2009.
- Guerra P. & Medeiros S.A.F. Velocidade de R\$ 7,3 bi por ano. *Agroanalysis*. Dezembro de 2006
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Produção da pecuária municipal. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>> Acesso em: 28/10/2006
- Katila T. 2003. Effects of hormone treatment, season, age and type of mares on ovulation, twinning and pregnancy rates of mares inseminated with fresh and frozen semen. *Pferdeheilkunde*, 19:619-624.
- MacPherson M. Breeding management of the mare with cooled and shipped semen. *Proceedings of the Annual Meeting of the Italian Association of Equine Veterinarians*, Carrara, Italy, 130-134, 2010.
- Mccue P.M. & Squires E.L. Persistent anovulatory follicles in the mare. *Theriogenology*, 58:541-543, 2002.
- Metcalf E.S. & Thompson M.M. The effect of PGF_{2a}-induction of estrus on pregnancy rates in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30:196-199, 2010.
- Newcombe J.R., Jochle W. & Cuervo-Arango J. Effect of dose of cloprostenol on the interval to ovulation in the diestrous mare: a retrospective study. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28:532-539, 2008.
- Nielsen J.M., Kofoed B.T.S. & Ersboll A.K. Factors associated with fertility in horses in a Danish equine practice after artificial insemination with frozen-thawed semen. *Animal Reproduction Science*, 3632:1-59, 2008.
- Pycocck J.F. Therapy for mares with uterine fluid. In: Samper J.C., Pycocck J.F. & McKinnon A.O. (Eds), *Current Therapy in Equine Reproduction*. Saunders, Elsevier, St Louis, CA, 2007.
- Samper J.C., Geertsema H. & Hearn P. Rate of Luteolysis, Folliculogenesis and interval to ovulation in mares treated with prostaglandin analogue on day 6 or 10 of the estrous cycle. *Proc. 39th Annual Convention American Association of Equine Practice*, 169-70, 1993.
- Squires E.L. Hormonal manipulation of the mare. 28:11, 2008
- Voss J.L., Wallace R.A., Squires E.L., Pickett B.W. & Shideler R.K. Effects of synchronization and frequency in insemination on fertility. *Journal of Reproduction Fertility Supplement*, 27:257-261, 1979.