

CENTRO UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ELIELSON DOUGLAS BATISTA DE SANTANA
MARÍLIA GABRIELLA DE OLIVEIRA BARROS
ROZEANA BATISTA LIMA SALES SILVA

**ASPIRAÇÃO FOLICULAR TRANSVAGINAL EM
ÉGUAS**

RECIFE, 2022

ELIELSON DOUGLAS BATISTA DE SANTANA

MARÍLIA GABRIELLA DE OLIVEIRA BARROS

ROZEANA BATISTA LIMA SALES SILVA

ASPIRAÇÃO FOLICULAR TRANSVAGINAL EM ÉGUAS

Monografia apresentado ao Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Professor Orientador: José Carlos Ferreira da Silva

RECIFE, 2022

Ficha catalográfica elaborada pela
bibliotecária: Dayane Apolinário, CRB4- 1745.

S232a Santana, Elielson Douglas Batista de
Aspiração folicular transvaginal em éguas. / Elielson Douglas Batista de
Santana, Marília Gabriella de Oliveira Barros, Rozeana Batista Lima Sales
Silva. Recife: O Autor, 2022.

36 p.

Orientador(a): Prof. José Carlos Ferreira da Silva.

Trabalho De Conclusão De Curso (Graduação) - Centro Universitário
Brasileiro – Unibra. Bacharelado em Medicina Veterinária, 2022.

Inclui Referências.

1. Ciclo estral. 2. Equinocultura. 3. Melhoramento genético. 4. Ovum pick
up. I. Barros, Marília Gabriella de Oliveira. II. Silva, Rozeana Batista Lima
Sales. III. Centro Universitário Brasileiro - Unibra. IV. Título.

CDU: 619

*Dedicamos esse trabalho aos nossos pais,
que sempre nos apoiaram e acreditaram em
nós.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por suas bênçãos, proteção diária, por nos permitir ter chegado até aqui, e por não ter nos deixado desistir do nosso maior sonho, mesmo quando tudo parecia impossível.

À toda nossa família, pela paciência que sempre tiveram, por todo apoio e ajuda, vocês são a razão de tanta persistência.

Aos nossos professores que de alguma forma, somaram na nossa formação. Em especial ao nosso orientador, Prof. José Carlos Ferreira da Silva, por toda paciência, empatia e dedicação conosco – além de ser um grande exemplo para a medicina veterinária – e à professora Karen Mascaro, por todo incentivo e ajuda durante nossa graduação.

Aos amigos que passaram por nossas vidas, durante toda nossa trajetória, em especial João Nobre, Suellen Manguiera, Maria Carolina, Yasmin Guerreiro, Jéssica Dantas, Taynara Raphaella, Jussara Soares e Adisson José, sem vocês esta estrada da vida teria sido mais difícil.

Aos médicos veterinários, Dr. Jovany Sampaio Peixoto, Dra. Fernanda Mafra Caju e Dra. Ana Luísa Toscano por todos os ensinamentos, paciência e toda atenção. Meu mais sincero obrigada aos locais onde estagiei, à toda equipe do CITEquin, ao grupo EGR agropecuária, em especial Sr. Edval Gomes do Rêgo Júnior por todo apoio e confiança. Obrigada também aos funcionários da EGR por toda empatia, aprendizado e paciência, em especial Cleybson Lemos e Maurício José.

Aos profissionais e médicos veterinários da clínica Vida Animal pelo conhecimento compartilhado e os bons momentos de aprendizado ao longo desses anos, os veterinários Dr. Paulo Maia, Dra. Vanessa Vieira, Dra. Fernanda Cavalcanti, Dr. Neyl Mogolon, Dra. Evelyn Guedes, Dra. Gilvanda Soares e a todos os veterinários que contribuíram grandiosamente com nosso crescimento profissional e pessoal.

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis".

(José de Alencar)

ASPIRAÇÃO FOLICULAR TRANSVAGINAL EM ÉGUAS

Elielson Douglas Batista de Santana¹
Marília Gabriella de Oliveira Barros¹
Rozeana Batista Lima Sales Silva¹
José Carlos Ferreira da Silva²

Resumo: A equinocultura destaca-se cada vez mais no agronegócio. Conseqüentemente, é crescente o número de estudos que objetivam novas técnicas que associem a tecnologia com o melhoramento genético da espécie. Nesse sentido, destaca-se a técnica de aspiração folicular via transvaginal guiada por ultrassom (TVA) – metodologia utilizada, principalmente, em éguas de alto valor zootécnico. Esse trabalho objetivou realizar uma revisão de literatura sobre o conteúdo relacionado à aspiração folicular em éguas, abordando todo seu processo (desde as particularidades anatômicas e a dinâmica folicular da espécie até a coleta dos folículos ovarianos). A revisão foi feita por meio da busca de publicações científicas publicadas, principalmente, nos últimos 5 anos nas bases de dados SCOPUS, Scielo, PubMed, Latindex e Google Acadêmico. O ciclo estral tem duração média de 21 a 22 dias, divididos em fase folicular e fase lútea. A fase folicular é responsável pela preparação do metabolismo da égua para a fecundação e é finalizada com a ovulação. Por outro lado, a fase lútea inicia-se com a formação do corpo lúteo após a ovulação, preparando o útero para a gravidez. A TVA surgiu da necessidade de melhoria do processo de reprodução assistida nas éguas. Essa metodologia utiliza uma alça intravaginal, que é introduzida no vestíbulo até a parte lateral da cérvix e em seguida é realizada a punção dos folículos ovarianos, no qual o conteúdo folicular é aspirado. Por fim, nota-se a necessidade de que o profissional que atue com a TVA conheça corretamente as particularidades do sistema reprodutor das éguas.

Palavras-chave: ciclo estral; equinocultura; melhoramento genético; Ovum pick up.

Graduando em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário Brasileiro - UNIBRA
E-mail: elielsondouglas9@gmail.com; mariliagbarros156@gmail.com;
rozeanasilva1977@gmail.com.

²Professor da UNIBRA. Dr. E-mail: jose.ferreira@grupounibra.com.

TRANSVAGINAL FOLLICULAR ASPIRATION IN MARES

Abstract: The echinoculture stands out more and more in agribusiness. Consequently, the number of studies that aim at new techniques that associate technology with the genetic improvement of the species is increasing. In this sense, the technique of follicular aspiration via transvaginal ultrasound guided (TVA) stands out – a methodology used mainly in mares of high zootechnical value. This study aimed to carry out a literature review on content related to follicular aspiration in mares, addressing its entire process (from the anatomical particularities and follicular dynamics of the species to the collection of ovarian follicles). The review was carried out through the search for scientific publications published, mainly, in the last 5 years in the SCOPUS, Scielo, PubMed, Latindex and Google Scholar databases. The estrous cycle has an average duration of 21 to 22 days, divided into the follicular phase and the luteal phase. The follicular phase is responsible for preparing the mare's metabolism for fertilization and ends with ovulation. On the other hand, the luteal phase begins with the formation of the corpus luteum after ovulation, preparing the uterus for pregnancy. The follicular aspiration via transvaginal ultrasound guided arose from the need to improve the process of assisted reproduction in mares. This methodology uses an intravaginal loop, which is introduced into the vestibule to the side of the cervix and then the ovarian follicles are punctured, in which the follicular content is aspirated. Finally, it is noted the need for the professional who works with the TVA to correctly know the particularities of the reproductive system of the mares.

Keywords: estrous cycle; echinoculture; genetic improvement; Ovum pick up.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Vista frontal das estruturas reprodutivas da égua	14
Figura 2	Representação esquemática do ovário da égua	15
Figura 3	Vista sagital das estruturas reprodutivas da égua	15
Figura 4	Representação esquemática simplificada da regulação hormonal durante o ciclo estral da égua	19
Figura 5	Égua com comportamento de estro clássico	19
Figura 6	Componentes utilizados na técnica de aspiração folicular transvaginal via ultrassom. A: Aparelho de ultrassom. B: Alça OPU intravaginal. C: Bomba de vácuo	22
Figura 7	Detalhes de uma alça OPU intravaginal, mostrando as duas metades de encaixe e a cabeça do transdutor (A)	22
Figura 8	Detalhes de uma alça OPU intravaginal desmontada. a: metades de encaixe. b: transdutor. c: sistema de guia da agulha. d: copo de coleta de oócitos	23
Figura 9	Representação esquemática dos componentes da técnica de aspiração folicular transvaginal via ultrassom	24
Figura 10	Monitor de ultrassom durante uma TVA. A seta branca indica as linhas que auxiliam a posicionar a agulha	24
Figura 11	Representação esquemática da coleta e maturação de oócitos de diferentes populações foliculares	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
CCOs	Complexos <i>Cumulus oophorus</i>
cm	Centímetro
FIV	Fecundação <i>in vitro</i>
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
IA	Inseminação artificial
LH	Hormônio luteinizante
mm	Milímetro
DF	Folículo dominante
OF	Folículo ovulatório
OPU	<i>Ovum pick up</i>
TE	Transferência de Embriões
TVA	Aspiração folicular via transvaginal guiado por ultrassom

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	METODOLOGIA	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	Anatomia do sistema reprodutor das éguas	14
3.2	Fisiologia reprodutiva das éguas	17
3.2.1	<i>Maturidade sexual</i>	17
3.2.2	<i>Ciclo estral</i>	17
3.2.3	<i>Dinâmica folicular</i>	19
3.3	Aspiração folicular via transvaginal guiada por ultrassom	20
3.3.1	<i>Equipamentos utilizados</i>	22
3.3.2	<i>Obtenção de oócitos</i>	23
3.3.3	<i>Aspiração de folículos pré-ovulatórios</i>	27
3.3.4	<i>Aspiração de folículos imaturos</i>	28
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Desde sua domesticação, o cavalo sempre foi considerado um símbolo de status e poder, sendo usado em importantes eventos da história mundial. No Brasil, essa espécie exerceu e exerce uma significativa contribuição nas questões socioeconômicas, bem como nas questões políticas (LIMA et al., 2006). Inicialmente, o cavalo era exclusivamente utilizado como animal de tração e transporte, mas na atualidade é também utilizado em diversas atividades (BOSCATTI; ADELMAN, 2020).

A Equinocultura tem sido um setor de destaque no agronegócio brasileiro, tendo em vista gerar mais de 500 mil empregos de forma direta (LIMA; CINTRA, 2016; SASSI, 2019). Além disso, estima-se que o Complexo do Agronegócio do Cavalo no Brasil seja responsável por movimentar mais de 16 bilhões de reais anualmente (LIMA; CINTRA, 2016).

De um modo geral, aproximadamente 72% dos equinos são utilizados na pecuária, 19% na agricultura e o restante em outras atividades (LIMA; CINTRA, 2016), como a equoterapia, esporte e lazer. Diante dessa importância social e econômica dos equinos, a multiplicação de animais geneticamente superiores é fundamental para manutenção do status da equinocultura.

Nesse contexto, a utilização e o aperfeiçoamento de biotécnicas aplicadas à reprodução animal é importante para aprimorar tanto a compreensão dos eventos fisiológicos que regem a reprodução quanto para aumentar o número de descendentes de animais geneticamente superiores (RODRIGUES; BERTOLINI, 2019).

Os equinos foram a primeira espécie a ser submetida à Inseminação Artificial (IA), sendo uma técnica que já era relatada em livros do século XIV, na qual a coleta do sêmen era feita logo após a cobertura utilizando esponjas que eram introduzidas na vagina das éguas. No entanto, quando comparada com outras espécies, a melhoria da eficiência dessa técnica ocorreu mais lentamente nos equinos (GOMES; SENEDA, 2013; BERTOZZO et al., 2014).

O aprimoramento da Inseminação Artificial proporcionou vantagens para a equinocultura, como diminuir a possibilidade de transmissão de doenças venéreas, acelerar o melhoramento genético e reduzir o desgaste físico do garanhão (ESTÉVEZ et al., 2009). Atualmente, a IA utiliza o sêmen fresco, refrigerado e/ou criopreservado (FERREIRA-SILVA et al., 2018ab; FERREIRA et al., 2019; SALES et

35 al., 2019) e vem sendo substituída por outras biotécnicas, tais como a Transferência
36 de Embriões (TE) e, mais recentemente, a Fecundação *in vitro* (FIV).

37 A Transferência de Embriões é uma biotécnica limitada, em decorrência de
38 normalmente produzir um único embrião por coleta devido a anatomia do aparelho
39 reprodutor da égua (FERREIRA-SILVA et al., 2018, 2019; SALES et al., 2021;
40 AZEVEDO et al., 2021), que foi substituída pela FIV por permitir a produção de
41 vários embriões provenientes de oócitos coletados em um único procedimento
42 (MORRIS, 2018; SQUIRES, 2020).

43 A Fecundação *in vitro* é uma biotécnica capaz de acelerar o melhoramento
44 genético dos equinos, devido à maior capacidade de multiplicação do material
45 genético de machos e fêmeas de forma simultânea (SQUIRES, 2020). Entretanto,
46 apesar do seu potencial, a FIV em equinos ainda apresenta resultados inferiores aos
47 de outras espécies (VIANA, 2019; FERRÉ et al., 2020; SQUIRES, 2020; CLAES;
48 STOUT, 2022).

49 Outro método desenvolvido para promover o melhoramento genético da
50 espécie equina é a técnica de aspiração de folículos ovarianos, também denominada
51 de Ovum Pick-Up (OPU). Nesse método, os oócitos aspirados são levados ao
52 laboratório para serem avaliados, selecionados e submetidos a maturação *in vitro*.
53 Uma vez maturados, são submetidos a Injeção Intracitoplasmática de
54 Espermatozóides (ICSI) e após o desenvolvimento *in vitro*, os embriões são
55 depositados no útero das éguas receptoras (SQUIRES, 2020; CLAES; STOUT,
56 2022). Contudo, a utilização da aspiração folicular ovariana de forma rotineira ainda
57 apresenta algumas limitações relacionadas tanto aos aspectos fisiológicos dos
58 animais quanto à própria execução da técnica (SILVA RUA, 2016).

59 Objetivou-se realizar uma revisão de literatura sobre a aspiração folicular
60 ovariana de éguas, considerando as particularidades fisiológicas da espécie quanto
61 aquelas inerentes à técnica propriamente dita.

62

63

64

65

66

67

68

69 2 METODOLOGIA

70 Foi realizada uma revisão bibliográfica a partir da busca de artigos,
71 dissertações, teses, livros e artigos científicos publicados no período compreendido
72 entre janeiro de 2017 a setembro de 2022 – período escolhido por representar os
73 últimos 5 anos de publicações científicas. Entretanto, devido à dificuldade para
74 encontrar conteúdo mais atualizado sobre a temática, o intervalo foi ampliado, sendo
75 utilizados alguns trabalhos mais antigos.

76 Além disso, as buscas ocorreram por meio das bases de dados Google
77 Acadêmico, SCOPUS, Scielo, PubMed e Latindex, sempre a partir de diferentes
78 associações das seguintes palavras-chave: “éguas”, “dinâmica folicular”, “aspiração
79 folicular” e transvaginal”.

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

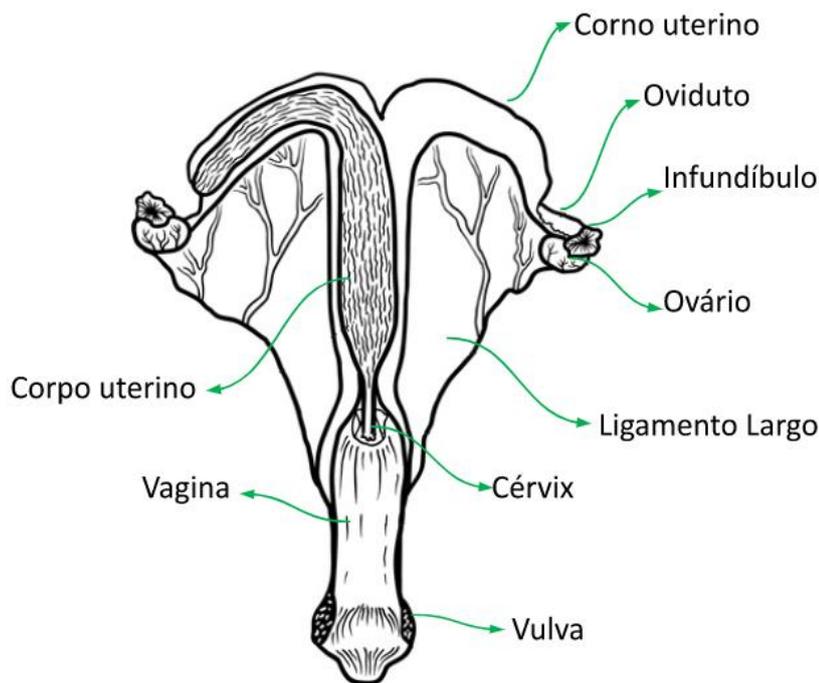
95

96 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

97 3.1 Anatomia do sistema reprodutor das éguas

98 Os equinos (*Equus ferus caballus*) possuem particularidades reprodutivas do
 99 gênero *Equus*, diferente dos suínos, ovinos e bovinos que têm a reprodução como
 100 sua principal aptidão. A anatomia do sistema reprodutor das fêmeas equinas,
 101 observada na Figura 1, é composta por: ovários (direito e esquerdo), ovidutos (direito
 102 e esquerdo), útero, cérvix uterina, vagina e vulva (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

103 **Figura 1.** Vista frontal das estruturas reprodutivas da égua.



104

105

Fonte: Adaptado de SENDEL, 2010.

106

107 Os ovários, responsáveis pela gametogênese e pela esteroidogênese,
 108 possuem uma fossa ovariana bem definida e uma incisura na borda unida,
 109 possuindo o formato de um feijão. As éguas apresentam ovários grandes em
 110 comparação a outros animais, podendo atingir 10 cm em sua base. Além disso, os
 111 folículos em maturação (Figura 2) localizam-se na fossa de ovulação (HAFEZ;
 112 HAFEZ, 2004; KONIG; LIEBICH, 2016).

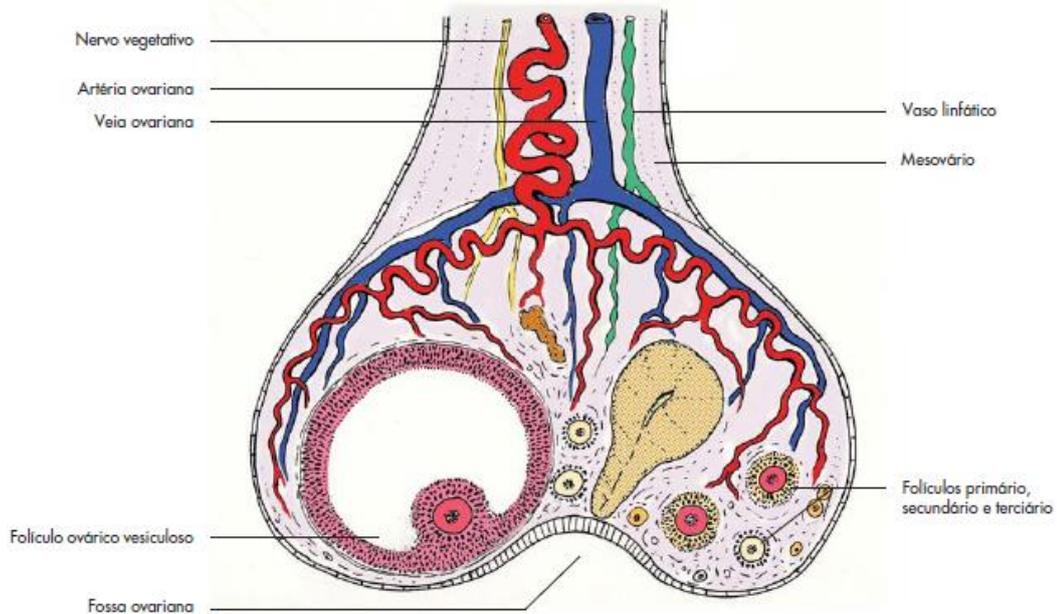
113

114

115

116
117

Figura 2. Representação esquemática do ovário da égua.



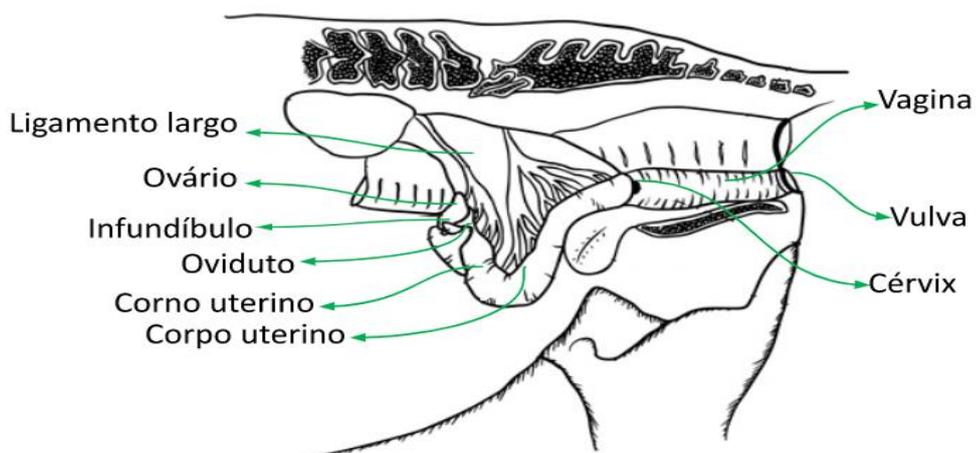
118
119
120

Fonte: KONIG; LIEBICH, 2016.

121 Os ovidutos (Figura 3) têm a função de captação dos oócitos durante a
122 ovulação da égua e são compostos pelas fímbrias, (que possuem formato de
123 franjas), infundíbulo (abertura abdominal próxima ao ovário, com formato de funil),
124 ampola (local no qual os oócitos são fertilizados) e istmo, que se comunica com o
125 útero por meio da junção útero tubárica (SÁ, 2017).

126

Figura 3. Vista sagital das estruturas reprodutivas da égua.



127
128
129

Fonte: Adaptado de SENDEL, 2010.

130 Do ponto de vista anômico, o útero é composto por três camadas, sendo
131 elas endométrio, miométrio e perimétrio. O endométrio é composto pela camada

132 mucosa e submucosa, o miométrio pela camada muscular e o perimétrio pela
133 camada serosa (KAINER, 2011; THOMPSON et al., 2020). O útero, além de produzir
134 substâncias hormonais, tem a função de transportar os espermatozoides até os
135 ovidutos (THOMPSON et al., 2020). É também responsável pelo desenvolvimento do
136 embrião até sua fixação, pela manutenção da gestação e pelas contrações
137 musculares necessárias para que ocorra o parto (BASTOS et al., 2019;
138 CAMOZZATO et al., 2019). A anatomia uterina pode variar de acordo com a raça,
139 idade e número de partos do animal (KAINER, 2011; CAMOZZATO et al., 2019;
140 THOMPSON et al., 2020).

141 A cérvix uterina, também denominada de colo do útero, apresenta paredes
142 grossas e protege o útero contra infecções provenientes do meio exterior. Possui
143 pregas mucosas em seu lúmen, é relativamente pequeno, mas palpável por via retal
144 (KÖNIG; LIEBICH, 2016; SÁ, 2017). Dentre suas principais características estão a
145 capacidade de rigidez, relaxamento e sua projeção proeminente em direção a
146 vagina, aspectos que são influenciados de acordo com a fase do ciclo estral
147 (SATUÉ; GORDON, 2020). O relaxamento ocorre normalmente durante estro,
148 facilitando a entrada dos espermatozoides. E no momento do parto para permitir
149 passagem do potro (FRANDSON et al., 2005; SÁ, 2017).

150 A vagina é elástica, de morfologia tubular, localizando-se entre a vulva e a
151 cérvix uterina. Seu segmento inicial é chamado de vestíbulo, no qual está localizado
152 o hímen (Figuras 1 e 3). Além disso, de acordo com as diferentes secreções
153 hormonais (e.g. estrógeno, progesterona, gonadotrofinas) e o status reprodutivo da
154 fêmea, ocorrem alterações da coloração e da umidade da vagina (HAFEZ; HAFEZ,
155 2004; DYCE, 2010).

156 A porção final do sistema reprodutor feminino é a vulva que é formada pelo
157 clitóris e lábios vulvares (Figuras 1 e 3). Devido a sua localização próxima ao ânus,
158 pode ocorrer o seu rompimento ou alargamento durante a passagem do potro. Além
159 disso, seu posicionamento impossibilita a entrada de possíveis patógenos que
160 possam gerar complicações à saúde do animal (THOMASSIAN, 2005; KÖNIG;
161 LIEBICH, 2016).

162 Por fim, os órgãos internos da espécie equina são sustentados pelo ligamento
163 largo, sendo dividido conforme o órgão que suspende em mesovário, mesossalpinge
164 e mesométrio. O mesovário auxilia na sustentação dos ovários, os ovidutos são

165 sustentados pelo mesossalpinge e o mesométrio sustenta o útero (HAFEZ; HAFEZ,
166 2004; KÖNIG; LIEBICH, 2016).

167

168 **3.2 Fisiologia reprodutiva das éguas**

169 *3.2.1 Maturidade sexual*

170 A maturidade sexual das fêmeas equinas pode ocorrer entre 12 e 18 meses,
171 mas pode variar de acordo com cada animal e ainda levando em consideração peso,
172 raça e genética. Além disso, o início da maturidade não viabiliza o uso de animais
173 jovens para reprodução. Por exemplo, potras jovens, embora já tenham capacidade
174 de gestar, têm grande probabilidade de apresentar insucesso quando comparadas
175 com éguas mais velhas (BUSATO et al., 2017).

176

177 *3.2.2 Ciclo estral*

178 O intervalo entre duas ovulações consecutivas é chamado de ciclo estral. É o
179 período em que as éguas estão mais receptivas à monta e com as melhores
180 condições para concepção (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Os equinos são animais
181 poliéstricos estacionais de dias longos, assim sendo, apresentam vários cios em
182 uma mesma época do ano. Isso ocorre por serem animais sazonais que têm como
183 uma de suas características reprodutivas a influência total do fotoperíodo para início
184 do ciclo estral (SILVA et al., 2020).

185 O fotoperíodo tem um papel muito importante na reprodução equina, uma vez
186 que está relacionado com o tempo de duração da luz diária. Se longo, estimula a
187 maior frequência de estro e, se curto, diminui a frequência (GINTHER et al., 1992).
188 Nas éguas, o aumento da exposição à melatonina inibe a secreção do hormônio
189 liberador de gonadotrofina (GnRH) pelo hipotálamo – tendo efeito de depressão nos
190 ovários. Nesse sentido, a melatonina desempenha uma importante função na
191 reprodução das espécies de animais que acasalam durante a primavera e o verão,
192 pois é secretada pela glândula pineal exclusivamente durante a noite (ROCHA et al.,
193 2011).

194 Por outro lado, no caso dos fotorreceptores oculares presentes nas éguas
195 perceberem estímulos luminosos que indiquem o aumento da duração do dia, a
196 informação é transmitida neurologicamente para a glândula pineal, que rapidamente
197 inibe a produção e a secreção da melatonina (Figura 4). Em seguida, ocorre a

198 liberação do GnRH pelo hipotálamo para estimular a liberação do hormônio folículo
199 estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) pela adeno-hipófise com a.
200 consequente ovulação e posterior formação de corpo lúteo (GINTHER et al., 1992;
201 ROCHA, 2014; BETTENCOURT et al., 2018).

202 Em geral, o ciclo estral tem duração média de 21 a 22 dias. Desses,
203 aproximadamente de 4 a 7 dias compreendem a fase de estro e de 14 a 15 dias
204 compreendem a fase de diestro (BRINSKO et al., 2011). O ciclo estral, controlado
205 por ação de hormônios, é dividido em duas fases principais, sendo uma folicular
206 (estro) e uma luteínica (diestro).

207 A fase folicular é a responsável pela aceitação do garanhão por parte da égua
208 e pela preparação dos órgãos genitais para o recebimento dos espermatozoides,
209 sendo finalizada com a ovulação. Nessa fase, a égua adota o comportamento de
210 estro clássico, no qual ocorre a postura de micção de cócoras com as pernas
211 abertas e a cauda levantada (Figura 5).

212 Por outro lado, a fase lútea está relacionada com a não aceitação do
213 garanhão por parte da égua e tem início com a formação do corpo lúteo após a
214 ovulação. O corpo lúteo é uma glândula endócrina que se desenvolve no ovário,
215 sendo responsável pela secreção de progesterona. Os níveis de progesterona
216 aumentam depois de 24 a 48 horas desde a última ovulação e atingem seus valores
217 máximos por volta do quinto dia do ciclo, favorecendo a receptividade endometrial
218 para a implantação embrionária e estabelecimento da prenhez. Além disso, a
219 progesterona tem o papel de fornecer o feedback negativo sobre o GnRH, tendo
220 como consequência a inibição da liberação de LH e FSH pela hipófise (SILVA et al.,
221 2020; SANTANA, 2021).

222 No final do ciclo estral ocorre a luteólise, período em que há uma redução
223 drástica nos níveis de progesterona associada a secreção endometrial da
224 prostaglandina. Assim sendo, é provocado o aumento da liberação de FSH e LH –
225 iniciando-se mais um ciclo em que a égua é capaz de conceber o embrião
226 (CORTÉS-VIDAURI et al., 2018).

227

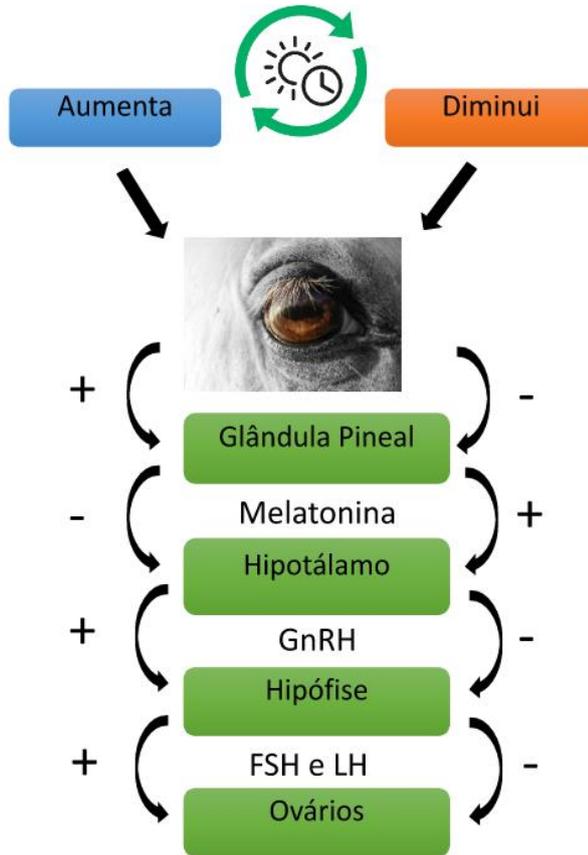
228

229

230

231

232 **Figura 4.** Representação esquemática simplificada da regulação hormonal durante o ciclo estra



233
234
235
236
237

Fonte: Adaptado de BRINSKO et al., 2011.

Figura 5. Égua com comportamento de estro clássico.



238
239
240
241
242
243
244

Fonte: Horses extension, 2020.

3.2.3 Dinâmica folicular

245 O processo de crescimento contínuo e de diminuição do tamanho folicular que
246 acontece dentro dos ovários equinos é chamado de dinâmica folicular e está ligado a

247 diversos fatores externos, como a temperatura do local onde esses animais se
248 encontram, fotoperíodo, estresse e o tipo de nutrição fornecida (GURGEL et al.,
249 2008).

250 Os folículos antrais crescem e regridem durante o ciclo estral por meio de
251 ondas foliculares. Alguns desses folículos podem, posteriormente, se tornar em
252 folículos ovulatórios, processo que desperta o interesse da comunidade científica
253 desde a década de 1960 (GINTHER et al., 2004).

254 As ondas foliculares são classificadas em ondas maiores e ondas menores,
255 ambas ocorrendo durante os intervalos inter-ovulatórios. Especificadamente, nas
256 ondas maiores, um dos folículos consegue atingir tamanho ≥ 28 mm e passa a ser
257 chamado de folículo dominante. Além disso, esse folículo dominante pode regredir
258 por meio da onda anovulatória principal, ou ovular, processo que ocorre por meio da
259 onda ovulatória. Por outro lado, as ondas menores costumam chegar, em média, a
260 um tamanho máximo de 23 mm. Assim sendo, nem mesmo o maior dos folículos não
261 consegue atingir o diâmetro necessário para tornar-se dominante (GINTHER et al.,
262 2004; SILVA, 2019).

263 A emergência dos folículos é estimulada por uma onda de FSH que alcança
264 um pico quando os folículos atingem 13 mm. Alguns dias depois, os folículos
265 passam pelo processo chamado de desvio, no qual ocorre o crescimento do maior
266 folículo (que se torna dominante) e a redução ou o fim do crescimento dos folículos
267 restantes (que se tornam subordinados). Nessa fase da dinâmica folicular, os dois
268 maiores folículos atingem cerca 22 e 19 mm de diâmetro (OLIVEIRA et al., 2010).

269 A redução do segundo maior folículo e dos folículos subordinados ocorre
270 devido ao maior folículo ser capaz de responder tanto a menores concentrações de
271 FSH quanto de conseguir suprimir a concentração de FSH na circulação – fazendo
272 com que esta atinja níveis inferiores àqueles necessários para o crescimento dos
273 folículos menores (OLIVEIRA et al., 2010).

274 Por fim, os folículos dominantes crescem, em média, 3 mm por dia, chegando
275 a medir 41 mm (GINTHER et al., 2008).

276

277 **3.3 Aspiração folicular via transvaginal guiada por ultrassom**

278 A maior utilização das biotécnicas aplicadas à reprodução em equinos tem
279 contribuído para a multiplicação de animais com genética superior. Nesse contexto,

280 diversos métodos e ferramentas têm sido utilizados com o objetivo de mitigar as
281 dificuldades relacionadas com as particularidades anatômicas e fisiológicas da
282 espécie, tais como influência do fotoperíodo e resposta à superovulação (KLOKNER,
283 2017).

284 Dentre essas ferramentas, encontra-se a aspiração folicular transvaginal
285 (“*ovum pick up*” - OPU), que surgiu inicialmente com o intuito de recuperar oócitos
286 em mulheres, posteriormente adaptada para bovinos e mais recentemente para
287 equinos. Essa técnica de reprodução assistida tem sido utilizada por ser um método
288 confiável e minimamente invasivo para coletar oócitos (imaturos) de doadoras
289 geneticamente valiosas (BOLS; STOUT, 2018; LAZZARI et al., 2020).

290 A aspiração folicular foi utilizada pela primeira vez em éguas por Brück et al.
291 (1992) objetivando encontrar uma técnica que permitisse a eficiente recuperação de
292 oócitos para o processo de produção *in vitro* de embriões. Esses pesquisadores
293 recuperaram um oócito de quatro folículos aspirados, mesmo assim destacaram os
294 benefícios da aspiração folicular por ser rápida, precisa, descomplicada e incapaz de
295 gerar traumas no animal. Esse relato contribuiu para que a comunidade científica
296 buscassem aprimorar a técnica visando melhorar a recuperação de oócitos
297 (PIETERSE et al., 1988; BRÜCK et al., 1992; KÇOKNER, 2017; HINRICHS, 2018).

298 A recuperação de oócitos utilizando a técnica de aspiração folicular é indicada
299 para éguas inférteis, subférteis ou que não respondem adequadamente a
300 inseminação artificial devido apresentarem problemas reprodutivos, como piometra,
301 endometrites, aderência uterina, ou ainda em éguas velhas (HINRICHS, 2018;
302 LAZZARI et al., 2020; GASTAL et al., 2020; BRISKI; SALAMONE, 2022). Além
303 disso, éguas em competição também são comumente submetidas à aspiração
304 folicular ovariana, uma vez que o tempo necessário para aspirar os folículos (cerca
305 de 1h) não compromete a prática esportiva (CUERVO-ARANGO, 2018).

306 Por fim, dada sua importância, a aspiração folicular ovariana transvaginal
307 guiada por ultrassom é a base para outras técnicas utilizadas na clínica de equinos
308 (Figura 11), como a transferência de oócitos e a fecundação *in vitro* por injeção
309 intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

310

311

312

313

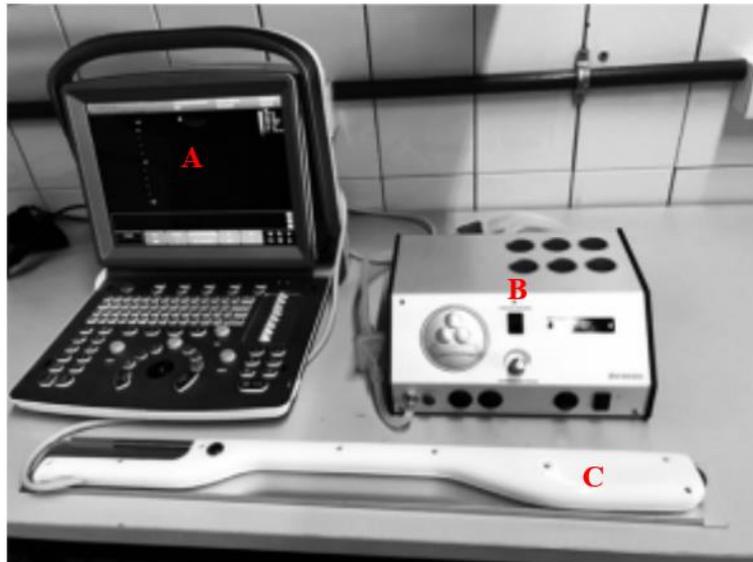
314 3.3.1 Equipamentos utilizados

315 Em geral, a aspiração folicular ovariana transvaginal guiada por ultrassom
 316 ocorre por meio de um sistema com três componentes principais:

- 317 1) Aparelho de ultrassom com transdutor (Figura 6);
 318 2) Alça OPU intravaginal (Figura 7 e 8);
 319 3) Bomba de vácuo para aspiração (Figura 6).

320
 321
 322
 323

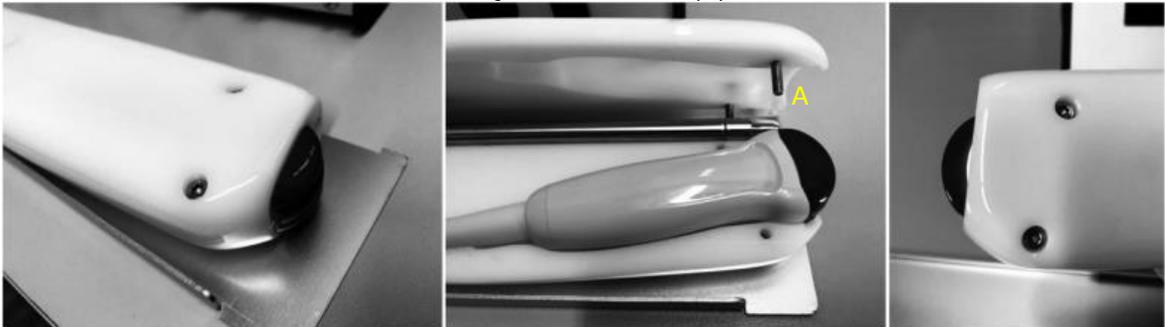
Figura 6. Componentes utilizados na técnica de aspiração folicular transvaginal via ultrassom. A: Aparelho de ultrassom. B: Bomba de vácuo, C: Alça OPU intravaginal.



324
 325
 326
 327
 328
 329

Fonte: Sansinema, 2020.

Figura 7. Detalhes de uma alça OPU intravaginal, mostrando as duas metades de encaixe e a cabeça do transdutor (A).



330
 331
 332
 333
 334
 335
 336
 337
 338
 339
 340

Fonte: Sansinema, 2020.

341
342

Figura 8. Detalhes de uma alça OPU intravaginal desmontada. a: metades de encaixe. b: transdutor. c: sistema de guia da agulha. d: copo de coleta de oócitos.



343
344
345

Fonte: Bols; Stout, 2018.

346 Para realização da aspiração, um transdutor é acoplado ao aparelho de
347 ultrassom para permitir a visualização dos folículos ovarianos através da parede
348 vaginal. É utilizada uma sonda metálica de duas vias e uma alça OPU intravaginal
349 que abriga o transdutor e o sistema de guia da agulha, a qual é composta pela
350 agulha de punção, equipo, copo coletor e bomba de vácuo (RODRIGUES, 2006;
351 SANSINEMA, 2020).

352

353 3.3.2 Obtenção de oócitos

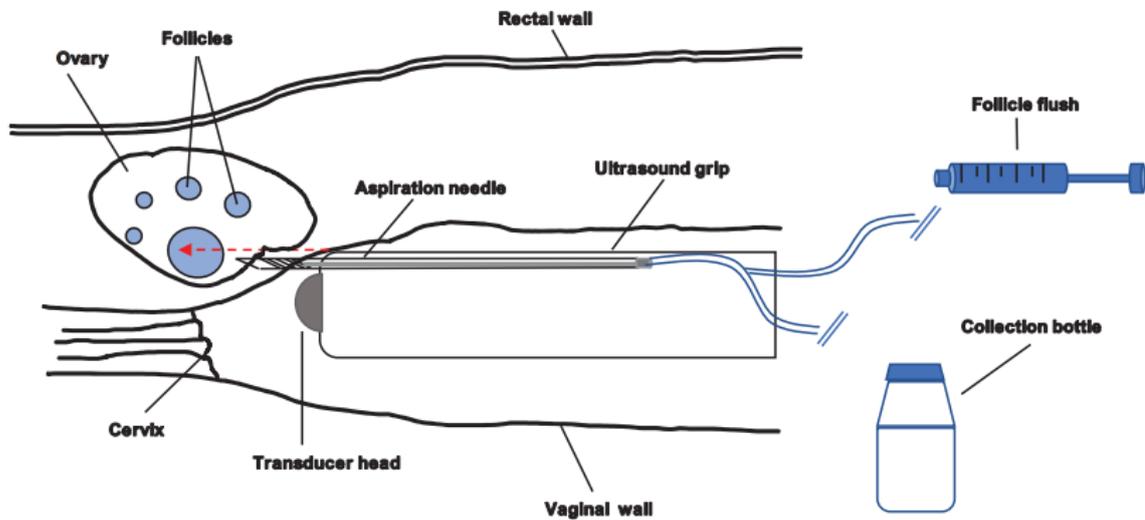
354 A aspiração dos folículos ovarianos é efetuada após a égua ser posicionada
355 em um tronco de contenção para permitir que esse procedimento seja realizado com
356 segurança tanto para o operador quanto para o próprio animal. Imediatamente após
357 a contenção e visando o bem-estar animal, é realizada a sedação e administração
358 da pré-medicação com anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), antibióticos de
359 amplo espectro e espasmolíticos ou anestesia epidural (RODRIGUES, 2006;
360 CUERVO-ARANGO, 2018).

361 Em seguida, é feita a lavagem da região perineal e da vulva, seguida da
362 introdução da alça OPU intravaginal no vestibulo até a parte lateral da cérvix, no

363 f3rnix vaginal ipsilateral ao ov3rio a ser puncionado, conforme pode ser observado
 364 na Figura 9 (CUERVO-ARANGO, 2018; MANICA, 2021).

365

366 **Figura 9.** Representa33o esquem3tica dos componentes da t3cnica de aspira33o folicular
 367 transvaginal via ultrassom.



368

369

370

371

372

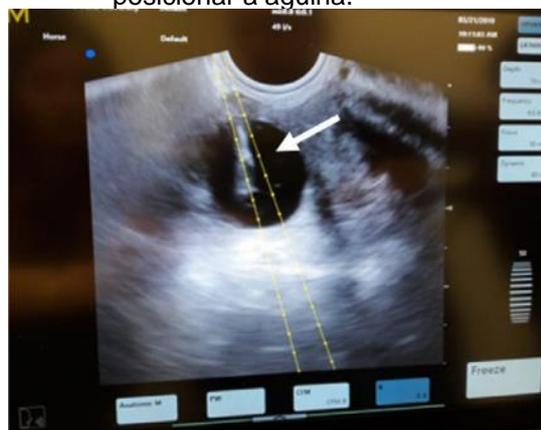
373

Fonte: Sansinema, 2020.

374 O pr3ximo passo 3e realizar a pun33o dos fol3culos ovarianos e, para isso, os
 375 softwares mais modernos j3 t3m linhas de refer3ncia que auxiliam no
 376 direcionamento da agulha de duplo l3men (12G – 15G) no momento da pun33o dos
 377 fol3culos (Figura 10).

377

378 **Figura 10.** Monitor de ultrassom durante uma TVA. A seta branca indica as linhas que auxiliam a
 379 posicionar a agulha.



380

381

382

383

Fonte: Sansinema, 2020.

384 A agulha é usada para perfurar o folículo quando o sistema é submetido à
385 pressão negativa, uma vez que a agulha é conectada a uma bomba de vácuo
386 usando tubos estéreis de teflon ou silicone. Para isso, é necessário que a agulha
387 possua duplo lúmen, sendo o lúmen interno para aspiração e o lúmen externo para
388 lavagem. Essa associação de procedimentos é capaz de alcançar uma taxa de
389 recuperação oocitária maior do que 50% (MARQUES, 2022). Assim sendo, quando
390 aciona-se a bomba é produzida uma pressão negativa na ponta da agulha e o
391 conteúdo folicular aspirado é coletado em um recipiente estéril chamado de copo
392 coletor (SANSINEMA, 2020).

393 A pressão a vácuo deve ser suficiente para aspirar 20 ml/minuto – podendo
394 essa taxa ser ajustada de acordo com características individuais da égua, tais como
395 estado de maturação do oócito (BOLS; STOUT, 2018; CUERVO-ARANGO, 2018;
396 MANICA, 2021; SANSINEMA, 2020). Os folículos com tamanho entre 5 e 10 mm são
397 lavados (flushing) com 1 ml de um meio específico para OPU (e.g. solução DPBS)
398 que contenha heparina (evita a formação de coágulos e facilita o isolamento dos
399 oócitos) e antibiótico; enquanto os folículos de maior tamanho são lavados com até 5
400 ml do mesmo meio. Deste modo, o volume total de meio utilizado costuma ser entre
401 300 e 600 ml e varia de acordo com o número de folículos aspirados e o número de
402 lavagens feitas por folículo (CUERVO-ARANGO, 2018; MANICA, 2021).

403 Além disso, o índice de recuperação de oócitos nos equinos é diretamente
404 relacionado com os chamados Complexos *Cumulus oophorus* (CCOs), uma vez que
405 nessa espécie os CCOs ficam aderidos fortemente à parede dos folículos,
406 dificultando o recolhimento dos oócitos durante o processo de aspiração folicular. A
407 taxa de recuperação é ainda afetada por algumas particularidades das éguas, tais
408 como a necessidade de incisão de folículos, de raspagem da parede do folículo e de
409 lavagem extensa para desprender os COCs. Todas essas características da espécie
410 equina resultam em um maior tempo de duração da aspiração e/ou do número de
411 profissionais atuando no procedimento (CURCIO et al., 2006; SANSINEMA, 2020).

412 Nesse sentido, juntamente com a lavagem, é necessário escarificar
413 cuidadosamente a parede do folículo para que os CCOs sejam corretamente
414 desprendidos. Adicionalmente, devem ser feitas lavagens repetidas (entre 5 e 10
415 vezes) dentro de cada folículo (BOLS; STOUT, 2018; CUERVO-ARANGO, 2018;
416 MANICA, 2021; SANSINEMA, 2020). O procedimento costuma durar entre 20 e 60

417 minutos para ser finalizado, dependendo das particularidades da égua e da equipe
418 profissional presente (CUERVO-ARANGO, 2018).

419 Outros fatores também podem interferir na taxa de recuperação oocitária, tal
420 como o tamanho da agulha. Por exemplo, Galli et al. (2007) relatam que uma agulha
421 de duplo lúmen e com 15 polegadas tem taxa de recuperação de 38%, enquanto
422 uma agulha de lúmen duplo de calibre 12 tem taxa de recuperação de 48%.

423 Além disso, é importante atentar para o fato de que existem bactérias no
424 vestíbulo, podendo ocorrer a contaminação da égua doadora, uma vez que esta é
425 uma região em que a agulha transita constantemente durante a aspiração. Para
426 tentar contornar essa problemática, há quem tente “esterilizar” a vagina com
427 betadina diluída, porém, esse antimicrobiano é tóxico para os oócitos e não deve ser
428 utilizado (HINRICHS, 2018).

429 A frequência com que as éguas podem ser submetidas ao processo de
430 aspiração dos folículos ovarianos depende das características individuais de cada
431 animal. Por exemplo, algumas éguas chegam a produzir muitos folículos entre 10 e
432 14 dias após o procedimento, enquanto outras éguas retornam à produção de
433 folículos apenas 2 meses depois. Assim sendo, cada equipe profissional deve
434 estabelecer, baseado em sua taxa de recuperação de oócitos, um número mínimo
435 de folículos antrais produzidos para que a égua passe novamente pela aspiração
436 folicular (CUERVO-ARANGO, 2018).

437 Nesse contexto, existem duas possibilidades para a efetiva coleta dos oócitos,
438 podendo ser a aspiração de folículos pré-ovulatórios ou a aspiração de folículos
439 imaturos nos ovários (Figura 11). Destaca-se que o oócito maduro é aquele que
440 atingiu a metáfase II durante a meiose, fase na qual os cromossomos atingem seu
441 maior grau de condensação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2012; HINRICHS, 2018).

442

443

444

445

446

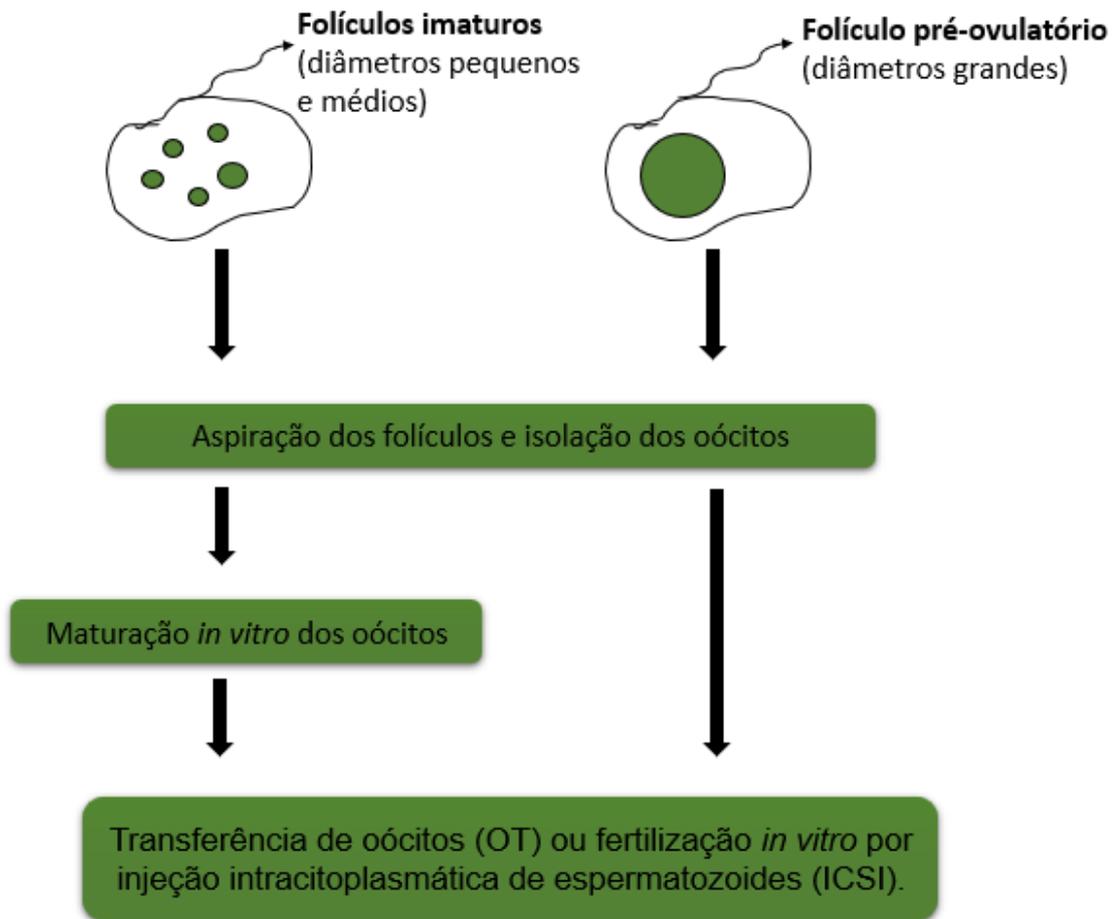
447

448

449

450
451

Figura 11. Representação esquemática da coleta e maturação de oócitos de diferentes populações foliculares.



452
453
454

Fonte: Adaptado de Sansinema, 2020.

455 3.3.3 Aspiração de folículos pré-ovulatórios

456 A coleta dos oócitos encontrados nos folículos pré-ovulatórios, também
457 chamados de folículos dominantes e estimulados para recuperar oócitos maturados
458 *in vivo* imediatamente antes de ovular, apenas deve ocorrer quando o folículo atingir
459 o tamanho mínimo de 35 mm de diâmetro e após a aplicação da injeção de
460 Gonadotrofina Coriônica Humana que tem efeito semelhante ao hormônio
461 luteinizante (FARIAS et al., 2014; GALLI et al., 2014).

462 Especificamente, a aspiração deve ser realizada quando o folículo já tiver
463 respondido à gonadotrofina (quando ocorrer a expansão do cumulus do oócito e o
464 complexo cumulus-oócito estiver destacado da parede do folículo), porém, ainda
465 antes do início da ovulação, o que normalmente compreende o período de 24 a 35
466 horas após aplicação da injeção da Gonadotrofina Coriônica Humana (HINRICHS,
467 2018).

468 A agulha é guiada por um canal dentro da sonda de ultrassom. Chega-se ao
469 ovário por meio do reto e fixa-se o ovário do lado peritoneal da parede vaginal.
470 Finalmente, a agulha percorre a parede vaginal (passando pelo peritônio até o
471 ovário) em busca do folículo, no qual serão aspirados os oócitos (CUERVO-
472 ARANGO, 2018).

473 Dentre as vantagens dessa técnica, está o fato de que os oócitos já se
474 encontram na metáfase II, o grande tamanho folicular e a alta taxa de recuperação
475 de oócitos, que já demonstrou chegar a 80%. Além disso, oócitos recuperados da
476 aspiração de folículos dominantes estimulados são altamente capazes de produzir
477 embriões viáveis, tendo estudos que demonstraram uma taxa de 70% de
478 blastocistos por oócito proveniente da aspiração de folículos dominantes estimulado
479 *versus* 30% de blastocistos por oócito maturado *in vitro* (FOSS et al., 2013; BRIOTE,
480 2022).

481

482 3.3.4 Aspiração de folículos imaturos

483 Na maioria dos casos, a aspiração dos folículos ainda imaturos é mais eficaz
484 para a recuperação de oócitos. Em geral, nesse método são aspirados todos os
485 folículos do ovário com diâmetro entre 5 e 8 mm (HINRICHS et al., 2018).

486 Diferente dos folículos pré-ovulatórios, os oócitos imaturos estão na prófase, a
487 primeira fase da meiose. A prófase é considerada uma "fase de repouso", na qual os
488 oócitos podem ser manipulados à temperatura ambiente, por até duas noites, sem
489 que ocorra efeito sobre a viabilidade ou desenvolvimento do futuro blastocisto.
490 Nesse sentido, essa técnica permite que o ICSI seja realizado com maior período de
491 tempo após a aspiração folicular (FOSS et al., 2013; HINRICHS et al., 2018).

492 Dentre as principais vantagens da aspiração de folículos ovarianos, está o
493 fato de que esse tipo de aspiração pode ocorrer durante todo o ano, uma vez que as
494 éguas também são capazes de produzir folículos na época não reprodutiva, ainda
495 que possuam tamanhos menores (CHOI et al., 2016; HINRICHS et al., 2018).

496 Jacobson et al. (2010) observaram outra grande vantagem da aspiração de
497 folículos imaturos a cada aspiração cerca de 1 blastocisto foi desenvolvido,
498 enquanto a aspiração de folículos dominantes estimulados teve cerca de 0,33
499 blastocisto por aspiração realizada.

500 Além disso, as éguas que passarão pelo processo de aspiração de folículos
501 imaturos não precisam ter seu crescimento folicular monitorado tão intensamente
502 quanto aquelas éguas que serão submetidas a aspiração de folículos pré-ovulatórios
503 (SANSINEMA, 2020).

504 Por outro lado, a desvantagem desse método é que os folículos imaturos são
505 menores, portanto, mais difíceis de serem puncionados pela pequena agulha. Além
506 disso, o *cumulus* ainda não se expandiu e o complexo *cumulus oophorus* é mais
507 firmemente aderido à parede do folículo, quando comparado com os folículos pré-
508 ovulatórios, reduzindo a taxa de coleta de oócitos (MANICA, 2021).

509 Por fim, nota-se a importância da aplicação de biotécnicas aplicadas à
510 reprodução para o melhoramento genético de equinos, uma vez que a utilização
511 dessas tecnologias gera o aumento dos índices zootécnicos, aumento da produção
512 animal, redução dos intervalos entre gerações, auxílio no controle de doenças,
513 dentre outros benefícios (ZAMAI et al., 2019; MACIEL, 2020).

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529 **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

530 A aspiração folicular ovariana por via transvaginal guiada por ultrassom é uma
531 técnica versátil que pode ser utilizada em éguas inférteis, subférteis, que
532 apresentarem problemas reprodutivos adquiridos ou mesmo fêmeas que estejam em
533 competição. A utilização dessa técnica é capaz de melhorar a eficiência reprodutiva
534 na espécie equina. No entanto, faz-se necessário que o profissional conheça a
535 anatomia e a fisiologia do sistema reprodutor das éguas, para que seja possível
536 realizar o correto acompanhamento da dinâmica folicular e a escolha do melhor
537 momento para aspiração dos folículos ovarianos. O aperfeiçoamento dessa técnica
538 permitirá o aumento do número de oócitos recuperados com consequente aumento
539 do número de embriões provenientes da produção in vitro. Finalmente, faz-se
540 necessário ressaltar que esses avanços tecnológicos deverão contribuir para uma
541 equinocultura mais eficiente por acelerar o melhoramento genético na espécie
542 equina.

543

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

556

557 **REFERÊNCIAS**

558

559 AZEVEDO, M. V et al. Evaluation of corpus luteum vascularization in recipient mares
560 by using color doppler ultrasound. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 49, 2021.

561

562 BASTOS, H. B. A. et al. Proteomic profile of histotroph during early embryo
563 development in mares. **Theriogenology**, v. 125, p. 224-235, 2019.

564

565 BETTENCOURT, E. M. V. et al. **Reprodução em equinos**: manual prático.
566 Universidade de Évora, 2018.

567

568 BERTOZZO, B. R. et al. Vantagens e desafios das biotécnicas avançadas utilizadas
569 na reprodução equina assistida. *B. Industr. Anim.*, p. 84-93, 2014.

570

571 BOLS, P. E. J.; STOUT, T. A. E. Transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval
572 (OPU: Ovum Pick-Up) in cows and mares. *In: ANIMAL biotechnology 1*. Springer,
573 2018. Cham. p. 209-233.

574

575 BOSCATTI, A. P.; ADELMAN, M. De cavalos e homens: história, poder, estratégias
576 e representações. **Estudos de Sociologia**, v. 25, n. 49, 2020.

577

578 BRINSKO, S. P. et al. **Manual of equine reproduction**. Elsevier Health Sciences,
579 2011.

580

581 BRISKI, O.; SALAMONE, D. F. Past, present and future of ICSI in livestock species.
582 **Animal Reproduction Science**. 2022. p. 106-925.

583

584 BRÜCK, I. et al. Follicle aspiration in the mare using a transvaginal ultrasound-
585 guided technique. **Equine veterinary journal**, v. 24, n. 1, p. 58-59, 1992.

586

587 BUSATO, E. M. et al. Fisiologia reprodutiva do equino. **Biotechnologia da**
588 **Reprodução em Animais de Fazenda**, p. 3-4, 2017.

589

590 CAMOZZATO, G. C. et al. Ultrastructural and histological characteristics of the
591 endometrium during early embryo development in mares. **Theriogenology**, v. 123, p.
592 1-10, 2019.

593

594 CLAES, A.; STOUT, T. A. E. Success rate in a clinical equine in vitro embryo
595 production program. **Theriogenology**, 2022.

596

597 CORTÉS-VIDAURI, Z. et al. Mare reproductive cycle: a review. **Abanico**
598 **Veterinário**, v. 8, n. 3, p. 14-41, 2018.

599

600 CUERVO-ARANGO, J. Aspiração folicular em éguas. **CONGRESSO REPROLAB**
601 **DE REPRODUÇÃO EQUINA**, 1., Porto Alegre, 2018.

602

603 CURCIO, B. R. et al. Recuperação de oócitos eqüinos com *Cumulus oophorus*
604 compacto por curetagem da parede folicular. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4,
605 p. 417-422, 2006.

- 606
607 DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária.**
608 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2010.
- 609
610 ESTÉVEZ, A. V.; GARCIA, A. M.; GISPERT, M. B. **Inseminación artificial en**
611 **caballos.** 2009.
- 612
613 FARIAS, L. D. et al. Indução da ovulação em éguas: uma revisão. **R. Bras. Reprod.**
614 **Anim.**, p. 17-21, 2016.
- 615
616 FERRÉ, L. B. et al. Recent advances in bovine in vitro embryo production:
617 reproductive biotechnology history and methods. **Animal**, v. 14, n. 5, p. 991-1004,
618 2020.
- 619
620 FERREIRA, H. N. et al. Functional assessment of diluent choice for semen
621 cryopreservation from stallions with high and low freezability. **Acta Scientiae**
622 **Veterinariae**, v. 47, n. 1, 2019.
- 623
624 FERREIRA-SILVA, J. C. et al. Evaluation of embryo collection and transfer days on
625 pregnancy rate of Mangalarga Marchador mares during the breeding season.
626 **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 32, n. 3, p. 214-220, 2019.
- 627
628 FERREIRA-SILVA, J. C. et al. Freezing of stallion semen: *i-in vitro* evaluation of
629 motility and acrosin activity in sperm cells cryopreserved under different glycerol
630 concentrations. **Pferdeheilkunde**, v. 34, n. 1, p. 51-56, 2018a.
- 631
632 FERREIRA-SILVA, J. C. et al. Freezing of stallion semen: *in vitro* evaluation of
633 motility and acrosin activity in sperm cells cryopreserved using different semen
634 extenders. **Biopreservation and Biobanking**, v. 16, n. 6, p. 439-443, 2018b.
- 635
636 FERREIRA-SILVA, J. C. et al. Induction of ovulation in Mangalarga Marchador Mares
637 by hCG or GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1, p. 6, 2018.
- 638
639 FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomia e fisiologia dos animais**
640 **de fazenda.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- 641
642 GALLI, C. et al. Ovum pick up, intracytoplasmic sperm injection and somatic cell
643 nuclear transfer in cattle, buffalo and horses: from the research laboratory to clinical
644 practice. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p. 138-151, 2014.
- 645
646 GASTAL, E. L. et al. Harvesting, processing, and evaluation of in vitro-manipulated
647 equine preantral follicles: a review. **Theriogenology**, v. 156, p. 283-295, 2020.
- 648
649 GINTHER, O. J. et al. Dynamics of the equine preovulatory follicle and periovulatory
650 hormones: what's new?. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 8, p. 454-
651 460, 2008.
- 652
653 GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R. Associations between FSH concentrations and
654 major and minor follicular waves in pregnant mares. **Theriogenology**, v. 38, n. 5, p.
655 807-821, 1992.

- 656
657 GINTHER, O. J. et al. Follicle dynamics and selection in mares. **Animal**
658 **Reproduction (AR)**, v. 1, n. 1, p. 45-63, 2018.
- 659
660 GOMES, R. G.; SENEDA, M. M. Transporte e armazenamento de tecido ovariano
661 equino para utilização em biotécnicas reprodutivas. **Revista Brasileira de**
662 **Reprodução Animal**, v. 37, n. 4, p. 318-322, 2013.
- 663
664 GURGEL, J. et al. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. **Rev. Bras.**
665 **Reprod. Anim.**, v. 32, n. 2, p. 122-132, 2008.
- 666
667 HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004.
668 p. 13-193.
- 669
670 HANSEN, P. J. Photoperiodic regulation of reproduction in mammals breeding during
671 long days versus mammals breeding during short days. **Animal Reproduction**
672 **Science**, v. 9, n. 4, p. 301-315, 1985.
- 673
674 HINRICHS, K. Assisted reproductive techniques in mares. **Reproduction in**
675 **Domestic Animals**, v. 53, p. 4-13, 2018.
- 676
677 JACOBSON, C. C.; CHOI, Y. H.; HAYDEN, S. S.; HINRICHS, K. Recovery of mare
678 oocytes on a fixed biweekly schedule, and resulting blastocyst formation after
679 intracytoplasmic sperm injection. **Theriogenology**, 73, 1116–1126. 2010.
- 680
681 JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 9. ed. Rio de
682 Janeiro: Guanabara Koogam, 2012.
- 683
684 KAINER, R. A. Internal reproductive anatomy. *In*: ANGUS, O.; MCKINNON, A.O.;
685 SQUIRES, E.L. et al. **Equine reproduction**. 2nd. [S. I.]: Blackwell Publishing Ltd.,
686 2011. p.1582- 1597.
- 687
688 KLOKNER, J. D. L. S. et al. Aspiração folicular via transvaginal em éguas guiado por
689 ultrassom: efeitos da sincronização das ondas foliculares. ENCONTRO
690 INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, 10. Maringá, 2017.
- 691
692 KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**: texto e atlas
693 colorido. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- 694
695 LAZZARI, G. et al. Laboratory production of equine embryos. **Journal of Equine**
696 **Veterinary Science**, v. 89, p. 103097, 2020.
- 697
698 LIMA, R. A. S.; CINTRA, A. G. **Revisão do estudo do complexo do agronegócio**
699 **do cavalo**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA),
700 2016.
- 701
702 MACIEL, J. T. **Sincronização da onda ovulatória por meio de aspiração folicular**
703 **e tratamento com o GnRH**. 2020. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-
704 Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
705 2020.

- 706
707 MANICA, B. **Relatório de estágio curricular obrigatório: área de reprodução**
708 **equina.** 2021. Relatório de estágio (Bacharelado em Medicina Veterinária) –
709 Universidade de Caxias do Sul, 2021.
710
- 711 MORRIS, L. H. A. The development of in vitro embryo production in the horse.
712 **Equine Veterinary Journal**, v. 50, n. 6, p. 712-720, 2018.
713
- 714 OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA FILHO, J. P.; MEIRA, C. Dinâmica folicular ovariana
715 comparativa entre as espécies bovina e equina. **Pubvet**, p. 763, 2010.
716
- 717 OLIVEIRA, J. C. D. **Efeito do fotoperíodo ciclicidade de éguas no Agreste**
718 **Paraibano.** 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina
719 Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, 2015.
720
- 721 PANSANATO, C. **Reprodução de éguas: anatomia e fisiologia.** 2021. Disponível
722 em: <http://blog.equinovet.com.br/reproducao-de-eguas-anatomia-e-fisiologia/>.
723 Acesso em: 2 out. 2022.
724
- 725 PIETERSE, M.C., et al. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound
726 scanning of the ovaries. **Theriogenology**, p.751-762, 1988.
727
- 728 ROCHA, B. P. L. P. **Perfil proteico do fluido folicular durante a foliculogênese**
729 **da égua.** 2014. Tese de Doutorado (Programa de Pós-graduação em Medicina
730 Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.
731
- 732 ROCHA, R. M. P. et al. Melatonina e reprodução animal: implicações na fisiologia
733 ovariana. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 2, p. 147-157, 2011.
734
- 735 RODRIGUES, R. **Aspiração folicular por via transvaginal guiada por ultrassom**
736 **em equinos.** 2006. Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Ciências
737 Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
738
- 739 RODRIGUES, J. L.; BERTOLINI, M. Biotecnologias da reprodução animal: de
740 Aristóteles à edição gênica. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 43, n. 2, p. 207, 2019.
741
- 742 SÁ, M. A. F. **Fisiologia e biotecnologia da reprodução em éguas.** Barra Mansa
743 (RJ): [S. n.], 2017.
744
- 745 SALES, F. A. B. M. et al. In vitro and in vivo efficiency of extenders added to thawed
746 stallion semen. **Cryoletters**, v. 40, n. 4, p. 231-236, 2019.
747
- 748 SALES, F. A. B. M. et al. Correlations of corpus luteum blood flow with fertility and
749 progesterone in embryo recipient mares. **Tropical Animal Health and Production**,
750 v. 53, n. 2, p. 1-7, 2021.
751
- 752 SANSINENA, M. Assisted reproductive biotechnologies in the horse. *In:*
753 **REPRODUCTIVE technologies in animals.** [S. l.]: Academic Press, 2020. p. 13-30.
754

- 755 SASSI, R. A. Equinocultura: investimentos e paixão pelos animais. **AgroANALYSIS**,
756 v. 39, n. 10, p. 48-48, 2019.
- 757
- 758 SATUÉ, K.; GARDON, Juan Carlos. Physiological and clinical aspects of the
759 endocrinology of the estrous cycle and pregnancy in mares. **Animal Reproduction**
760 **in Veterinary Medicine**, 2020.
- 761
- 762 SENDEL, T. **Anatomy, physiology and reproduction in the mare**. Ontario, CA:
763 Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 2010.
- 764
- 765 SILVA RUA, M. A. et al. Aspiração folicular, maturação *in vitro* e injeção
766 intracitoplasmática em éguas. **PUBVET**, v. 10, p. 190-270, 2015.
- 767
- 768 SILVA, V. H. L. **Avaliação da dinâmica folicular e microbiota vaginal de acordo**
769 **com a fase do ciclo estral em éguas**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso
770 (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, 2019.
- 771
- 772 SILVA, C. et al. Manual técnico: acompanhamento reprodutivo em éguas.
773 **Theriogenology**, v. 82, n. 9, p. 1241-1245.
- 774
- 775 SQUIRES, E. Current reproductive technologies impacting equine embryo
776 production. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 89, p. 102981, 2020.
- 777
- 778 THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2005.
- 779
- 780 THOMPSON, R. E. et al. A review of in vivo and in vitro studies of the mare
781 endometrium. **Animal Reproduction Science**, v. 222, p. 106605, 2020.
- 782
- 783 VIANA, BOLS. Variáveis biológicas associadas a recuperação de complexos
784 *cumulus-oócito* por aspiração folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, p.1-2, 2005.
- 785
- 786 VIANA, J. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals.
787 **Embryo Technology Newsletter**, v. 36, n. 4, p. 17, 2019.
- 788
- 789 ZAMAI, M. F. et al. Panorama das publicações científicas sobre reprodução animal:
790 2000 a 2017. **ENCICLOPÉDIA biosfera**, v. 16, n. 29, 2019.