

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**EFEITO DA GORDURA CORPORAL NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA E  
VIABILIDADE EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS DOADORAS DE EMBRIÃO DA  
RAÇA CRIOULA.**

**LUCAS CORRÊA LAU**

**PORTO ALEGRE**

**2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**EFEITO DA GORDURA CORPORAL NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA E  
VIABILIDADE EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS DOADORAS DE EMBRIÃO DA  
RAÇA CRIOULA.**

**LUCAS CORRÊA LAU**

**Autor: Lucas Corrêa Lau**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos da Faculdade de Medicina Veterinária UFRGS como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

**Orientadora: Sandra Fiala Rechsteiner**

**PORTO ALEGRE**

**2019**

## CIP - Catalogação na Publicação

Lau, Lucas  
EFEITO DA GORDURA CORPORAL NA EFICIÊNCIA  
REPRODUTIVA E VIABILIDADE EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS  
DOADORAS DE EMBRIÃO DA RAÇA CRIOLA / Lucas Lau. --  
2019.  
40 f.  
Orientadora: Sandra Rechteiner.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Porto  
Alegre, BR-RS, 2019.

1. equinos. 2. reprodução. 3. leptina. 4. glicose.  
I. Rechteiner, Sandra, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**LUCAS CORRÊA LAU**

**EFEITO DA GORDURA CORPORAL NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA E  
VIABILIDADE EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS DOADORAS DE EMBRIÃO DA  
RAÇA CRIOULA.**

**APROVADO POR:**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Mara Fiala Rechsteiner  
Orientadora e Presidente da Comissão**

---

**Dr. Carlos Eduardo Camargo  
Membro da Comissão**

---

**Dr. Henrique Boll de Araujo Bastos  
Membro da Comissão**

---

**Dr. Reno Roldi Araújo  
Membro da Comissão**

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família que esteve ao meu lado ao longo da realização deste trabalho.

A professora Dr<sup>a</sup> Sandra Fiala Rechsteiner pela orientação, por seus conhecimentos e experiência oferecidos. Ainda pela confiança e pela paciência, e sobretudo, pela seriedade e profissionalismo que tanto contribuíram para minha formação.

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos por compartilhar o conhecimento e possibilitar meu crescimento profissional.

Aos colegas Felipe Pires Hartwig e Vinícius Azevedo Folle pelo trabalho em conjunto.

## LISTA DE ABREVIATURAS

CN: Cresty Neck

EC: Escore corporal

FSH: Hormônio folículo estimulante

SME: Síndrome metabólica equina

TE: Transferência de embrião

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Valores médios, desvio padrão, mediana e valores mínimos e máximos de escore corporal, Cresty neck, leptina e glicose em éguas doadoras de embrião..  
..... 23

**Tabela 2:** Frequência de éguas e porcentagem observadas nas variáveis analisadas. .... 25

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Escore de “Cresty Neck” .....	22
<b>Figura 2:</b> Escore de viabilidade embrionária .....	23
<b>Figura 3:</b> Relação entre escore corporal e Cresty Neck. ....	26
<b>Figura 4:</b> Relação entre escore corporal e a média do tamanho dos folículos ovulatórios.....	26
<b>Figura 5:</b> Regressão linear entre Cresty Neck e a média do tamanho dos folículos ovulatórios.....	27
<b>Figura 6:</b> Regressão linear entre os níveis séricos de leptina e a média do tamanho dos folículos ovulatórios .....	27
<b>Figura 7:</b> Relação entre os níveis séricos de glicose e a média do tamanho dos folículos ovulatórios.....	28



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>14</b>
2.1 A raça Crioula.....	14
2.2 Transferência de embriões.....	14
2.3 Síndrome Metabólica.....	15
2.3.1 Hiperinsulinemia, Hiperglicemia e Resistência à Insulina .....	16
2.3.2 Hiperleptinemia .....	17
2.4 Dinâmica Folicular.....	18
<b>3. ARTIGO .....</b>	<b>19</b>
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>33</b>

# EFEITO DA GORDURA CORPORAL NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA E VIABILIDADE EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS DOADORAS DE EMBRIÃO DA RAÇA CRIOULA.

## RESUMO

O cavalo Crioulo é originário dos cavalos espanhóis trazidos para a América. Estes animais se reproduziram livremente durante séculos, e hoje a raça apresenta grande impacto na equinocultura brasileira. A relação entre eficiência reprodutiva e obesidade têm sido relatada em espécies domésticas e em humanos, porém em equinos há poucos estudos, ainda não havendo relatos na raça Crioula. O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do sobrepeso e/ou obesidade na eficiência reprodutiva e na qualidade embrionária de éguas da raça Crioula, doadoras de embrião. No experimento foram utilizadas 21 éguas, com histórico reprodutivo conhecido, sem alterações clínicas detectáveis, alojadas em uma central de reprodução no Sul do estado do Rio Grande do Sul. Foi verificado o escore corporal, avaliado de 1 à 9, e o acúmulo de gordura no pescoço, avaliado de 0 à 5. Foram coletadas amostras de sangue para avaliação dos níveis séricos de glicose e leptina. Não foi verificada associação entre o tamanho do folículo e o escore corporal ( $p=0,5835$ ) ou acúmulo de gordura no pescoço ( $p=0,9153$ ), enquanto houve forte correlação entre escore corporal e acúmulo de gordura no pescoço ( $p=<0,0001$ ). Não há correlação linear entre tamanho do folículo e a leptina ( $p=0,5726$ ). Foi realizada regressão logística para avaliar se o tamanho do folículo ou o escore corporal estavam associados a um lavado positivo, porém não houve associação com tamanho folicular ( $p=7609$ ), nem o escore corporal ( $p=0,5482$ ). Da mesma maneira não houve associação entre lavado positivo e as variáveis analisadas ( $p>0,05$ ). Os resultados apresentados neste trabalho possuem grande importância para começarmos a compreender a relação entre eficiência reprodutiva e obesidade na raça Crioula.

**Palavras Chaves:** Éguas, raça Crioula, obesidade, reprodução, leptina, glicose

## EFFECT OF BODY FAT IN REPRODUCTIVE EFFICIENCY AND EMBRYONIC FEASIBILITY IN CRIOULO BREED EMBRYO DONOR MARES

### Abstract

The Crioulo horse originated from the Spanish horses brought to America. These animals have reproduced freely for centuries, and today the breed has great impact on Brazilian equestrian culture. The relationship between reproductive efficiency and obesity has been reported in domestic species and human, but in equines there are few studies, although there are no reports in the Crioulo breed. The objective of this work was to investigate the effects of overweight and/or obesity on the reproductive efficiency and embryo quality of Crioulo breed embryo donor mares. In the experiment, 21 mares were used, with a known reproductive history, without detectable clinical alterations, housed in a center reproduction in the South of the state of Rio Grande do Sul. The body score are evaluated, from 1 to 9, and fat accumulation in the neck, evaluated from 0 to 5. Blood samples were collected for the evaluation of serum glucose and leptin levels. There are no association between follicle size and body score ( $p = 0.5835$ ) or accumulation of fat in the neck ( $p = 0.9153$ ), while there was a strong correlation between body score and neck fat accumulation ( $p = <0.0001$ ). There is no linear correlation between follicle size and leptin ( $p = 0.5726$ ). Logistic regression was performed to assess whether follicle size or body score was associated with a positive wash, but there was no association with follicular size ( $p = 0.7609$ ) or body score ( $p = 0.5482$ ). Likewise, there was no association between positive lavage and the variables analyzed ( $p > 0.05$ ). The results presented in this study are very important to begin to understand the relationship between reproductive efficiency and obesity in the Crioulo breed.

**Key words:** Mare, Crioulo breed, obesity, reproduction, leptin, glucose

## 1. INTRODUÇÃO

A raça Crioula é constituída por animais registrados desde 1932 no Brasil, produtos de uma seleção natural que ocorreu principalmente no sul da América Latina. Por cerca de quatro séculos, os cavalos Crioulos são considerados extremamente bem adaptados à região, devido ao fato de que somente os mais fortes sobreviviam e conseguiam passar seus genes para as futuras gerações (ABCCC, 2009). Consequência de tal seleção natural, a raça possui características de alta fertilidade e longevidade, sendo esses atributos essenciais na determinação de boas condições de produtividade (DOWDALL, 1987).

A Síndrome Metabólica Equina é um problema conhecido, porém pouco entendido, que aflige principalmente cavalos adultos obesos, sendo referido, erroneamente, como hipotireoidismo ou síndrome de Cushing (SOUZA 2007). Em muitos aspectos, este problema, nos cavalos, é similar à condição humana, sendo atualmente denominado segundo a World Health Organization, Síndrome Metabólica (JOHNSON, 2007). A Síndrome Metabólica não é uma doença específica, mas sim uma síndrome clínica, muitas vezes associada a laminite (TREIBER, 2006). O acúmulo de gordura, hiperinsulinemia e insulino resistência são os três principais componentes desta síndrome. A hiperinsulinemia é detectada na maioria dos cavalos com resistência à insulina, e os animais afetados são normalmente obesos, ou apresentam acúmulo de gordura localizada. Em contraste com humanos, aterosclerose e doença cardíaca coronária não são encontrados em cavalos (FRANK, 2010).

A glicose é a maior fonte de energia dos animais, sendo a glicólise a melhor reação enzimática para produção de ATP, e seu transporte para o interior das células é o primeiro passo para sua utilização (JEFFCOOT, 1986).

As concentrações plasmáticas de leptina no cavalo estão relacionados com os níveis de gordura corporal e a alimentação (HUFF *et al.*, 2008). As concentrações de leptina tendem a ser maiores em animais com acúmulo de gordura do que em animais magros, e há uma relação linear entre o escore de condição corporal e concentração sérica de leptina em todos os animais (BUFF *et al.*, 2002).

Embriões de mulheres com sobrepeso ou obesas são menores, em diâmetro, do que embriões de mulheres com condição corporal considerada saudável. Os embriões de mulheres obesas ou com sobrepeso também são menos propensos a chegar à fase de blastocisto, e quando alcançam este estágio, que acontece, em média, com 17 horas de antecedência, indicando um número reduzido de células, principalmente na camada externa, que passará a formar uma grande parte da placenta (LEARY et al, 2014).

A eficiência reprodutiva em fêmeas obesas têm sido relatada em algumas espécies (MANTZOROS 2000; SPICER 1998), porém em equinos há poucos estudos, ainda não havendo relatos na raça Crioula. Desse modo, o objetivo desse trabalho é verificar a eficiência reprodutiva em éguas obesas, doadoras de embrião, da raça Crioula.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 A raça Crioula**

O Cavalo Crioulo teve origem nos equinos Andaluz e Jacas espanhóis, trazidos da península Ibérica no século XVI pelos colonizadores. Estabelecidos na América, principalmente na Argentina, Chile, Uruguai, Paraguai e sul do Brasil, muitos desses animais passaram a viver livres, formando manadas selvagens que, durante cerca de quatro séculos, enfrentaram temperaturas extremas e condições adversas de alimentação. Essas adversidades imprimiram nestes animais algumas de suas características mais marcantes: rusticidade e resistência (TEIXEIRA, 2011). Em meados do século XIX, fazendeiros do sul do continente começaram a tomar consciência da importância e da qualidade dos cavalos que vagavam em suas terras. Esta nova raça, bem definida e com características próprias, passou a ser preservada, vindo a ter notoriedade mundial a partir do século XX, quando a seleção técnica exaltou seu valor e comprovou suas virtudes (ABCCC, 2014).

Os animais da raça Crioula têm papel importante na cultura do Rio Grande do Sul, Brasil, por se entender que esses animais são genuinamente originados na região do Pampa. Com o passar dos anos a admiração pelos cavalos da raça Crioula tem se tornado um investimento rentável (GIANLUPPI et al., 2009). O crescimento da raça Crioula no Brasil em 2015 atingiu 6,4% alcançando todos os estados brasileiros. O Cavalo Crioulo avançou em todas as regiões do país e fechou 2015 com 402.341 animais ante os 377.882 registrados em 2014 (ABCCC, 2016).

Hoje são mais de 400 mil animais distribuídos em 100% do território nacional. A criação de equinos da raça Crioula vem crescendo em todo Brasil nos últimos anos, porém, a recente liberação das biotécnicas reprodutivas, assim como a criação extensiva desses animais, contribuem com a escassez de informações sobre alterações de fertilidade desta raça.

### **2.2 Transferência de embriões**

O primeiro relato de transferência de embriões (TE) na espécie equina, com sucesso, ocorreu no Japão na década de 70, realizado por Oguri e Tsutsumi (1972). Em 1987, esta técnica foi descrita pela primeira vez no Brasil, por Fleury e colaboradores.

A transferência de embriões permite a propagação do material genético de fêmeas zootecnicamente superiores, promovendo um aumento anual significativo do número de crias (BALL et al.; 1986). Na indústria equina as éguas são selecionadas por performance atlética em vez de fertilidade, e são mantidas na reprodução por muito mais tempo que outras espécies (LOSINNO & ALVARENGA, 2006), o que leva a um incremento na importância desta biotécnica. Esta técnica também é capaz de gerar potros de éguas subférteis, por problemas adquiridos, as quais ficam impedidas de manter uma gestação a termo devido uma variedade de razões, tais como idade, infecção uterina crônica, danos cervicais, etc (LIRA et al. 2009). Além disso, esta biotécnica oferece maior controle das doenças quando da transferência de material genético entre estados ou países, bem como obtenção de divisas através da exportação de embriões congelados (ARRUDA et al., 2001). A transferência transcervical de embriões é eficiente e bastante prática, podendo ser realizada pelo veterinário a campo. A dificuldade de um programa de TE está na organização e coordenação de componentes separados que afetam o sucesso da taxa, como o manejo da égua doadora, qualidade da égua receptora, da sincronização e da habilidade na transferência (HINRICHS, 2005).

### **2.3 Síndrome Metabólica**

A disfunção metabólica equina é um problema médico comum e bem conhecido, mas não completamente entendido, que aflige principalmente cavalos adultos obesos sendo referido, variável e erroneamente, como “hipotireoidismo” e síndrome de “Cushing” (SOUZA et al. 2007). A dieta destes animais parece desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento da Síndrome metabólica Equina (SME), sobretudo aqueles alimentos que contêm uma elevada quantidade de carboidratos não estruturais (GEOR & HARRIS, 2009).

Os três componentes principais da SME são a obesidade, hiperinsulinemia e resistência à insulina. Outros componentes da SME incluem dislipidemia, concentração de adipocinas alterada no sangue, inflamação sistêmica e hipertensão arterial sazonal (FRANK, 2010). A resistência à insulina é a peça central dos mecanismos fisiopatológicos que estão em jogo na SME. A maioria dos animais afetados são caracterizados por desenvolvimento de obesidade (generalizada ou localizada), incluindo a crista do pescoço (Cresty neck), base da cauda, prepúcio e na glândula mamária (JOHNSON, 2010). Muitos animais com SME parecem exigir menos calorias para manter seu peso corporal indicando alterações na eficiência metabólica (FRANK, 2010). Outras alterações clínicas e laboratoriais que ajudam a identificar SME incluem, infertilidade em éguas, hipertrigliceridemia e hiperleptinemia (JOHNSON, 2010).

### 2.3.1 Hiperinsulinemia, Hiperglicemia e Resistência à Insulina

A glicose, assim como outras moléculas de açúcar, causa um estado normal de hiperglicemia, estimulando a liberação pancreática de insulina para remoção da glicose sanguínea (SOUZA, 2007). Uma vez na célula a glicose pode ser utilizada no exercício, crescimento, ou ser armazenada no fígado como glicogênio (KRONFELD, 2005). A insulino resistência acontece quando os tecidos perdem a sensibilidade à ação da insulina, ou quando a quantidade de insulina secretada pelo pâncreas é insuficiente (HOFFMAN, 2003). A obesidade parece estar relacionada com o início da Síndrome Metabólica, e uma das possíveis causas do desenvolvimento da resistência à insulina é que algumas células de gordura produzem hormônios, especialmente o cortisol, que interferem na habilidade da insulina em transportar a glicose para a célula. Como cavalos obesos possuem mais adipócitos, aumenta a produção de cortisol, e conseqüentemente maior interferência na insulina (MALAZDREWICH, 2007). A insulino resistência representa a peça central dos mecanismos fisiopatológicos da SME (GEOR, 2009).

A glicose sanguínea é transportada para dentro dos tecidos sensíveis a insulina através das proteínas transportadoras de membrana, principalmente a Glut-4 que é encontrada no lado interno da célula no estado basal (HOCQUETTE, 2000). No cavalo a disfunção do transporte de glicose (Glut-4) está associada com a resistência à insulina tanto no tecido adiposo



quanto no músculo esquelético (KRONFELD, 2005). A obesidade também parece estar relacionada à insulino resistência.

Os adipócitos também produzem a resistina, polipeptídeo rico em serina/cisteína, que está sendo classificada como um dos agentes responsáveis pela resistência à insulina (ARNER, 2003). A resistina liberada pelos adipócitos pode exercer efeitos sistêmicos sobre a sensibilidade à insulina, o metabolismo de lipídeos e os processos inflamatórios. Pode afetar o metabolismo da glicose no fígado e no músculo esquelético por atenuar ação da insulina, inibir a fosforilação da proteína Akt, diminuindo a formação de glicogênio (SOUZA, 2007). A resistina também induz a expressão da SOCS-3, proteína supressora da sinalização da citocina-3, nas células  $\beta$ -pancreáticas. Esta regulação da resistina na expressão da SOCS-3, prejudica a sinalização da insulina nas células 3T3-L1 (pré-adipócitos) e a fosforilação do substrato-1 do receptor de insulina (IRS-1), demonstrando que a sinalização da glicose, para a secreção da insulina poderá ser prejudicada pela resistina (NAKATA, 2007).

### 2.3.2 Hiperleptinemia

Gentry et al, em 2002, foi o primeiro a relatar uma aparente condição de hiperleptinemia em éguas obesas. Em humanos as concentrações elevadas de leptina podem afetar diretamente o sucesso reprodutivo (MANTZOROS, 2000), além disso, as células da teca em bovinos, expostas a altas concentrações de leptina tinham menores quantidades de hormônio luteinizante (SPICER, 1998). Em um ambiente com altas concentrações de leptina, o ovário é mantido em superprodução de estradiol, devido a inibição da insulina, induzindo a produção de androstenediona pelas células da teca bovina, e atividade da aromatase por células da granulosa bovina in vitro (SPICER, 2001).

A leptina atua diretamente na inibição do hormônio folículo estimulante (FSH), estimulando produção de estradiol e progesterona em células da granulosa humana (GREISEN, 2000). É evidente que não só os baixos níveis de leptina, associados a baixa condição corporal, mas também a hiperleptinemia em éguas obesas podem interferir com processos reprodutivos normais (HUFF, 2008).

## 2.4 Dinâmica Folicular

O termo onda folicular refere-se a uma população de folículos que emerge e cresce inicialmente em sincronia (GINTHER *et al.*, 2004). O sistema de dinâmica folicular está interligado a uma série de eventos capazes de promover o desenvolvimento ou a regressão de uma população folicular nos ovários de fêmeas (GURGEL *et al.*, 2008). Nos equinos uma ou duas ondas foliculares ocorrem durante o intervalo interovulatório e há crescimento e regressão de vários folículos (GINTHER e BERGFELT, 1992).

Os ovários possuem o sistema corporal macroscópico mais dinâmico, e com mudanças contínuas, desenvolvem folículos ovarianos em ondas foliculares durante o ciclo estral ou intervalo interovulatório (GINTHER *et al.*, 2004). De acordo com a fase do ciclo estral, as ondas foliculares podem ser classificadas como primárias ou secundárias, emergindo no diestro, e ocasionando uma ovulação no final do estro; e emergindo no estro e podendo ocasionar ovulação no diestro, respectivamente (GINTHER, 2000). Após a emergência da onda folicular primária, ocorre a fase de divergência folicular, quando as taxas de crescimento do futuro folículo dominante e os restantes tornam-se desiguais (GASTAL *et al.*, 1997). A última fase pré-ovulatória é a dominância folicular, caracterizada quando o folículo atinge 30mm em éguas (GINTHER 2000).

O diâmetro do folículo pré-ovulatório é indicado para prever a ovulação (KOSKINEN *et al.*, 1989), podendo divergir entre as raças equinas. Éguas pantaneiras apresentam o diâmetro pré-ovulatório de 49,5mm (ZÚCCARI *et al.*, 2002), Quarto de Milha 43,4mm (DIMMICK *et al.*, 1993), PSI de 41,5mm (WATSON *et al.*, 1994), Árabe de 40,3 (DIMMICK *et al.*, 1993).

Segundo um estudo de Duval (2017), o diâmetro do folículo pré-ovulatório em éguas da raça Crioula é de 43,1mm, semelhantes a Quarto de Milha, ocorrendo a divergência quando o folículo dominante atingiu 22mm.

A leptina está diretamente relacionada à condição corporal e está envolvida na estimulação da função hipotalâmica-hipofisária-gonadal (HUFF *et al.*, 2008). Há presença de leptina e de receptores de leptina nos ovários e oócitos de éguas, assim como a qualidade dos oócitos são dependentes da adiposidade ou do estágio de puberdade do animal (LANGE-CONSIGLIO *et al.* 2013). Éguas com escore corporal satisfatório apresentam período anovulatório

menor e níveis mais altos de leptina, e retomam a atividade ovariana antes da primavera, em contra partida, éguas com os níveis de leptina menores retornam a atividade cíclica mais tarde, e este reinício da atividade ovariana é acompanhado por um aumento da concentração plasmática de leptina (FITZGERALD, 2000; FERREIRA-DIAS, 2005). A leptina também possui um papel na regulação do fluxo sanguíneo no trato reprodutivo das éguas durante o estro, e também na preparação do útero para receber o futuro embrião (ABDELNABY, 2015).

A eficiência reprodutiva está intimamente relacionada com a condição corporal, a qual exerce efeito sobre duração do anestro estacional, período de transição para a atividade cíclica, período interovulatório, secreção de IGF-1 e leptina (BENDER, *et al.*, 2014).

### 3. ARTIGO

ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

#### **EFEITO DA GORDURA CORPORAL NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA E VIABILIDADE EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS DOADORAS DE EMBRIÃO OBESAS DA RAÇA CRIOULA**

Lucas Corrêa Lau<sup>1,2\*</sup>, Felipe Pires Hartwig, Giulia Soares Latosinski<sup>3</sup>,  
Vinícius Azevedo Folle, Sandra Fiala Rechsteiner<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>HISTOREP - Universidade Federal de Pelotas, UFPEL, Pelotas-RS, Brasil;

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Medicina Animal: equinos - Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre-RS, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, Brasil.

\* **Correspondence:** Lucas Corrêa Lau, Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre-RS, Brasil, email: lcorrealau@gmail.com or Tel: 55 53999733907

## RESUMO

A baixa eficiência reprodutiva em fêmeas obesas têm sido relatada em algumas espécies domésticas e também em humanos, porém em equinos, há poucos estudos, ainda não havendo relatos na raça Crioula. O objetivo desse trabalho foi verificar a eficiência reprodutiva em éguas obesas, doadoras de embrião, da raça Crioula. O experimento foi realizado em uma central de reprodução, localizada no Sul do estado do Rio Grande do Sul, utilizando 21 éguas da raça Crioula, doadoras de embrião, com histórico reprodutivo conhecido e sem alterações clínicas detectáveis. O escore corporal (EC) foi verificado pela escala de 1 à 9, considerando  $\geq 7$  como obesas e utilizando apenas éguas com EC acima de 3. O acúmulo de gordura no pescoço (NC) foi avaliado com escore de 0 à 5. O tamanho do maior folículo na avaliação ultrassonográfica anterior à ovulação foi anotado. Amostras de sangue foram coletadas para avaliação dos níveis séricos de leptina e glicose. A média do EC foi 6,29 e do NC 3. A porcentagem de éguas com 2 ou mais coletas positivas foi de 66,67% (n=14) e a porcentagem de éguas com duas ou mais coletas negativas foi de 80,95% (n=17). Apenas uma égua apresentou alteração no lavado (4,76%) e 23,81% (n=5) dos embriões apresentaram alterações de desenvolvimento (grau II). A média da leptina observada foi de 3,53. A taxa de coleta positiva geral foi de 41,96% (n=47). Não foi verificada correlação entre tamanho do folículo e o escore corporal ( $Rho=0,06221$ ,  $p=0,5835$ ) ou acúmulo de gordura no pescoço ( $Rho=0,01208$ ,  $p=0,9153$ ), enquanto houve forte correlação entre escore corporal e acúmulo de gordura no pescoço ( $Rho= 0,74072$ ,  $p=< 0,0001$ ). Não há correlação linear entre o tamanho do folículo e a leptina ( $Rho=0,06402$ ,  $p=0,5726$ ). Foi realizada regressão logística para avaliar se o tamanho do folículo ou o escore corporal estavam associados a um lavado positivo, porém o tamanho folicular não está associado a um aumento na taxa de coletas positivas ( $p=0,7609$ ) nem o escore corporal ( $p=0,5482$ ). Da mesma forma, não houve associação entre lavado positivo e as variáveis analisadas ( $p>0,05$ ). Concluímos que o sobrepeso ou a obesidade não alteraram os níveis séricos de leptina e glicose em éguas da raça Crioula, assim como não afetaram a eficiência reprodutiva das mesmas.

**Palavras-chave:** Éguas, raça Crioula, obesidade, reprodução, leptina, glicose.

## INTRODUÇÃO

Do ponto de vista social e econômico, a raça Crioula é considerada um dos pilares da indústria brasileira na criação de equídeos (ABCCC, 2014). A raça Crioula é constituída por animais registrados desde 1932 no Brasil, produtos de uma seleção natural que ocorreu principalmente no sul da América, os cavalos Crioulos são considerados extremamente bem adaptados à região, devido ao fato de que somente os mais fortes conseguiam passar seus genes para as futuras gerações (ABCCC, 2009).

A baixa eficiência reprodutiva em fêmeas obesas têm sido relatada em algumas espécies (DRAKE, 2010; MANTZOROS, 2000), porém em equinos há poucos estudos. A domesticação e as mudanças na alimentação e no ambiente promove o aumento, ano a ano, do peso corporal destes animais, levando a obesidade (DUGDALE, 2011). Em éguas, a obesidade e a resistência à insulina estão associadas a alterações nos ciclos estrais (VICK et al., 2006). A alteração na adiposidade em cavalos com Síndrome Metabólica está associada com hiperinsulinemia (WALSH et al., 2009), hiperleptinemia e diminuição da adiponectina no soro (KEARNS et al., 2006). Em éguas da raça Mangalarga Marchador o  $EC < 6,5$  e  $EC > 7,5$  afetou o tamanho do folículo ovulatório em éguas doadoras de embrião (GOMES, 2009).

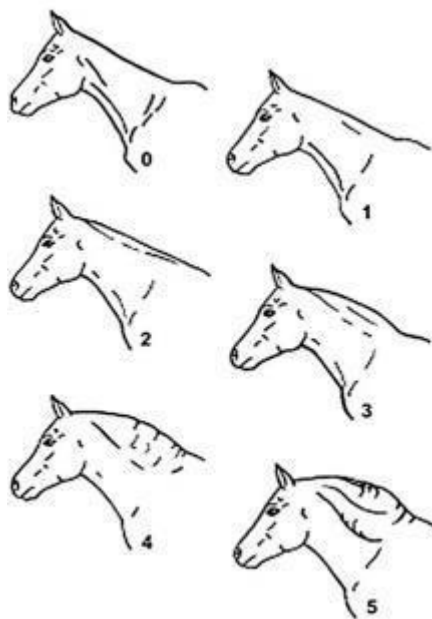
Embriões de mulheres com sobrepeso ou obesas são menores, em diâmetro, do que embriões de mulheres com condição corporal considerada saudável. Os embriões de mulheres obesas ou com sobrepeso também são menos propensos a chegar à fase de blastocisto, e quando alcançam este estágio, acontece, em média, com 17 horas de antecedência, indicando um número reduzido de células, principalmente na camada externa, que passará a formar uma grande parte da placenta (LEARY et al, 2014).

Embora já existam alguns estudos descrevendo os efeitos da obesidade na eficiência reprodutiva de éguas (JOHNSON, 2010), ainda não há relatos na raça Crioula.

## MATERIAIS E MÉTODO

### Animais

Foram utilizadas 21 éguas doadoras de embrião da raça Crioula, com idade entre 4 e 25 anos, com escore corporal de 3 à 9, em pastagem de campo nativo e suplementadas com concentrado uma vez ao dia, com água *ad libitum*. As éguas utilizadas estavam alojadas em uma central de reprodução no município de Pelotas, estado do Rio Grande do Sul. O escore corporal foi verificado pela escala de 1 a 9, considerando  $\geq 7/9$  obesos (Henneke, 1983). O acúmulo de gordura no pescoço (Cresty neck) foi avaliado com escore de 0 à 5, conforme a figura 1 (Carter, 2009). Também foi verificado, visualmente, o acúmulo de gordura localizada na base da cauda e a glândula mamária.



**Figura 1:** Escore de “Cresty Neck”. (Carter, et al. 2009)

### Coleta de embriões

As doadoras tiveram o ciclo estral controlado por palpação retal e exame ultrassonográfico, e foram submetidas a inseminação artificial com sêmen resfriado ou congelado. Foram recuperados embriões nos dias 7 ou 8 pós-ovulação, através da técnica não cirúrgica transcervical, utilizando cateter

de silicone com balão, com diâmetro de 8,0mm. O cateter é inserido no corpo do útero, lavando-o com um litro de Ringer Lactato, com fluxo de recuperação constante, ou ter o fluxo de recuperação interrompido com utilização de pinça e filtro de milipore, realizando este procedimento em média três vezes. Foi realizado sincronização das receptoras com 1ml de Lutalyse®, utilizando para transferência de embrião as receptoras que ovularam de um a cinco dias após a doadora. A ovulação era induzida quando as éguas apresentavam um ou mais folículos com mais de 35mm de diâmetro e edema uterino, as doadoras tiveram a ovulação induzida com 1.250UI de Chorulon®, ou 1.000 microgramas de Strelin®, e as receptoras com 1.000 microgramas de Strelin®.

#### Manipulação e avaliação do embrião

O rastreamento dos embriões foi realizado com um microscópio estereoscópico (lupa) sob aumento de 10X. Após rastreado o embrião foi retirado por aspiração com auxílio de uma palheta de 0,5mL, acoplada a uma seringa de insulina, e transferido para uma placa de Petri (35 x 10mm) contendo o meio de manutenção. A classificação foi realizada de acordo com os parâmetros de estágio de desenvolvimento e qualidade, descritas por McKinnon et al (1988). Foi atribuído um escore de 1 a 5, avaliando o embrião quanto ao formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade de zona pelúcida (Figura 2).

<b>Classificação</b>	<b>Qualidade</b>
Grau 1	Excelente – Ideais, esféricos, com tamanho, cor e textura uniformes.
Grau 2	Bom – Pequenas imperfeições com poucos blastômeros extrusos, forma irregular ou separação de trofoblasto.
Grau 3	Razoável – Problemas não muito severos de blastômeros extrusos, células degeneradas ou blastocelule colapsada.
Grau 4	Pobre – Blastocelule colapsada, vários blastômeros extrusos e células degeneradas, mas com aparência viável de massa embrionária.

Grau 5	Degenerado – Oócito não fertilizado ou embrião totalmente degenerado.
--------	-----------------------------------------------------------------------

**Figura 2:** Escore de viabilidade embrionária. (McKinnon et al. 1988)

### Coleta de sangue

Amostras de sangue foram coletadas uma vez, puncionando a veia jugular com agulhas 40 x 12. O sangue foi armazenado em tubos *vacutainer* sem anticoagulante. Após a coleta as amostras foram centrifugadas para a separação do soro, acondicionadas em microtubos e armazenadas a  $-20^{\circ}$ . A análise de glicose foi realizada pelo método de colorímetro, no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Pelotas, e a leptina pelo método de ELISA, no Vetlab.

### Análise estatística

Para análise estatística foi usado o software SAS Institute, Cary, NC, com nível de significância  $p < 0,05$ . Para as variáveis contínuas foi realizado correlação linear de Spearman. Para estimar a razão das chances de um lavado positivo, foi realizada regressão linear.

## RESULTADOS

Há uma forte correlação linear entre o escore corporal e o Cresty neck ( $p < 0,0001$ ). A possibilidade de um lavado positivo não está associada à escore corporal ( $p = 0,5482$ ) e tamanho de folículo ovulatório ( $p = 0,7609$ ).

Na Tabela 1 é observada a estatística descritiva das variáveis analisadas.

**Tabela 1:** Valores médios, desvio padrão, mediana e valores mínimos e máximos de escore corporal, Cresty neck, leptina e glicose em éguas doadoras de embrião.



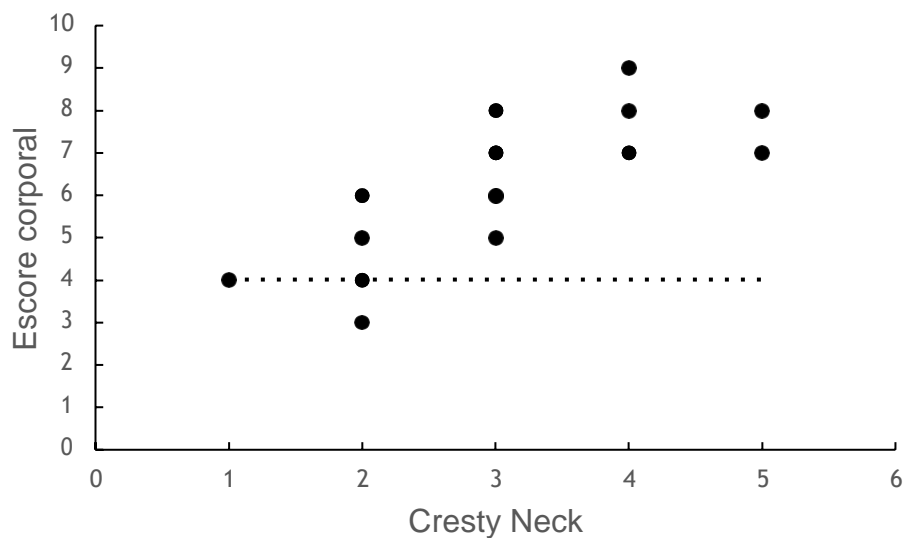
<b>Variável</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>
Escore Corporal (0-9)	21	6,29	1,61	7	9	3
Cresty Neck (1-5)	21	3	1,04	3	5	1
Leptina (4-7ng/mL)	21	3,53	1,66	3,5	7	1
Glicose (80-120mg/dL)	21	82,27	15,94	78	127	64

Na Tabela 2 é observada a frequência e porcentagem das variáveis analisadas.

**Tabela 2:** Frequência de éguas e porcentagem observadas nas variáveis analisadas.

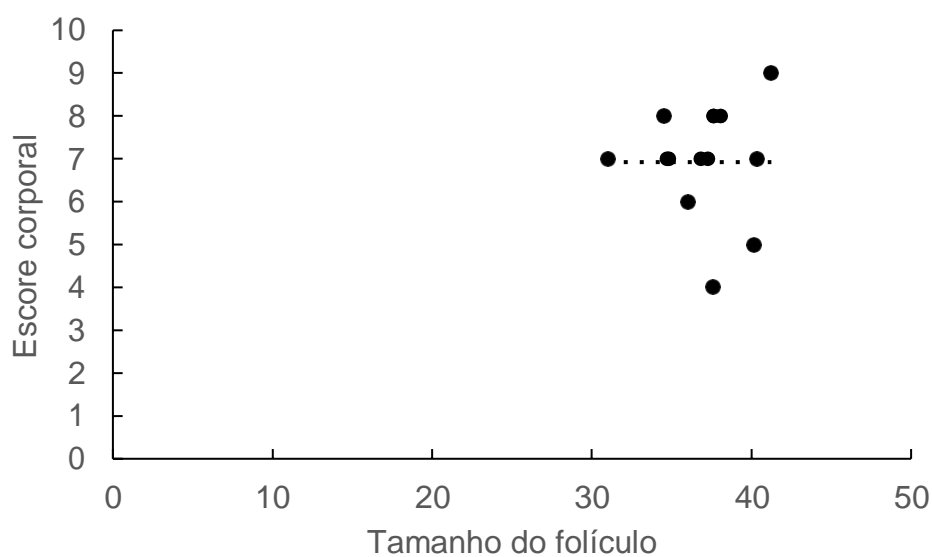
<b>Variável</b>	<b>N</b>	<b>Porcentagem(%)</b>
Idade < 15 anos	11	52,38
Escore corporal $\geq$ 7	11	52,38
Cresty Neck $\geq$ 3	14	66,67
Acúmulo de gordura	11	52,38
Gordura na glândula mamária	6	28,57
$\geq$ 2 Coletas positivas	14	66,67
$\geq$ 2 Coletas negativas	17	80,95
Prenhez	20	95,24
Alteração no lavado	1	4,76
Embrião $\geq$ II	5	23,81

A figura 3 demonstra a correlação linear entre escore corporal e Cresty Neck ( $p < 0,0001$ ).



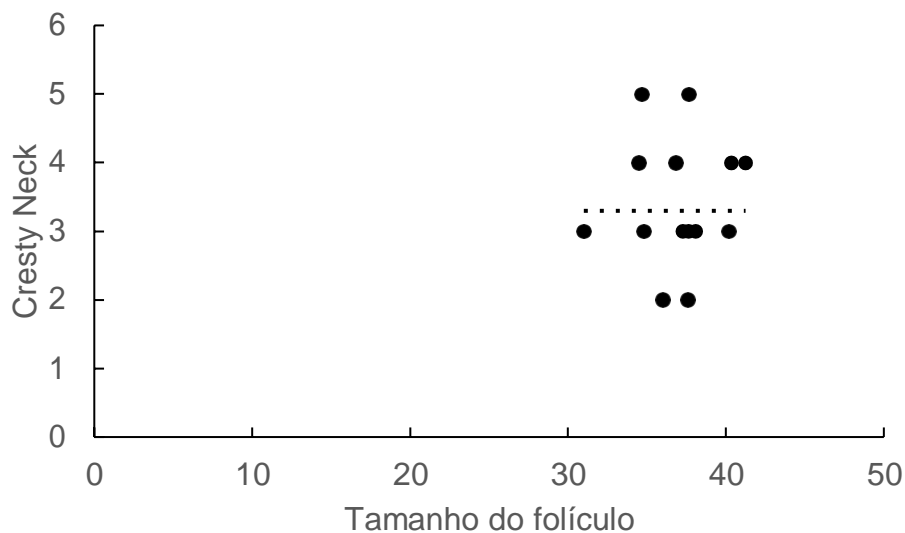
**Figura 3:** Relação entre escore corporal e Cresty Neck.

A Figura 4 demonstra a regressão linear entre o escore corporal e o tamanho dos folículos ovulatórios, observa-se que não apresentou correlação linear entre o tamanho do folículo ovulatório com o escore corporal ( $p=0,5835$ ).



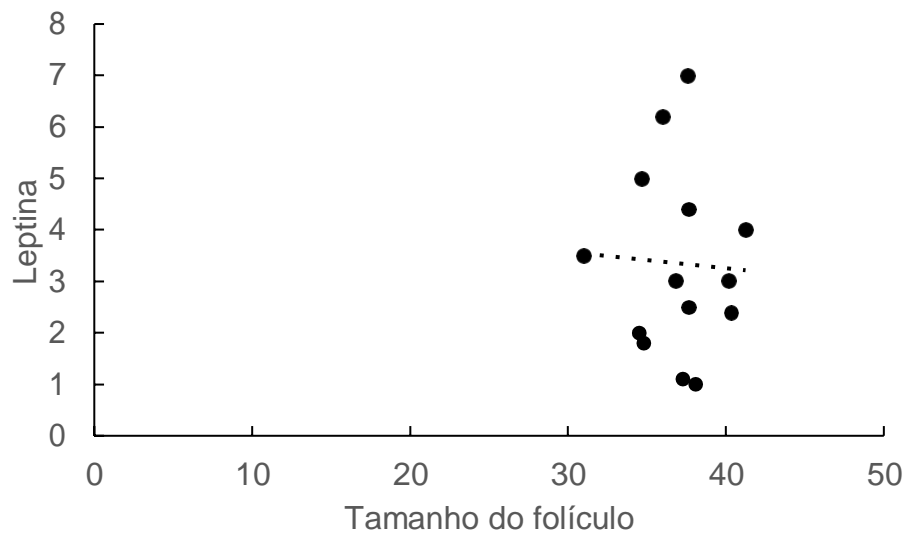
**Figura 4:** Relação entre escore corporal e a média do tamanho dos folículos ovulatórios.

Observa-se na figura 4 que não houve correlação linear entre o tamanho do folículo ovulatório com o Cresty Neck ( $p=0,9153$ ).



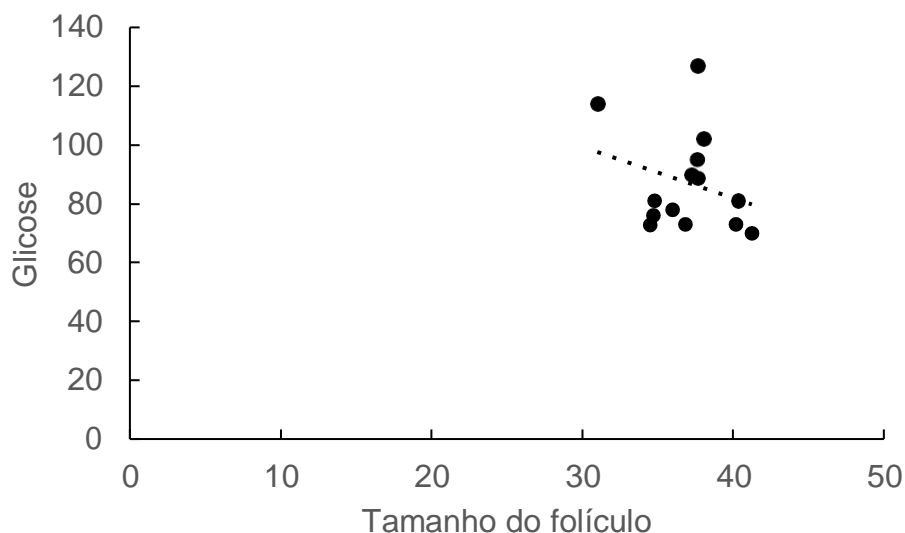
**Figura 5:** Regressão linear entre Cresty Neck e a média do tamanho dos folículos ovulatórios.

Na figura 6 observamos que não houve correlação linear entre a leptina e o tamanho do folículo ovulatório ( $p=0,5726$ ).



**Figura 6:** Regressão linear entre os níveis séricos de leptina e a média do tamanho dos folículos ovulatórios.

Na figura 7 observamos que não houve correlação linear entre glicose e o tamanho do folículo ovulatório ( $p=0,8030$ ).



**Figura 7:** Relação entre os níveis séricos de glicose e a média do tamanho dos folículos ovulatórios.

## DISCUSSÃO

O escore corporal é relevante para a avaliação de adiposidade global, sendo relacionado com a espessura da gordura subcutânea (HENNEKE *et al.*, 1983) concentração de leptina (BUFF *et al.*, 2002), e resistência à insulina (VICK *et al.*, 2007). O EC 5 (moderado) é considerado ideal para obtenção da máxima eficiência reprodutiva das éguas (NRC, 2007). As doadoras da raça Crioula apresentaram EC médio de 6,29, semelhante a doadoras raça Mangalarga Marchador, que apresentaram EC médio de 7 (GOMES, 2009). Dentre as éguas avaliadas 52,3% apresentaram depósito de gordura em outras regiões do corpo, como base da cauda e costela, e apenas 28,5% apresentaram acúmulo de gordura na glândula mamária, nestas éguas foi evidenciado  $EC \geq 7$  e  $CN \geq 3$ . O Cresty Neck é uma ferramenta adicional para avaliação de adiposidade regional e um importante indicador de distúrbios metabólicos (CARTER, 2009). As éguas da raça Crioula apresentaram correlação entre escore corporal e Cresty Neck, resultado semelhante ao obtido por Carter, 2009. Porém, contrariando os demais estudos, elas não apresentaram alterações nos níveis séricos de leptina e glicose.

Gomes (2009), relatou que o  $EC < 6,5$  e  $EC > 7,5$  afetou o tamanho do folículo ovulatório em éguas doadoras de embrião da raça Mangalarga

Marchador, diferentemente das éguas da raça Crioula, que não apresentaram relação entre EC e o tamanho do folículo ovulatório.

As doadoras da raça Crioula apresentaram taxa de recuperação embrionária de 41,9%, semelhante aos índice apontado por Squires, (2005), que encontrou 50%, e aos índices de éguas das raças Mangalarga, 50,9% (FLEURY, 2001) e Quarto de Milha, 47,2% (VOGELSANG, 1985).

A obesidade tem sido descrita como fator importante na diminuição da eficiência reprodutiva em diversas espécies, e também na qualidade dos embriões (LEARY *et al.*, 2014; SPICER, 2001), em consequência, principalmente, do aumento dos níveis séricos de leptina, e sua atuação no sistema reprodutivo (MANTZOROS, 2000). A leptina está envolvida diretamente na função hipotalâmica-hipofisária-gonadal (HUFF *et al.*, 2008), com sua presença e de seus receptores nos ovários e oócitos de éguas (LANGE-CONSIGLIO *et al.* 2013), atuando na inibição do FSH, e estimulando a produção de estradiol e progesterona (GREISEN, 2000). As éguas da raça Crioula apresentaram índice médio de leptina de 3,53 ng/mL, semelhantes aos valores encontrados em equinos da raça Trotador Americano, 3,65 ng/mL (BUFF, 2002). Diferentemente dos demais estudos, as éguas da raça Crioula com escore corporal e Cresty Neck elevado, não apresentaram hiperleptinemia e consequentemente não tiveram alteração no tamanho dos folículos ovulatórios, não sendo possível relacionar EC e CN com a eficiência reprodutiva.

Em equinos a disfunção no transporte de glicose está associada com a resistência à insulina (KRONFELD, 2005). Algumas células de gordura produzem o cortisol, que interfere na habilidade da insulina em mover a glicose para dentro da célula. Em cavalos obesos há mais adipócitos, e consequentemente mais cortisol é produzido, gerando maior interferência no transporte da glicose (MALAZDREWICH, 2007). A disfunção no transporte da glicose está relacionada a resistência à insulina e é uma alteração comum em equinos obesos. A média dos níveis séricos de glicose encontrada neste trabalho foi 82,27 mg/dL, valor semelhante aos encontrados em animais da raça Puro Sangue Inglês com dieta de alfafa, 94,2 mg/dL (STULL, 1987), e com dieta de pasto e feno, onde os níveis séricos de glicose se mantiveram entre 80 mg/dL e 100mg/dL (HOFFMAN, 2003). As éguas da raça Crioula, independente do EC,

não apresentaram alterações nos índices de glicose, sendo um indicador para ausência de resistência à insulina.

A condição uterina é um fator importante e tem alta influência nas taxas de recuperação dos embriões (ALONSO *et al.*, 2005). Apenas 4,7% das éguas apresentaram algum tipo de alteração no lavado uterino, corroborando com as taxas de qualidade embrionária, onde apenas 23,8% das éguas apresentaram embriões com grau  $\geq$  II. Dentre as éguas em que se observou alteração de qualidade do embrião, 80% delas tinham idade  $\geq$ 15 anos. A idade da égua pode afetar a qualidade do embrião (McCUE, 2009) e o sucesso da TE diminui com o aumento da idade das doadoras (CARNEVALE, *et al.*, 2000).

Nas éguas avaliadas, 66,6% apresentaram o mínimo de duas coletas positivas, e 80,9% apresentaram o mínimo de duas coletas negativas, sendo que dois é o número máximo de embriões que podem ser coletados de uma mesma égua na raça Crioula. Apesar do alto índice de recuperação embrionária negativa, 95,2% das éguas obtiveram, no mínimo, uma prenhez em decorrência de suas coletas. Este valor representa uma boa eficiência reprodutiva dos animais avaliados.

Foram utilizadas éguas com escore corporal de moderado à alto, podendo este fato, não ter permitido a observação de divergência estatística. A avaliação de éguas magras, em comparação com éguas obesas, poderia ter possibilitado maior diferença entre as variáveis analisadas.

## CONCLUSÃO

Dentre os fatores que podem alterar a eficiência reprodutiva de éguas, o escore corporal é um fator importante. No entanto não conseguimos identificar o quanto esses fatores influenciam no funcionamento do trato reprodutivo das fêmeas. Diversos estudos indicam que o elevado escore corporal, e as consequentes alterações hormonais, podem alterar negativamente a capacidade reprodutiva das éguas.

Conclui-se que, em éguas Crioulas, o elevado escore corporal não provocou alterações nos hormônios estudados, assim como, também não influenciou a atividade reprodutiva das mesmas.

## REFERÊNCIAS

ABCCC, Manual do Criador da Associação dos Criadores dos Cavalos Crioulos. 2009.

ABCCC, Manual do Criador da Associação dos Criadores dos Cavalos Crioulos. p.25, 2014.

ALONSO, M. A.; FLEURY, P. D. C.; NEVES NETO, J. R.; MACHADO, M. S. Efeito da idade da égua doadora na taxa de perda embrionária. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33 (Supl 1), p.204, 2005.

CARNEVALE, E. M., RAMIREZ, R. J., SQUIRES, E. L., ALVARENGA, M. A., McCUE, P. M., Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p.965-979, 2000.

BUFF, P. R., DODDS, A. C., MORRISON, C. D., WHITLEY, N. C., MCFADIN, E. L., DANIEL, J. A., DJIANE, J., KEISLER, D. H. (2002). Leptin in horses: tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. **J. Anim. Sci.** **80** (11), 2942–2948.

DRAKE, A. J., REYNOLDS R. M. Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. **Reproduction**. 2010; 140(3):387–98.

DUGDALE, A. H. , CURTIS, G. C., CRIPPS, P. J., HARRIS, P. A., ARGO, C. M. Effects of season and body condition on appetite, bodymass and body composition in ad libitum fed pony mares. **Vet. J.** 2011;190(3):329–37.

CARTER, R. A., GEOR, R. J., BURTON, S. W., et al. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. **Vet. J.** 2009;179:204.

FLEURY, J. J., PINTO, A. B., MARQUES, A., LIMA, C. G., ARRUDA, R. P. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após

transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** vol.38 no.1 São Paulo 2001.

GOMES, P. R. Comparação entre escore de condição corporal e espessura de gordura subcutânea e sua relação com a eficiência reprodutiva de éguas doadoras Mangalarga Marchador. Tese (Mestrado) – Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, Universidade Federal de Lavras, 2009.

HENNEKE, D. R., POTTER, G. D., KREIDER, J. L., et al. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Vet J.** 1983;15(4):371–2.

HOFFMAN, R. M. et al. Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. **Journal Animal Science**, v.81, p.2333–2342, 2003.

JOHNSON, P. J.; WEIDMEYER, C. E.; GANJAN, V. K.; MESSER, T. Laminitis and de Equine Metabolic Syndrome. **Vet. Clin. Equine.** 239-255. 2010.

KEARNS, C. F., MCKEEVER, K. H., ROEGNER, V., BRADY, S. M., MALINOWSKI, K. 2006. Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses. **Vet. J.** 172:460–465.

LEARY, C., LEESE, H. J., STURMEY, L. G. Human embryos from overweight and obese women display phenotypic and metabolic abnormalities. **Human Reproduction**, 2014.

MCCUE, P. M., DELUCA, C. A., FERRIS, R. A., WALL, J. J. How to evaluate equine embryos. **AAEP Proceedings.** V.55. 2009.

MCKINNON A. O., SQUIRES E. L. Morphological assessment of equine embryo. **J Am Vet Med Assoc**, v.192, p.401- 406, 1988.



NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrients Requeriments of Horses. Washington: **National Academy of Sciences**, 2007. 341 p.

SQUIRES, E. L. Perspectiva para o uso de biotecnologias na reprodução eqüina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33 (Supl 1), p.69-82, 2005.

VICK, M. M., SESSIONS, D. R., MURPHY, B. A., KENNEDY, E. L., REEDY, S. E., FITZGERALD, B. P. 2006. Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: Effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity. **Reprod. Fertil. Dev.** 18:609–617.

VICK, M., ADAMS, A., MURPHY, B., SESSIONS, D., HOROHOV, D., COOK, R., SHELTON, B., FITZGERALD, B., 2007. Relationship among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of Animal Science** 85, 1144–1155.

VOGELSANG, S. G., BONDIOLI, K. R., MASSEY, J. M. Comercial application of equino embryo transfer. **Equine Vet. J.** 1985. 89;91.

WALSH, D. M., MCGOWAN, C. M., MCGOWAN, T., LAMB, S. V., SCHANBACHER, B. J., PLACE, N. J. 2009. Correlation of Plasma Insulin Concentration with Laminitis Score in a Field Study of Equine Cushing's Disease and Equine Metabolic Syndrome. **J. Equine Vet. Sci.** 29:87–94.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A relação entre obesidade e eficiência reprodutiva é bastante complexa. As matrizes doadoras de embrião são selecionadas por histórico competitivo ou genética, não sendo levado em consideração os fatores reprodutivos.

Este estudo demonstrou que em éguas Crioulas a condição corporal não causou alterações metabólicas, pois não observou-se nenhuma correlação positiva entre escore corporal, cresty neck, leptina, glicose e eficiência reprodutiva, diferentemente de outros estudos realizados com equinos, bovinos e humanos.

Não observou-se correlação do tamanho do folículo ovulatório com os parâmetros de gordura corporal, ou metabólicos. Essa ausência de correlação é um indicador de que os elevados índices de condição corporal não afetaram a eficiência reprodutiva de éguas da raça Crioula.

Conclui-se que a obesidade não ocasionou alterações metabólicas ou afetou a eficiência reprodutiva de éguas doadoras de embrião da raça Crioula. Sendo um primeiro relato desses parâmetros, se faz necessário mais estudos para elucidar melhor a relação de gordura corporal e reprodução na raça Crioula.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCCC, **Manual do Criador da Associação dos Criadores dos Cavalos Crioulos**. 2009.

ABCCC. **Anuário da raça Crioula 2014**, v.54, n.51, p.360, 2014.

ABCCC,2006. Disponível em: <http://www.abccc.com.br>. Acesso em: 15 de junho de 2016.

ABCCC, 2016. Disponível em: <http://freiodeouro.canalrural.com.br/noticias/raca-crioula-cresce-64-no-pais-em-2015/>- **Raça Crioula cresce 6,4% no país em 2015**. Acesso em: 16 de junho de 2016.

ARNER, P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the Thiazolidinediones. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v.14, n.3, p.137-145, 2003.

ABDELNABY, E. A., EL-MAATY, A. M. A., RAGAB, R. S.A., SEIDA, A. A. Assessment of uterine vascular perfusion during the estrous cycle of mares in connection to circulating leptin, and nitric oxide concentrations. **Journal of Equine Veterinary Science**. 2015

ARRUDA, R.P., VISINTIN, J. A., FLEURY, J. J., GARCIA, A. R., MADUREIRA E. H., CELEGHINI E. C. C. & NEVES NETO J. R. 2001. Existem relações entre

tamanho e morfoecogenicidade do corpolúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embrião equinos? **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 38:233-239.

BALL, B.A. et al. Pregnancy rate 2 and 14 and estimated embryonic loss rates prior to day 14 in normal and subfertile mares. **Theriogenology**, v.26, p.611- 619, 1986.

BENDER, E. S. C., SAMPAIO, B. F. B., NOGUEIRA, B. G., COSTA E SILVA, E. V., ZÚCCARI, C. E. S. N. Condição corporal e atividade reprodutiva de éguas. **Arch. Zootec.** 63(R): 55-67. 2014.

BUFF, P. R., DODDS, A. C., MORRISON, C. D., WHITLEY, N. C., MCFADIN, E. L., DANIEL, J. A., DJIANE, J., KEISLER, D. H. (2002). Leptin in horses: tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. **J. Anim. Sci.** 80 (11), 2942–2948.

CARTER, R. A., GEOR, R. J., BURTON, S. W., et al. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. **Vet. J.** 2009;179:204.

DUVAL, L. H. Dinâmica folicular em éguas da raça Crioula. Tese (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.

DOWDALL, R.C. Criando criollos. 3ªed. Montevideo: Editorial Hemeisférico Sur S.A.; p.409, 1987.

DRAKE, A. J., REYNOLDS R. M. Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. **Reproduction.** 2010; 140(3):387–98.

FERREIRA-DIAS, G., CLAUDINO, F., CARVALHO, H., AGRÍCOLA, R., ALPOIM-MOREIRA, J., SILVA, J.R. 2005. Seasonal reproduction in the mare:

possible role of plasma leptin, body weight and immune status. **Dom Anim End**, 29: 203-213.

FITZGERALD, B. P., MCMANUS, J. 2000. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. **Biol Reprod**, 63: 335-340.

FLEURY, J.J., ALVARENGA, M.A., COSTA NETO, J.B.F. & PAPA, F.O. 1987. Transferência de embriões em equinos. **Arq. Bras. Med.Vet. Zootec.** 39:485-487.

FRANK, N., GEOR, R. J., BAILEY, S. R., DURHAN, A. E., JOHNSON, P. J., 2010. Equine metabolic syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine.** 24, 467–475

GASTAL E.L; GASTAL M.O; BERGFELT D.R. Role of diameter differences amongfollicles in selection of a future dominant follicle in mares. **Biology of Reproduction** v.57, p.1320 – 1327, 1997.

GENTRY, L.R., THOMPSON, D. L. Jr., GENTRY, G. T. Jr., DAVIS, K. A., GODKE, R. A., CARTMILL, J. A. The relationship between body condition, leptin, and re-productive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. **J Anim Sci** 2002;80:2695–2703

GEOR, R., FRANK, N. Metabolic syndrome-From human organ disease to laminar failure in equids. **Vet Immunol Immunopathol.** 2009;129(3–4):151–4.

GEOR, R. J., & HARRIS, P. (2009). Dietary Management of Obesity and Insulin Resistance: Countering Risk for Laminitis. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice.** 25(1), 51-65. [10.1016/j.cveq.2009.02.001](https://doi.org/10.1016/j.cveq.2009.02.001)

GIANLUPPI, L. D. F., BORTOLI, E. C., SCHVARZ SOBRINHO, R., FALCÃO, B. T. F., SILVA, T. N. Agregação de valor em equinos da raça Crioula: Um estudo de caso. **Arquivos de zootecnia**. v.58, p.471-474, 2009.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v.60, p.61-79, 2000.

GINTHER, O.J., BERGFELT, D.R. Associations between FSH concentrations and major and minor follicular waves in pregnant mares. **Theriogenology**, v.38, n.5, p.807-821, 1992

GINTHER, O.J., GASTAL, E.L., GASTAL, M.O. BERGFELT D.R., BAERWALD, A.R., PIERSON, R.A. Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and woman. **Biology of reproduction** v.71 p.1195-1201, 2004.

GOMES, P. R. Comparação entre escore de condição corporal e espessura de gordura subcutânea e sua relação com a eficiência reprodutiva de éguas doadoras Mangalarga Marchador. Tese (Mestrado) – Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, Universidade Federal de Lavras, 2009.

GREISEN, S., LEDET, T., MOLLER, N., JORGENSEN, J. O. CHRISTIANSEN, J. S., PETERSEN K., et al. Effects of leptin on basal and FSH stimulated steroidogenesis in human granulosa luteal cells. **Acta. Ob. Gyn. Scand.** 2000;79:931–935.

GURGEL, J.R.C., VIANA, C.H.C., PEREZ, E.G.A., NICHI, M. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, n.2, p.122-132, 2008.

HENNEKE, D. R., POTTER, G. D., KREIDER, J. L., et al. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Vet J.** 1983;15(4):371–2.

HINRICHS K. & CHOI Y. H. 2005. Assisted reproductive techniques in the horse. **Clin. Tech. Equine Pract.** 4:210-218.

HOCQUETTE, J. F.; ABE, H. Facilitative glucose transporters in livestock species. **Reproduction Nutrition Development**, v.40, p.517–533, 2000.

HOFFMAN, R. M. et al. Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. **Journal Animal Science**, v.81, p.2333–2342, 2003.

HUFF, N. K. THOMPSON, D. L., GENTRY, L. R., DEPEW, C. G. Hyperleptinemia in Mares: Prevalence in Lactating Mares and Effect on Rebreeding Success. **Journal of Equine Veterinary Science**. Vol. 28, No 10, 2008.

JEFFCOOTT, L. B., FIELD, J. R. Glucose tolerance and insulin sensitivity in ponies and standard bred horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, n. 2, p. 97-101, 1986.

JOHNSON, P. J.; WEIDMEYER, C. E.; GANJAN, V. K.; MESSER, T. Laminitis and de Equine Metabolic Syndrome. **Vet. Clin. Equine**. 239-255. 2010.

JOHNSON, P. J. Metabolic syndrome in horses. Disponível em: [www.safergrass.org/full%20articles/metsynde.pdf](http://www.safergrass.org/full%20articles/metsynde.pdf). Acesso em: 08/07/2016.

KRONFELD, D. S. et al. Insulin resistance in the horse: Definition, detection, and dietetics. **Journal Animal Science**, v.83, suppl. E22–E31, 2005.

LANGE-CONSIGLIO, A., ARRIGHI, S., FIANDANESE, N., POCAR, P., ARALLA, M., BOSI, G., BORROMEO, V., BERRINI, A., MEUCCI, A., DELL'AQUILA, M. E., CREMONESI, F. Follicular fluid leptin concentrations and expression of leptin and leptin receptor in the equine ovary and in vitro-matured oocyte with reference to pubertal development and breeds. **Rep., Fert. and Dev.**, 2013, 25, 837–846.

LEARY, C., LEESE, H. J., STURMEY, L. G. Human embryos from overweight and obese women display phenotypic and metabolic abnormalities. **Human Reproduction**, 2014.

LIRA, R. A., PEIXOTO, G. C. X., SILVA, A. R. Transferência de embrião em equinos: Revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.4, p.132-140, 2009.

LOSINNO, L., ALVARENGA, M. A., 2006. Critical factors on equine embryo transfer program in Argentina and Brazil. **Acta Sci. Vet.** 34, 39–49.

MALAZDREWICH, C. Equine Endocrinology: Cushing's Disease and Metabolic Syndrome. Disponível em: <http://www.horse411.com/equine-endocrinology-cushings-disease-and-metabolic-syndrome/>. Acesso em: 01/07/2016.

MANTZOROS, C. S., CRAMER D., W., LIBERMAN, R., F. BARBIERI, R., L. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. **Hum. Reprod.** 2000;15:539–544

MCKINNON A. O., SQUIRES E. L. Morphological assessment of equine embryo. **J Am Vet Med Assoc**, v.192, p.401- 406, 1988.

NAKATA, M.; OKADA, T.; OZAWA, K.; YADA, T. Resistin induces insulin resistance in pancreatic islets to impair glucose-induced insulin release. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.353, p.1046–1051, 2007.

OGURI N. & TSUTSUMI Y. 1972. Nonsurgical recovery of equine eggs, and an attempt at nonsurgical egg transfer in horses. **J. Reprod. Fertil.** 31:187-195.

SOUZA, F. A., VALE FILHO. V. R., LIMA, A. L., CANISSO, I. F., SILVA, E. C.; Síndrome metabólica equina: resistência à insulina. **Veterinária em foco**, v.5, n.1, jul./dez. 2007.

SPICER L., J. Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction.

**Dom. Anim. Endocrinol.** 2001;21:251–270.

SPICER, L., J, FRANCISCO C., C. Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian thecal cell steroidogenesis. **Biol. Reprod.** 1998;58: 207–212.

STULL, C., RODIEK, A, V., Response of blood glucose, insulin and cortisol concentrations to common equine diet. **American Institute of Nutrition.** 1987.

TEIXEIRA, A. L. Cavalo Crioulo – O símbolo do Rio Grande do Sul. Editora: **Viver no Campo**, 2ed., 2011.

TREIBER, K. H., KRONFELD, D. S., HESS, T. M., et al. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 2006;228(10):1538–45.

WATSON, E.D., MCDONNELL, A.M., CUDDEFORD, D. Characteristics of cyclicity thoroughbred mares in the United Kingdom. **Vet. Rec.**, v.135. p.104-106, 1994.

ZÚCCARI, C.E.S.N., NUNES, D.B., CORRÊA FILHO, R.A.C.. Eficiência reprodutiva de éguas da raça pantaneira durante as estações de monta 1995/2000. **Arch. Zootec.** v.51. p. 139-148, 2002.