

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**DOMINIQUE DE PAULA WENZEN**

**DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO NA ÉGUA**

**PORTOALEGRE**

**2019/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO NA ÉGUA**

**Autora: Dominique de Paula Wenzen**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

**Orientador: Gustavo H. Z. Winter  
Coorientador: Henrique B. A. Bastos**

**PORTOALEGRE**

**2019/1**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus. Não sou uma pessoa religiosa, mas tenho fé e acredito que algo maior sempre nos guia e nos dá força para seguirmos pelos caminhos certos. Agradeço aos meus pais, Luiza e Krister, por nunca terem medido esforços para que eu realizasse meu sonho de me tornar médica veterinária. Agradeço a confiança que colocaram em mim ao longo desses anos de estudo e por terem sido sempre exemplos de perseverança e força. À minha irmã, Nicole, por estar sempre ao meu lado e por ser uma verdadeira amiga e companheira, sabemos que poderemos sempre contar uma com a outra. À minha avó Edy, por ser sempre tão carinhosa e positiva, sempre apoiando seus netos. À minha tia, Eunice, e a minha dinda, Vera, por serem pessoas extraordinárias, minhas anjas da guarda, que sempre me protegeram e que me deram suporte sempre que precisei. Sem elas eu não teria conseguido. Aos meus sogros, por serem pessoas maravilhosas e terem me acolhido como uma filha. Agradeço ao resto da minha família por formarem essa família maravilhosa. Sem vocês eu não seria quem sou hoje.

Agradeço ao meu namorado, Giovani Camozzato, por ser a melhor pessoa desse mundo. Por dividir comigo os mesmos sonhos e me apoiar em tudo sempre, por agüentar os momentos que precisei ficar horas na frente do computador e por ser um exemplo para mim, como pessoa e como profissional (Te amo!).

Agradeço a todos os meus amigos, que fizeram parte do meu crescimento pessoal, em especial agradeço aos mais próximos, que foram uma família para mim, Priscila, Carol, Vívian, Nathália, Anna, Hanna e Isabella. Obrigada pelas festas, indiadadas, risadas e companheirismo. Alguns ainda estão próximos, outros nem tanto. Mas deixam saudades. Agradeço aos colegas de turma, em especial à turma da produção, Gabriella, Gabriela, Juliana, Elisar e Mateus, por sempre estarmos unidos durante o curso, principalmente nessa reta final, formando uma bela parceria.

Agradeço ao meu Orientador Gustavo Winter, um professor exemplar sempre disposto a nos ensinar e nos fazer raciocinar. Ao meu co-orientador Henrique Bastos, pela orientação nessa monografia, mas também por todos os ensinamentos nesses anos de estágio, pela paciência e exemplo de competência.

Agradeço aos veterinários que me deram oportunidades de estágio e que dividiram comigo seus conhecimentos, contribuindo com a minha formação como veterinária: Fernando Gonzales, Frederico Schimitt, Leonardo Mattis, Juliano Dallago, Vanessa Jegan e

Andrea Keller.

Agradeço aos meus cães, por serem parte importantíssima na minha vida, enchendo meus dias de alegria. Por serem minha força de vontade para continuar e por me darem o amor mais puro e verdadeiro.

Agradeço ao Professor Rodrigo Costa Mattos, meu professor e orientador de estágio durante os 4 anos e meio no REPROLAB. Um grande mestre, com muita paixão pelo que faz. Obrigada pelas oportunidades que tive durante meu estágio e obrigada por tornar o REPROLAB um ambiente tão familiar e agradável para todos.

E por último agradeço ao REPROLAB, uma família que ganhei durante esses anos de estágio. Agradeço aos meus amigos e companheiros de estágio Matheus, Taci, Rogan, meu filho Leonardo, Anna, que sempre estiveram prontos pra ajudar caso fosse preciso. Aprendi muito com vocês, com certeza fazem parte da pessoa que sou hoje. E um agradecimento especial para Sabrina, pela parceria, pelas conversas produtivas, estudos e pelas ajudas de sempre (nunca medindo esforços). Agradeço também a parceria dos estagiários mais novos, Barbára, Mari, Carol, Victor, Thomas... que agora são os mais velhos e seguem essa jornada de aprendizado e oportunidades que o REPROLAB nos oferece, aproveitem.

Agradeço também aos pós-graduandos Verônica chefona, Vanessa, Angélica, Gustavo, Luis, Gabriel, Cesar e Fabiana por terem sido imprescindíveis para a minha formação. Vocês dividiram comigo o conhecimento, me ensinaram como pesquisar, trabalhar, ter postura. Foram e são um exemplo para mim, agradeço muito por tudo. Também agradeço a amizade e brincadeiras. Família REPROLAB é para sempre!

*“Só existem dois dias do ano em que você não pode fazer nada: um se chama ontem e outro amanhã” – Dalai Lama*

## RESUMO

As taxas de perda embrionária são altas na espécie equina durante o período de peri-implantação. Estima-se que 17% das gestações diagnosticadas no dia 15 são perdidas, sendo a maioria delas entre os dias 15 e 35. Portanto, o conhecimento dos eventos biológicos associados a este período da gestação em éguas é de extrema importância econômica, e por isso a necessidade de estudá-los. O presente trabalho tem o intuito de revisar o desenvolvimento embrionário da fecundação até a placentação inicial, fazendo um compilado de pontos importantes desse período e trazendo uma abordagem que possa ser utilizada na prática. A interação entre o embrião e o ambiente uterino é fundamental para que o desenvolvimento embrionário inicial, a implantação e a manutenção da gestação ocorram de maneira adequada. Muitos aspectos do início da gestação na égua são únicos para esta espécie. A fecundação, a retenção de oócitos não fecundados, a formação da cápsula, a movimentação embrionária, reconhecimento materno, a origem e desenvolvimento dos anexos fetais, a junção feto-maternal, e a formação dos cálices endometriais são alguns dos aspectos abordados nessa revisão. Através do conhecimento das características peculiares à espécie durante essa fase de grande importância para o sucesso da gestação, podemos avaliar a viabilidade embrionária, a idade gestacional e prever possíveis perdas, sendo de grande valia na aplicação prática das biotecnologias da reprodução equina

**Palavras-chave:** Ciclo estral, fecundação, gestação, reconhecimento materno, anexos embrionários.

## **ABSTRACT**

Early embryonic death rates are high during the peri-implantation period in the equine species. It is estimated that 17% of gestations diagnosed on the 15th day post ovulation are lost, mainly between days 15 and 35. For this reason, the knowledge about the biological events associated to this gestational period is of extreme economic importance, and therefore there is a need to study them. The interaction between the embryo and the uterine environment is fundamental for early embryonic development, implantation and gestation maintenance, to occur adequately. Many aspects of the early gestational period in the mares, are unique to this species and have practical meaning in veterinary medicine. Fertilization, retention of non-fertilized oocytes, formation of the embryonic capsule, embryonic mobility, maternal recognition of gestation, fetal membranes origin and development, fetal-maternal-junction, and the formation of endometrial cups are some of the aspects addressed in this review. Through the knowledge of the peculiar to this species during this fase of great importance to the pregnancy success, we can evaluate embryonic viability, gestational age and prevent possible losses, being of great value for the practical application of reproductive biotechnologies.

**Key-words:** Estrous cycle, fertilization, gestation, maternal recognition, fetal membranes.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Diagrama do resultado de 2 horas de movimentação embrionária. A localização embrionária foi observada a cada 5 minutos. O número de minutos necessários para o embrião chegar de um ponto a outro está demonstrado..... 15
- Figura 2 - Diagrama demonstrando a restrição da movimentação embrionária e os efeitos uterinos que essa movimentação causa..... 16
- Figura 3 - **A** - (Égua cíclica dia 7 após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura do endométrio mostrando na mesma proporção células ciliadas e células secretórias planas. **B** - (Égua prenhe de 7 dias após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura do endométrio mostrando células ciliadas, células secretórias protusas e histotrofo. **C** - (Égua cíclica dia 10 após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura mostrando abundante quantidade de células ciliadas. **D** - (Égua prenhe de 10 dias após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura do endométrio mostrando poucas células ciliadas e gotas de histotrofo no epitélio..... 18
- Figura 4 - Ultrassonografia doppler demonstrando um intenso fluxo sanguíneo e um engrossamento na parte dorsal do endométrio, local onde ocorre a invasão mesometrial pelas células do trofoblasto. As cores azul e vermelho indicam a direção do fluxo sanguíneo em relação ao transdutor, e a intensidade da cor representa a velocidade do fluxo. O ponto colorido no embrião representa os batimentos cardíacos..... 19
- Figura 5 - Diagrama de embriões de 9, 11, 12 e 14 dias. No diagrama vemos a cápsula e as camadas ectoderme, endoderme e início da mesoderme avascular..... 22
- Figura 6 - Diagrama de um embrião no dia 16. Dia da fixação..... 23
- Figura 7 - Diagrama de um embrião de 21 dias..... 22
- Figura 8 - Diagrama, imagem de ultrassom e foto das estruturas gestacionais nos dias 21 e 24..... 24
- Figura 9 - Diagrama, imagem de ultrassom e foto das estruturas gestacionais nos dias 21 e 24..... 25

Figura 10 - Diagrama, imagem de ultrassom e foto de um embrião de 36 dias, enfatizando o anel coriônico.....	26
Figura 11 - Diagrama de um embrião de 40 e 50 dias, anexos embrionários e cálices endometriais.....	26
Figura 12 - Diagrama da invasão das células trofoblásticas ao endométrio.....	27
Figura 13 - Imagem ultrassonográfica dos dias 10 e 12 de gestação.....	28
Figura 14 - Imagem ultrassonográfica do útero e embrião aos 22 dias de gestação.....	29
Figura 15 - Imagem ultrassonográfica do útero e embrião aos 22, 24, 26, 29 e 36 dias de gestação.....	30
Figura 16 - Imagem ultrassonográfica simples e em 3D mostrando um embrião de 27 dias que se encontra em orientação anormal.....	31
Figura 17 - Imagem ultrassonográfica do útero e embrião, e diagrama de um embrião de aproximadamente 40 e 45 dias de gestação.....	32
Figura 18 - Imagem mostra uma vesícula embrionária equina no modo 3D. A - Imagem de vesícula embrionária de 26 dias em 3D onde se identifica o embrião propriamente dito na parte ventral da vesícula embrionária. B - Imagem de vesícula embrionária aos 34 dias em 3D, nota-se o embrião ao centro da vesícula e as divisões do saco vitelino na parte superior e o saco alantoide na região inferior direita.....	33

## **LISTA DE ABREVIACOES**

PGF2- $\alpha$  – Prostaglandina F2- $\alpha$

PGE2 – Prostaglandina E2

RMP – Reconhecimento materno da Prenhez

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>CARACTERÍSTICAS DA GESTAÇÃO INICIAL NA ÉGUA.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>Fecundação.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>Transporte do embrião no oviduto.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3</b>	<b>Cápsula.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4</b>	<b>Movimentação embrionária.....</b>	<b>14</b>
<b>2.5</b>	<b>Reconhecimento materno da prenhez.....</b>	<b>16</b>
<b>2.6</b>	<b>Vascularização.....</b>	<b>19</b>
<b>2.7</b>	<b>Fixação.....</b>	<b>20</b>
<b>2.8</b>	<b>Desenvolvimento do saco vitelínico.....</b>	<b>20</b>
<b>2.9</b>	<b>Cordões do saco vitelínico.....</b>	<b>23</b>
<b>2.10</b>	<b>Transição de saco vitelínico para alantóide.....</b>	<b>24</b>
<b>2.11</b>	<b>Cálices endometriais.....</b>	<b>27</b>
<b>3</b>	<b>ACOMPANHAMENTO ULTRASSONOGRÁFICO.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	<b>Primeira detecção do embrião propriamente dito.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2</b>	<b>Fase alantoica (Dias 21–40).....</b>	<b>30</b>
<b>3.3</b>	<b>Descida do embrião (Dia–40).....</b>	<b>32</b>
<b>4</b>	<b>ULTRASSONOGRAFIA TRIDIMENSIONAL (3D).....</b>	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>33</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Em 2006 os estudos apontaram um PIB da equinocultura de 7,5 bilhões de reais que foram atualizados e atingiram a marca de 16 bilhões de reais (IBGE, 2015), ou seja, um crescimento bruto de 11,3% ao ano. Além disso, o Brasil tem um dos maiores rebanhos do mundo, aproximadamente 5,5 milhões de animais (IBGE, 2017). Mostrando que o agronegócio do cavalo ganha a cada ano maior espaço no mercado brasileiro, sendo uma importante atividade econômica e social.

A gestação inicial na égua é um período crítico, de extrema importância econômica (HAYES *et al.*, 2012) pois estima-se que 17 % das gestações equinas diagnosticadas no 15º dia são perdidas, sendo a maioria delas entre o dia 15 e 35 (MORRIS; ALLEN, 2002). A perda embrionária, ou morte embrionária, tem sido vista como fator de redução de fertilidade em éguas e é caracterizada pela perda gestacional do momento da concepção até o 40º dia de gestação (BALL, 1988). Isso ocorre, pois é um período que envolve numerosos eventos e profundas mudanças no desenvolvimento embrionário (STOUT, 2009).

A espécie equina apresenta particularidades em relação ao desenvolvimento morfológico do embrião, à movimentação, à origem dos anexos fetais, à fixação, desenvolvimento do âmnio e dos cálices endometriais e a atividade fetal. A fase embrionária é um momento crítico, onde ocorrem as maiores taxas de perdas gestacionais e, muitas vezes, é um período pouco estudado por veterinários que trabalham a campo. O presente trabalho tem o intuito de revisar o desenvolvimento embrionário da fecundação até a placentação inicial, fazendo um compilado de pontos importantes desse período e trazendo uma abordagem que possa ser utilizada na prática. Através do conhecimento das características peculiares à espécie durante essa fase de grande importância para o sucesso da gestação, podemos avaliar a viabilidade embrionária, a idade gestacional e prever possíveis perdas gestacionais.

## **2. CARACTERÍSTICAS DA GESTAÇÃO INICIAL NA ÉGUA**

### **2.1 Fecundação**

A fecundação ocorre na ampola do oviduto, quando acontece a fusão do oócito com o espermatozoide, isso ocorre com o gameta masculino migrando entre as células do cúmulus, atravessando a zona pelúcida e penetrando para atingir a membrana vitelínica e, por último, a fusão dos gametas. Os espermatozoides passam por uma maturação, capacitação e reação do acrossoma para que sejam capazes de fecundar, liberando enzimas hidrolíticas como, a acrosina e a hialuronidase necessárias para penetração no oócito (HAZEZ; HAFEZ, 2004).

A liberação do oócito maturado ocorre no momento da ovulação. Esse oócito passa por transformações durante o desenvolvimento folicular, como a formação da zona pelúcida e a retomada e finalização da primeira divisão meiótica com a extrusão do primeiro corpúsculo polar, se preparando para a fecundação (GINTHER, 1992). A placa metafásica marca o início da segunda divisão meiótica que vai ocorrer somente após a fusão da região equatorial do espermatozoide com a membrana vitelínica, ocorrendo a retomada da segunda divisão meiótica e liberando o segundo corpúsculo polar (GINTHER, 1992). Os dois pró-núcleos, masculino e feminino migram para o centro do oócito, os envelopes nucleares se rompem e se fundem, formando a primeira célula do embrião, o zigoto (GINTHER, 1992; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

### **2.2 Transporte do embrião no oviduto**

A partir do estágio de zigoto, o embrião sofre uma série de divisões mitóticas, sendo a primeira 24 horas após a fecundação (HERRLER; BEIER, 2000). Nessas divisões celulares não ocorre aumento da massa celular, sendo que o diâmetro do oócito pré-ovulatório, zigoto e embrião clivado não muda até a formação do blastocisto, geralmente após deixar o oviduto (GINTHER, 1992; BETTERIDGE, 2000).

A clivagem do zigoto origina os blastômeros e as divisões iniciais ocorrem simultaneamente em todos os blastômeros, porém, após algum tempo essa sincronização é perdida (GINTHER, 1992). O oócito e o embrião clivado até o estágio de oito células apresentam uma forma mais elíptica e após a terceira clivagem se aglomeram formando uma massa compacta, a mórula. (AURICH, 2015).

Aproximadamente 4 a 5 dias após a fecundação, o embrião possui de 16 a 32 células (GINTHER, 1992). Uma vez que o embrião tenha formado 16 blastômeros, ele é denominado mórula (HERRLER; BEIER, 2000). Durante esta fase o embrião é transportado da ampola do oviduto, local da fecundação, em direção ao útero onde deve ocorrer a gestação (BETTERIDGE, 2000).

Segundo Allen (2000;2001), no oviduto equino, existem diferenças importantes no transporte de oócitos e embriões comparados a outras espécies de mamíferos. A retenção de oócitos não fecundados e embriões degenerados nas dobras tortuosas do oviduto é um fenômeno exclusivo da espécie equina (FLOOD; JONG; BETTERIDGE, 1979). Já um embrião viável atravessa a junção útero tubárica chegando ao útero entre 144 e 168 horas após a ovulação (6 a 6,5 dias) no estágio de mórula tardia ou blastocisto inicial (ALLEN, 2000).

Autores relatam que, a partir do estágio de mórula tardia, o embrião começa a secretar prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (GINTHER, 1992; ALLEN, 2000; BETTERIDGE, 2000). Essa PGE<sub>2</sub> provoca contrações locais e relaxamento da musculatura lisa, permitindo que o embrião se mova progressivamente com o auxílio do batimento ciliar rítmico, chegando ao útero (GASTAL *et al.*, 1998b). Nesse momento o embrião tem aproximadamente 0,2 mm (BETTERIDGE *et al.*, 1982; SHARP, 2000).

### 2.3 Cápsula

A cápsula do embrião, característica de equídeos, é uma fina camada acelular e transparente que se forma entre a zona pelúcida e o trofoblasto quando o embrião passa para o estágio de blastocisto intrauterino no dia 6 ou 7 após a ovulação, sendo composta por glicoproteínas semelhantes à mucina produzidas pelo trofoblasto (BETTERIDGE *et al.*, 1982; GINTHER, 1992; ALLEN, 2001). Pode haver também um envolvimento uterino na origem da cápsula, pois foi observado no cultivo *in vitro* de embriões pré-capsulares que não houve a formação da mesma (GINTHER, 1992).

Após a entrada no útero, o blastocisto se expande rapidamente ocorrendo a diminuição da espessura da zona pelúcida que se desprende da cápsula até o dia oito. Então, a cápsula permanece no exterior revestindo completamente o embrião (GINTHER, 1992; BETTERIDGE, 2000). A cápsula contribui para o afrouxamento e perda da zona pelúcida (STOUT; MEADOWS; ALLEN, 2005).

Alguns estudos sugerem que a mucina capsular seja secretada em maior parte pelo

trofoblasto (ARAR *et al.*, 2007), entretanto a cápsula também contém outras proteínas de origem materna. A produção de mucina é observada a partir da formação do blastocisto e aumenta até o dia 18, e então começa a diminuir, antes de desaparecer completamente entre os dias 21 e 23 (STEWART; LENNARD; ALLEN, 1995; STOUT; MEADOWS; ALLEN, 2005).

A cápsula mantém a forma esférica do embrião durante o período do reconhecimento materno da gestação. É bastante resistente e elástica funcionando como uma proteção física durante a fase de migração, permitindo com que o embrião migre de uma extremidade à outra no lúmen uterino (BETTERIDGE, 2000; SHARP, 2000; ARAR *et al.*, 2007). Devido às altas concentrações de ácido siálico, age também como uma molécula anti-adesiva (SHARP, 2000; STOUT; MEADOWS; ALLEN, 2005). Além disso, a cápsula fornece a proteção contra o estresse mecânico das contrações miométriais (STOUT; MEADOWS; ALLEN, 2005) e é uma defesa biológica contra microrganismos e sistema imunológico materno (STEWART; LENNARD; ALLEN, 1995). À medida que o conceito se move pelo interior do útero, a cápsula acumula em sua superfície uma série de componentes das secreções das glândulas endometriais, participando também no processo de nutrição do embrião (ALLEN, 2001). Finalmente, a posição da cápsula na interface materno-fetal sugere que ela tenha uma importante função na comunicação entre mãe e feto durante o início da gestação (STEWART; LENNARD; ALLEN, 1995).

Em um estudo avaliando a viabilidade embrionária Stout e colaboradores (2005) removeram a cápsula de embriões e os transferiram em éguas receptoras, como resultado eles obtiveram que nenhum dos embriões desprovidos de cápsula desenvolveu a gestação, enquanto os embriões que possuíam cápsula desenvolveram normalmente a gestação.

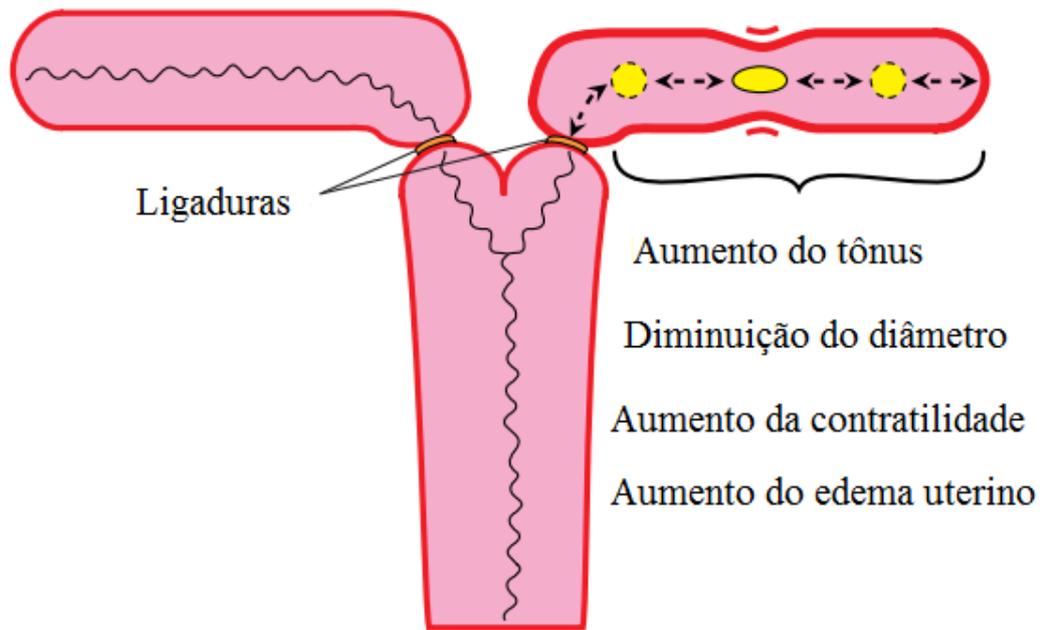
## **2.4 Movimentação embrionária**

A movimentação embrionária nos permite diferenciar o embrião de possíveis cistos uterinos, pois o cisto é fixo enquanto o embrião é móvel (MCCUE, MCKINNON, 2011). Além disso, em casos de gestação gemelar, essa movimentação nos permite a redução de uma vesícula com menor chance de danificar a remanescente (MCKINNON, 2011).

A movimentação é necessária para a manutenção da gestação, embora o mecanismo de ação desta movimentação não esteja completamente elucidado, se supõe que durante a migração o embrião secrete uma substância antiluteolítica ou iniba a secreção pulsátil de



Figura 2 - Diagrama demonstrando a restrição da movimentação embrionária e os efeitos uterinos que essa movimentação causa.



Fonte: Adaptado de Ginther (1998)

Durante a fase de movimentação o embrião secreta  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  e  $\text{PGE}_2$ . Essas prostaglandinas não têm acesso à circulação sistêmica em quantidade suficiente para comprometer a função do corpo lúteo. Possivelmente estão relacionadas ao estímulo local, promovendo contrações miométriais que movimentam o embrião (STOUT; ALLEN, 1996). Estas prostaglandinas produzidas pelo embrião possivelmente apresentam outras funções, como promover a rápida expansão do blastocisto inicial, aumentar o fluxo sanguíneo uterino e a permeabilidade vascular, facilitando a distribuição de nutrientes para o desenvolvimento embrionário (STOUT; ALLEN, 2002).

## 2.5 Reconhecimento materno da prenhez

Os eqüinos possuem um período de reprodução sazonal, com sua maior atividade ocorrendo nos dias longos de primavera e verão (AURICH, 2015). Durante o período de reprodução os ciclos estrais duram cerca de 22 dias, com 5 a 7 dias de estro, sendo que a luteólise ocorre no dia 15 após-ovulação (AURICH, 2011). A  $\text{PGF}_2\alpha$  é o hormônio luteolítico que induz a regressão cíclica do corpo lúteo, e ela é secretada pelo endométrio ao fim do diestro (ALLEN, 2000; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Durante muito tempo se sugeriu que a cascata luteolítica acontecia até o dia 10 pós-

ovulação (GOFF; PONTBRIAND; SIROIS, 1987; STOUT; LAMMING; ALLEN, 1999). Porém, pesquisas mais recentes conseguiram sucesso em transferência de embriões de 10 dias em éguas que estavam no dia 10 e 12 pós-ovulação, provando que a cascata luteolítica em éguas não prenhas não inicia antes do dia 12 pós-ovulação (WILSHER; CLUTTON-BROCK; ALLEN, 2010). O embrião indica a sua presença e interrompe o ciclo estral mantendo a gestação, sendo esse processo conhecido como "reconhecimento materno da prenhez"(RMP) (SHORT, 1969).

Durante o RMP ocorre uma interação recíproca (KLEIN, 2016a), ininterrupta e completa entre o útero e o embrião, sendo essencial para o estabelecimento e manutenção da prenhez (MEIRA, 2012). Esse mecanismo que inibe a luteólise ainda não é bem compreendido, mas se conclui que deve estar ativo entre os dias 12 e 14 pós-ovulação (AURICH, 2015).

O embrião equino é dependente das secreções uterinas para a sua manutenção durante o período peri-implantação (CAMOZZATO *et al.*, 2018). Proteínas secretadas pelo embrião contribuem para a formação do histotrofo (BURTON *et al.*, 2002) que, de acordo com Camozzato *et al.* (2018), aumenta a sua produção a partir do dia 10. O aumento da vascularização uterina também ocorre em éguas gestantes, o que está relacionado com o aumento do histotrofo, pois os nutrientes chegam via corrente sanguínea (ALLEN; WILSHER, 2009; KLEIN, 2016). O mecanismo que provoca esse aumento da perfusão vascular é desconhecido, mas é provável que esteja relacionado a substâncias vasoativas produzidas pelo embrião (CAMOZZATO *et al.*, 2018).

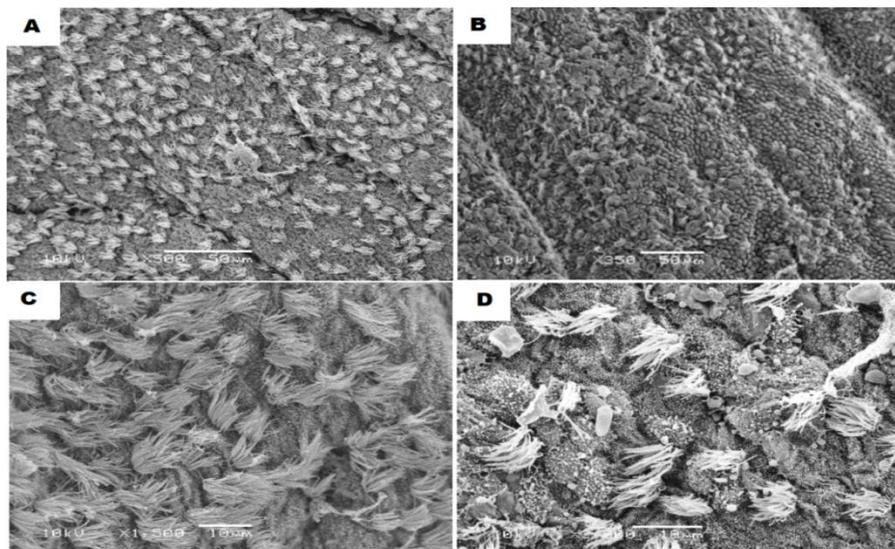
O embrião produz diversos produtos secretórios durante a gestação inicial, incluindo esteroides, prostaglandinas, proteínas e peptídeos (BETTERIDGE, 2000), assim como o interferon delta, um membro da família dos interferons tipo 1 (OCHET; VAIMAN; LEFEVRE, 2009). O estrógeno produzido pelo embrião pode estar associado à estimulação da vascularização (RAESIDE *et al.*, 2009; RAESIDE *et al.*, 2012) assim como a sua movimentação, que é associada à um temporário aumento da perfusão vascular que acompanha a movimentação do embrião (SILVA *et al.*, 2005). Esse movimento constante permite o contato com a maior parte da superfície endometrial, também servindo como sinalização da sua presença e um estímulo para as secreções uterinas (SHARP, 2000). As prostaglandinas produzidas pelo embrião, principalmente a PGE<sub>2</sub>, também estimulam o aumento do fluxo sanguíneo uterino (RAESIDE *et al.*, 2012).

De acordo com Camozzato *et al.* (2018), também foi observada maior quantidade de glândulas secretórias e menor quantidade de células ciliadas assim que o embrião chega ao

útero (Figura 3 - B e D). A característica mais marcante da transformação endometrial durante o estágio embrionário (21 a 42 dias) foi o quase completo desaparecimento de células ciliadas na superfície epitelial do endométrio, proporcionando um ambiente com maior acúmulo de histotrofo (WINTER *et al.*, 2014).

O remodelamento endometrial em éguas é modulado pelo embrião, criando um ambiente uterino favorável ao seu desenvolvimento, garantindo condições ideais para os eventos dinâmicos de movimentação, reconhecimento materno, fixação, modulação imune uterina, implantação, e, eventualmente, placentação (SILVA *et al.*, 2011).

Figura 3 - **A** - (Égua cíclica dia 7 após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura do endométrio mostrando na mesma proporção células ciliadas e células secretórias planas. **B** - (Égua prenhe de 7 dias após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura do endométrio mostrando células ciliadas, células secretórias protusas e histotrofo. **C** - (Égua cíclica dia 10 após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura mostrando abundante quantidade de células ciliadas. **D** - (Égua prenhe de 10 dias após-ovulação) Microscopia eletrônica de varredura do endométrio mostrando poucas células ciliadas e gotas de histotrofo no epitélio.

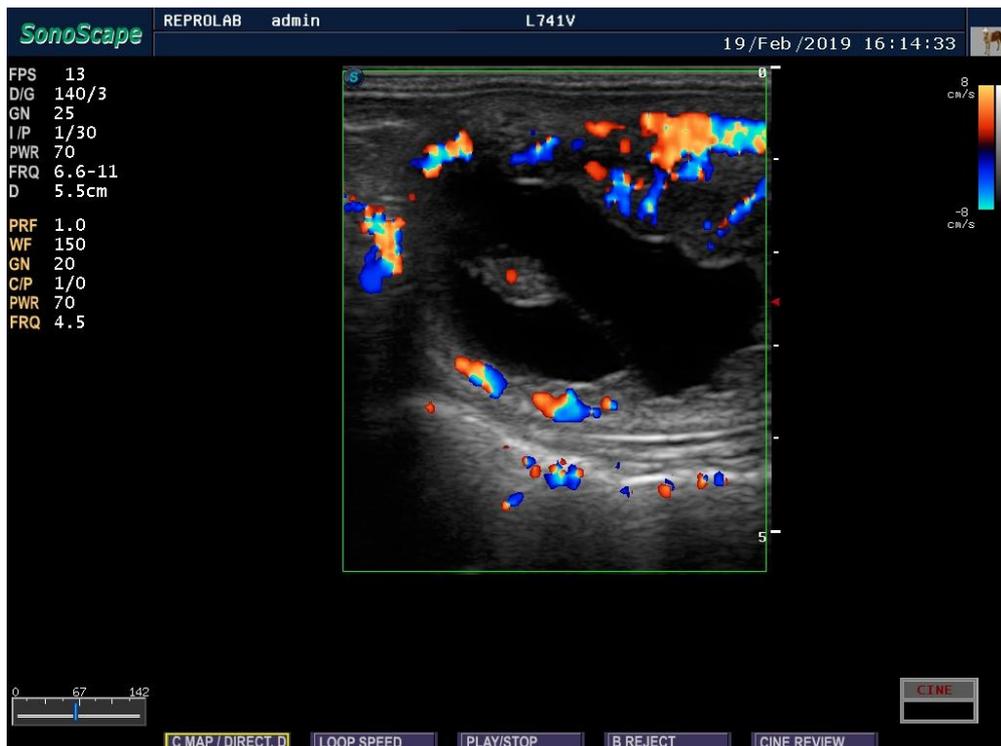


Fonte: Adaptado de Camozzato *et al.* (2018)

## 2.6 Vascularização

Silva *et al.* (2005) observaram a interação do embrião com o endométrio e as alterações no fluxo sanguíneo uterino. Utilizando ultrassonografia Doppler, monitoraram a perfusão sanguínea no endométrio de ambos os cornos uterinos começando no dia seguinte à ovulação até o dia 16 e constataram que após o dia 12 havia um aumento significativo na vascularização do endométrio quando o embrião permanecia por mais de sete minutos em um mesmo local. De acordo com Silva *et al.* (2011), após a fixação, a perfusão se mantinha significativamente mais elevada no corno uterino gravídico (Figura 4), provavelmente como resultado dos estrógenos e prostaglandinas secretadas pelo embrião. O conceito desempenha um papel ativo na vasculogênese uterina, favorecendo a chegada de nutrientes importantes após a fixação (SILVA *et al.*, 2011).

Figura 4 - Ultrassonografia doppler demonstrando um intenso fluxo sanguíneo e um engrossamento na parte dorsal do endométrio, local onde ocorre a invasão mesometrial pelas células do trofoblasto. As cores azul e vermelho indicam a direção do fluxo sanguíneo em relação ao transdutor, e a intensidade da cor representa a velocidade do fluxo. O ponto colorido no embrião representa os batimentos cardíacos.



Fonte: Reprolab - UFRGS

## 2.7 Fixação

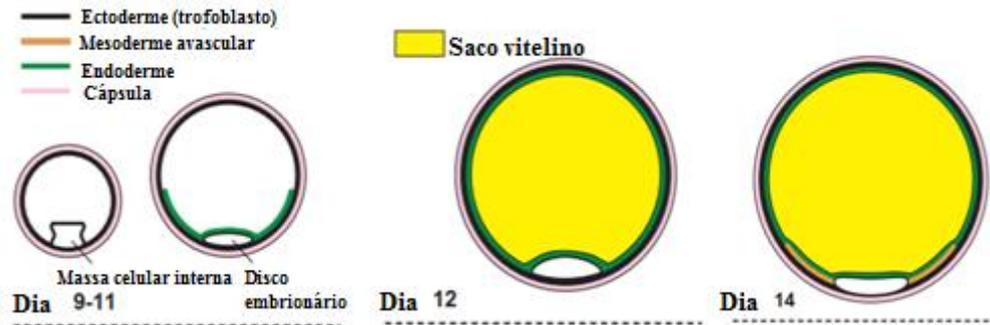
O término da movimentação embrionária, que ocorre por volta do dia 16, é chamado de fixação. No dia da fixação, a vesícula ainda é esférica conforme demonstrado pelos estudos ultrassonográficos (GINTHER, 1995). A fixação da vesícula ocorre pelo aumento no seu diâmetro, aumento no tônus uterino e diminuição do lúmen uterino e geralmente ocorre em um dos cornos, próximo à bifurcação (GINTHER, 1998). De acordo com Arar *et al.* (2007), a fixação do embrião está associada a uma perda de ácido siálico e flacidez das glicoproteínas capsulares. A uterocalina é secretada pelo endométrio e possui associação com a cápsula e perda de ácido siálico. Esse mesmo estudo demonstrou que a secreção de uterocalina é dependente de progesterona e sua deficiência pode dar origem a cápsulas defeituosas, que mostram uma falha na perda do ácido siálico, interferindo no processo de fixação (ARAR *et al.*, 2007).

## 2.8 Desenvolvimento do saco vitelínico

O embrião é chamado de blastocisto inicial quando a blastocele, um acúmulo de fluido, começa a se formar e a massa celular interna é estabelecida em um polo. Nessa fase, as células do embrião se diferenciam em trofoblasto e embrioblasto. O trofoblasto é formado a partir da camada celular externa e vai ter a função de captação de nutrientes, dando origem a porção embrionária da placenta chamada córion, responsável também pela implantação do embrião na parede uterina (GINTHER, 1998).

Já o embrioblasto, é originado da massa celular interna que se projeta para o interior da blastocele e originará o embrião propriamente dito (SHARP, 2000). De acordo com Ginther (1992), essa diferenciação em trofoblasto e botão embrionário é a principal característica do blastocisto e, durante o processo de gastrulação, o embrioblasto se desenvolve em 3 camadas germinativas primárias do embrião: a ectoderme, a mesoderme e a endoderme (Figura 5).

Figura 5 - Diagrama de embriões de 9 - 11, 12 e 14 dias. No diagrama vemos a cápsula e as camadas ectoderme, endoderme e início da mesoderme avascular.



Fonte: Adaptado de Ginther (1998)

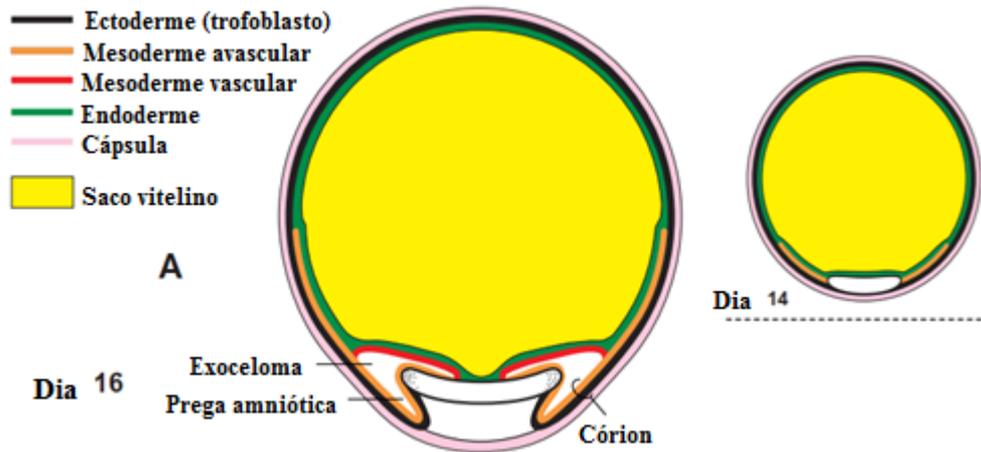
O diâmetro da vesícula embrionária nos próximos dias varia bastante e o estágio de desenvolvimento parece mais relacionado com o diâmetro e morfologia do que com a idade (GINTHER, 1992). A conversão da parede de camada única do blastocisto em uma estrutura de duas camadas ocorre após o envolvimento da cavidade do blastocisto por uma camada de células endodérmicas (Figura 5) e acredita-se que esse envolvimento está completo por volta do dia 12 (GINTHER, 1992).

O lúmen do saco vitelínico está diretamente em contato com o lúmen do intestino primitivo e, portanto, solutos orgânicos e inorgânicos e água do ambiente uterino são absorvidos pelo saco vitelínico tornando-os disponíveis para o embrião (GINTHER, 1992). Um dos aspectos distintos do conceito equino é a persistência do saco vitelínico. Muitas espécies animais desenvolvem o saco vitelínico, mas ele rapidamente se torna afuncional e aparentemente não contribui para a nutrição do embrião. Nos equinos, entretanto, ele é uma estrutura predominante nas primeiras três ou quatro semanas de gestação e tem um importante papel no suprimento nutricional inicial do embrião (SHARP, 2000).

As células do trofoblasto (ectoderme) são colunares com característica absorptivas. A terceira camada, mesoderme, começa a aparecer entre o trofoblasto e a endoderme do saco vitelínico (Figura 5), provavelmente no dia 14, dando origem à parede do disco embrionário (GINTHER, 1998) e ao mesênquima de sustentação, ou vasos sanguíneos do tecido conjuntivo (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Na fixação, em uma porção menor que a metade da parede do saco vitelínico desenvolve-se uma terceira camada (mesoderme) e vasos sanguíneos começaram a se desenvolver próximos ao embrião, formando a mesoderme vascular (GINTHER, 1992). Ginther (1998) observou a formação de uma cavidade, o exoceloma, dentro da mesoderme, próximo ao embrião, dividindo a mesoderme em duas camadas. Dobras de ectoderme e mesoderme começam a passar pelo embrião e darão origem ao âmnio (Figura 6).

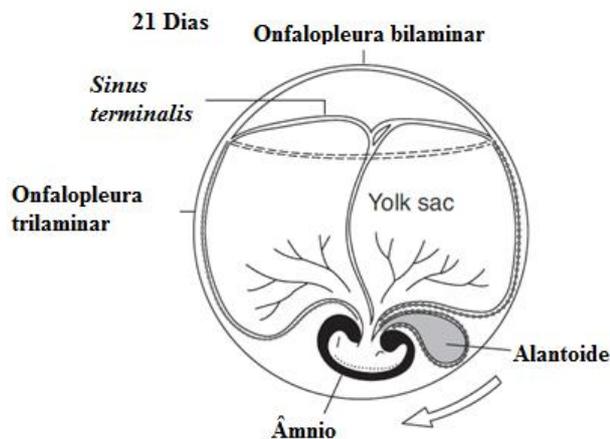
Figura 6 - Diagrama de um embrião no dia 16. Dia da fixação.



Fonte: Adaptado de Ginther (1998)

A principal extremidade da vascularização da mesoderme é demarcada por uma proeminente coleção de veias, denominada *sinus terminalis* (Figura 7). A parede do saco vitelínico entre o *sinus terminalis* e o embrião propriamente dito possui três camadas (endoderme, mesoderme e ectoderme) e é denominada onfalopleura trilaminar (SHARP, 2000). No polo oposto ao embrião propriamente dito, o saco vitelínico possui somente duas camadas (ectoderme e endoderme) e é denominada onfalopleura bilaminar (GINTHER, 1992).

Figura 7 - Diagrama de um embrião de 21 dias.



Fonte: Adaptado de De Mestre, Antczak e Allen (2011)

São formadas Ilhas de Sangue na mesoderme e estas gradualmente aumentam, originando a parede funcional do saco vitelínico que está conectada ao embrião. O saco vitelínico não armazena nutrientes, mas com a vascularização o histotrofo chega rapidamente e com eficiência para promover o desenvolvimento embrionário (GINTHER,1998). A onfalopleura bilaminar e o *sinus terminalis* são estruturas anatômicas, que indicam o lado oposto ao desenvolvimento embrionário propriamente dito (Figura 7), e que mais tarde marcam a posição de fixação do cordão umbilical no feto (SHARP, 2000).

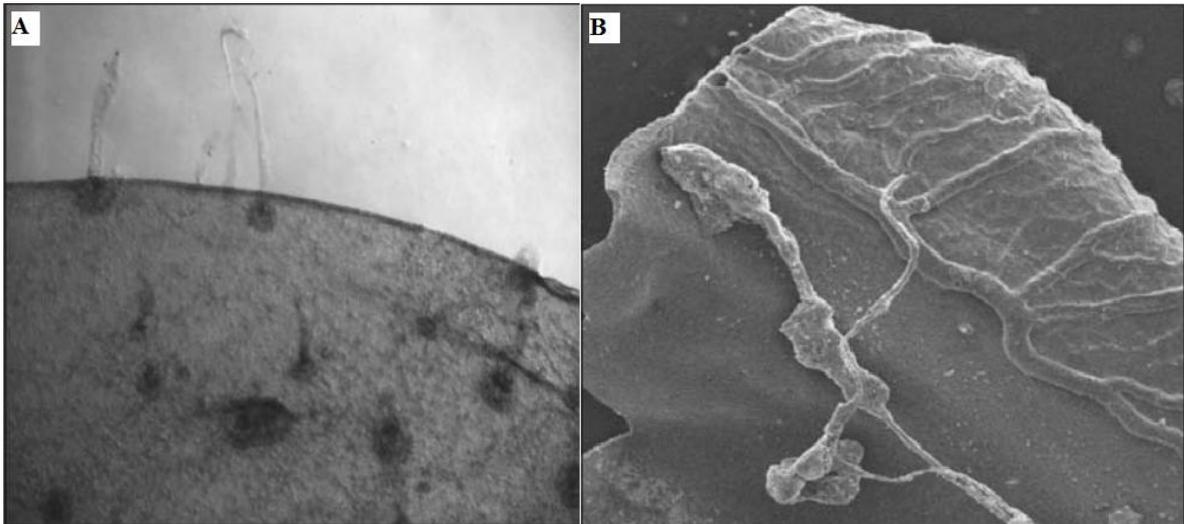
## 2.9 Cordões do saco vitelínico

Ewart (1915) observou que o embrião eqüino de 21 dias apresenta discos de trofoectoderme na parte exterior da parede bilaminar do saco vitelínico e na parte interna apresenta tubérculos em justaposição. Próximo ao momento da perda da cápsula, por volta do dia 20 de gestação, foram observados cordões de material translúcido (Figura 8A), em associação com os discos e tubérculos, que se projetam para dentro do saco vitelínico (Raeside *et al.*, 2004).

De acordo com Betteridge *et al.* (2004), esses cordões são formados por material translúcido e acelular, aparentemente se originando dos tubérculos e tornando-se mais extensos à medida que o concepto se desenvolve e, através da microscopia eletrônica de varredura, foi observado que eles são compostos por cordões menores, geralmente conectando um tubérculo do saco vitelínico ao outro (Figura 8 - B).

Amoroso (1952) chamou a atenção à semelhança com a membrana de Reichert's, que ocorre em embriões de roedores (BOYD; HAMILTON, 1952), mas é incomum em outros mamíferos. Concluiu-se que essa membrana pode estar relacionada à nutrição do embrião, sendo considerada um elemento importante durante a placentação coriovitelínica, e deve ser melhor estudada (AMOROSO, 1952).

Figura 8 - A - Cordões translúcidos do saco vitelínico ligados aos seus tubérculos na superfície interna da onfalopleura bilaminar e se projetando para o interior do saco vitelínico em um embrião coletado aos 22 dias pós-ovulação. B - Microscopia eletrônica de varredura da superfície interna da borda entre a camada da onfalopleura trilaminar vascularizada (topo à direita) e a onfalopleura bilaminar avascularizada (abaixo à esquerda).

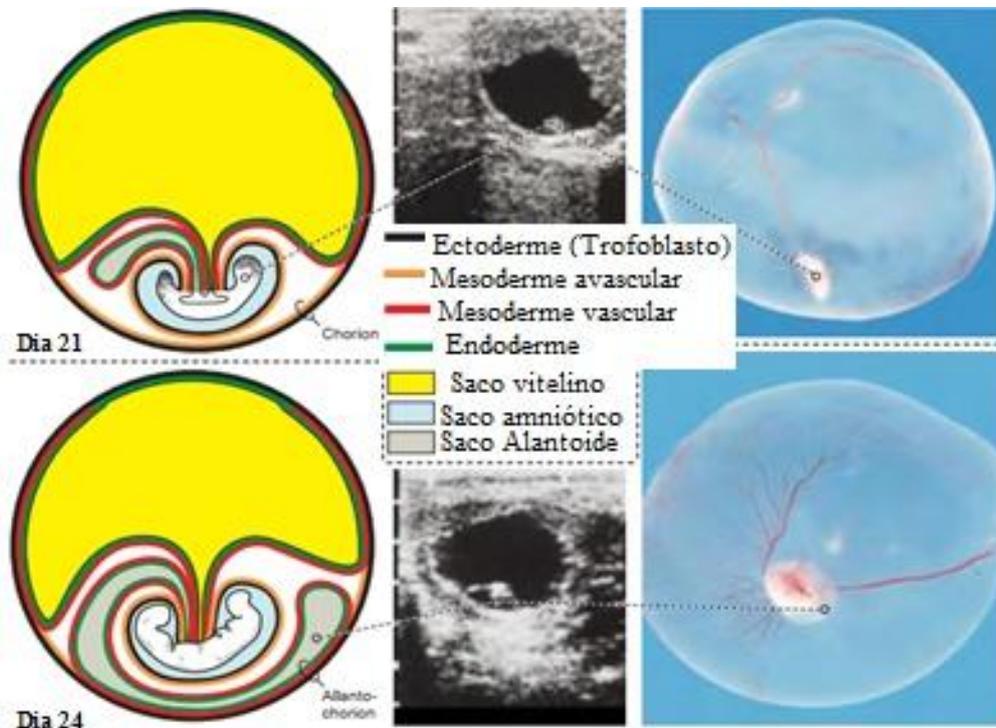


Fonte: Adaptado de Betteridge *et al.* (2004)

## 2.10 Transição de saco vitelínico para alantoide

O conhecimento das camadas da parede do saco vitelínico e das membranas associadas à transição do saco vitelínico para o saco alantoico é necessário para a interpretação completa das imagens ultrassonográficas de gestações simples ou gemelares, e distinção entre vesículas embrionárias e cistos uterinos e orientação embrionária (GINTHER, 1998). No dia 21, a cavidade amniótica está completamente formada (Figura 9) e o alantoide começa a emergir do intestino primitivo sendo o responsável pelas mudanças fisiológicas que surgem a partir desse período (GINTHER, 1998). O seu crescimento ocorre no *exoceloma* e se torna proeminente no dia 24, envolvendo externamente todo o embrião (SHARP, 2000).

Figura 9 - Diagrama, imagem de ultrassom e foto das estruturas gestacionais nos dias 21 e 24.

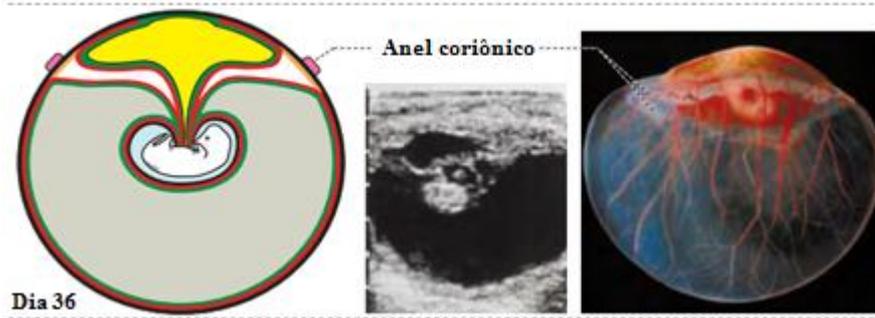


Fonte: Adaptado de Ginther (1998)

O âmnio é responsável por proteger o embrião de choques mecânicos e desidratação e o líquido amniótico é formado por secreções das paredes (ou folhetos amnióticos) e, posteriormente, secreções fetais (GINTHER, 1992). Nas primeiras três a quatro semanas de gestação, a placentação equina pode ser descrita como coriovitelínica e, após a quarta semana, o alantoide começa a aumentar fazendo com que a placenta se torne corioalantoica, devido ao predomínio do saco alantoico constituído pelas três camadas germinativas (SHARP, 2000).

Durante os dias 22 a 25, inicia-se a ascendência do embrião, que é levado para o polo superior devido ao tamanho do saco alantoico que aumenta gradativamente movendo o embrião para longe do assoalho da vesícula (HAFEZ; HAFEZ, 2004), e a porção não vascular da parede do saco vitelínico se torna uma área relativamente pequena (GINTHER, 1998). A área do córion, entre o alantoide e saco vitelínico, é onde se localiza a anel coriônico (Figura 10), formada por células trofoblásticas precursoras dos cálices endometriais (GINTHER, 1998).

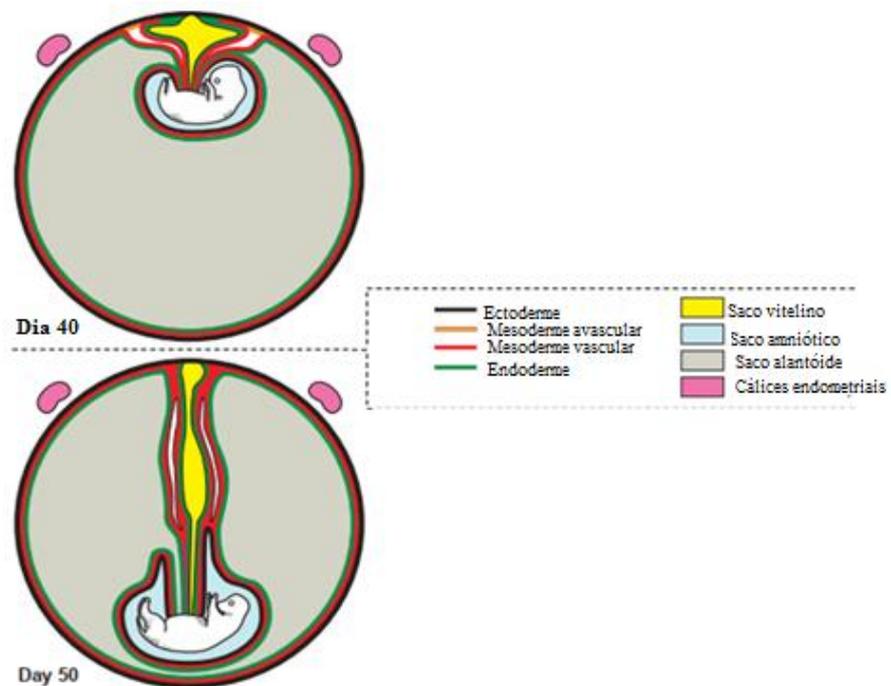
Figura 10 - Diagrama, imagem de ultrassom e foto de um embrião de 36 dias, enfatizando o anel coriônico.



Fonte: Adaptado de Ginther (1998)

No dia 40 (final da fase embrionária) o embrião e seu âmnio já foram movidos para o polo oposto e o saco vitelínico desaparece, sendo sua função substituída pela placenta (GINTHER, 1998). Nesta fase o embrião parece estar suspenso, flutuando dentro de um saco anecoico, devido ao crescimento do saco alantoide (GINTHER, 1992). As membranas e vasos associados que separam o saco vitelínico e saco alantoide se unem na porção dorsal do útero e ventral ao embrião, formando o cordão umbilical (Figura 11), que se alonga para que o embrião retorne a parede ventral do útero no dia 48 (GINTHER, 1993).

Figura 11 - Diagrama de um embrião de 40 e 50 dias, anexos embrionários e cálices endometriais.

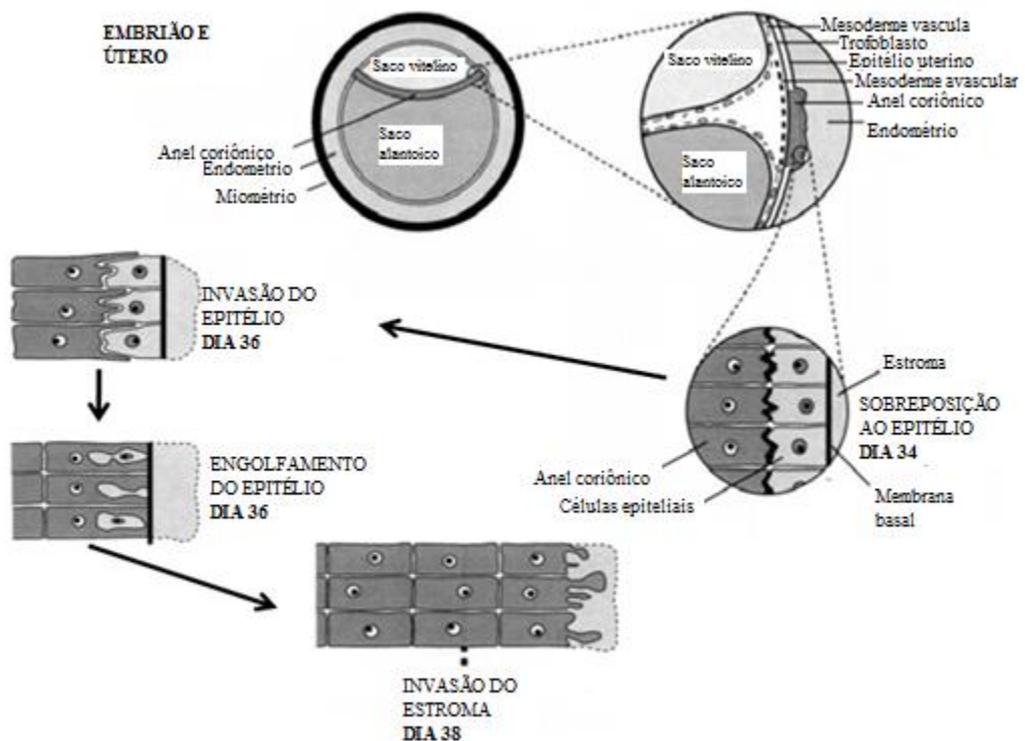


Fonte: Adaptado de Ginther (1998)

## 2.11 Cálices endometriais

A égua possui uma placentação epiteliochorial, que é a placentação menos invasiva de todos os tipos de placentação (ENDERS; LIU, 1991), no entanto as células do anel coriônico (células do trofoblasto) são altamente proliferativas e começam a invadir ativamente o endométrio materno entre os dias 36 e 38 (Figura 12), fagocitando células e penetrando na membrana basal das células epiteliais maternas, localizando-se entre as glândulas uterinas, no estroma (SHARP, 2000). A partir desse momento, elas se diferenciam e hipertrofiam tornando-se cálices endometriais maduros, estruturas elevadas que se projetam acima da superfície endometrial uterina (GINTHER, 1998).

Figura 12 - Diagrama da invasão das células trofoblásticas no endométrio.



Fonte: Adaptado de Lunn (1997)

Os cálices representam complexas interações microfísicas e químicas entre o útero e o concepto (GINTHER, 1998). São responsáveis pela produção da gonadotrofina coriônica equina (eCG), até aproximadamente os 120 dias de gestação (ALLEN et al., 2002) e o pico de secreção ocorre aos 60 dias de gestação, devido aos cálices estarem em seu maior tamanho (ALLEN, 2000).

O eCG é um hormônio glicoproteico com alto peso molecular que juntamente com o hormônio folículo estimulante (FSH), produzido pela hipófise, estimula o desenvolvimento dos corpos lúteos acessórios, com ou sem ovulação, mantendo a produção de progesterona (P4) até aproximadamente os 100 dias de gestação, quando a placenta assume esta produção (ALLEN, 2001). Por esse motivo, caso seja necessária, a interrupção da prenhez deve ser feita antes da formação dos cálices endometriais (MESTRE, ANTCZAK, ALLEN, 2011).

Os antígenos fetais são estranhos à égua, e por volta dos 80-90 dias de gestação ocorre uma intensa resposta leucocitária materna. Supõe-se, que os cálices inicialmente se defendam contra o ataque linfocítico, mas o mecanismo de defesa é superado, causando o desaparecimento dos cálices endometriais (SHARP, 2000).

### 3. ACOMPANHAMENTO ULTRASSONOGRÁFICO

A abordagem mais comum em éguas para o diagnóstico de gestação é a via transretal (GINTHER, 1986). Durante o diagnóstico de gestação deve-se observar todo o útero, ambos os cornos e corpo uterino, e movimentar o transdutor do ultrassom em movimentos lentos, para evitar um diagnóstico falso negativo (BERGFELT; ADAMS, 2011).

A vesícula embrionária pode ser visualizada a partir do dia 9, no entanto, para fins práticos, o diagnóstico de gestação é feito por volta do dia 12 de gestação (Figura 13), quando a probabilidade de detectar a vesícula é maior (98-100%) e ainda é cedo o suficiente, antes da fixação, para intervir caso seja um gestação gemelar (BERGFELT; ADAMS, 2011).

Figura 13 - Imagem ultrassonográfica dos 12 dias de gestação.

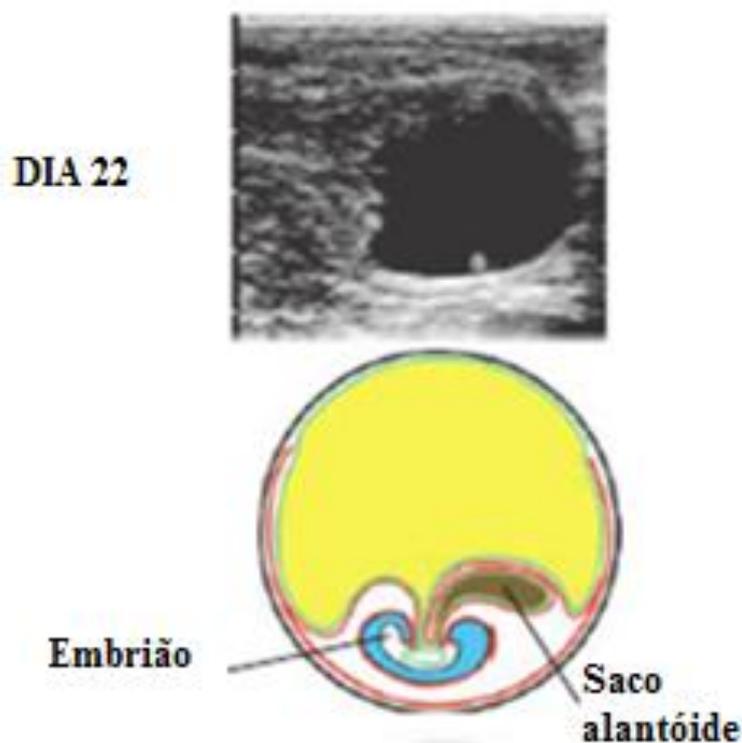


Fonte: Adaptado de Bergfelt e Adams (2011)

### 3.1 Primeira detecção do embrião propriamente dito.

Considerando a orientação adequada do embrião na vesícula embrionária, a detecção do embrião propriamente dito é tipicamente observada pela primeira vez como uma pequena estrutura ecoica no aspecto ventral do saco vitelínico, aproximadamente no dia 20 de gestação (figura 14) (BERGFELT; ADAMS, 2011). Segundo Allen e Goddard (1984) os batimentos cardíacos podem ser visualizados a partir do dia 22.

Figura 14 - Imagem ultrassonográfica do útero e embrião aos 22 dias de gestação com respectivo desenho ilustrativo.

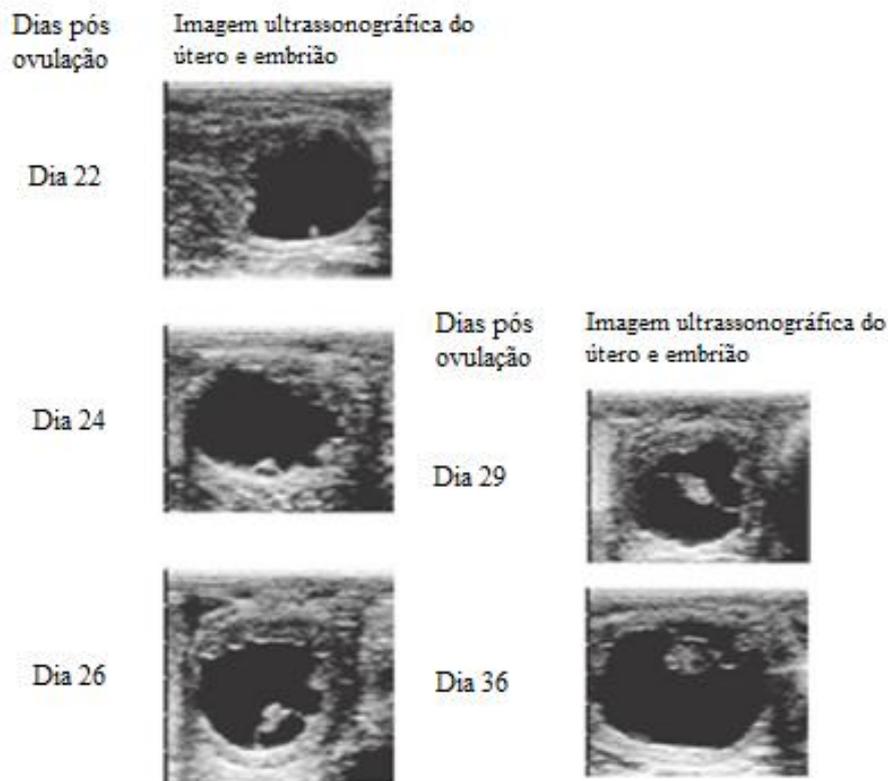


Fonte: Adaptado de Bergfelt e Adams (2011).

### 3.2 Fase alantoica (Dias 21–40)

De acordo com Bergfelt e Adams (2011), a detecção do embrião propriamente dito é considerada o início da transição do saco vitelínico para o alantoide, conforme o saco alantoide se expande o vitelínico diminui formando a distinta imagem ultrassonográfica do embrião ascendendo ao polo dorsal da vesícula embrionária (Figura 15).

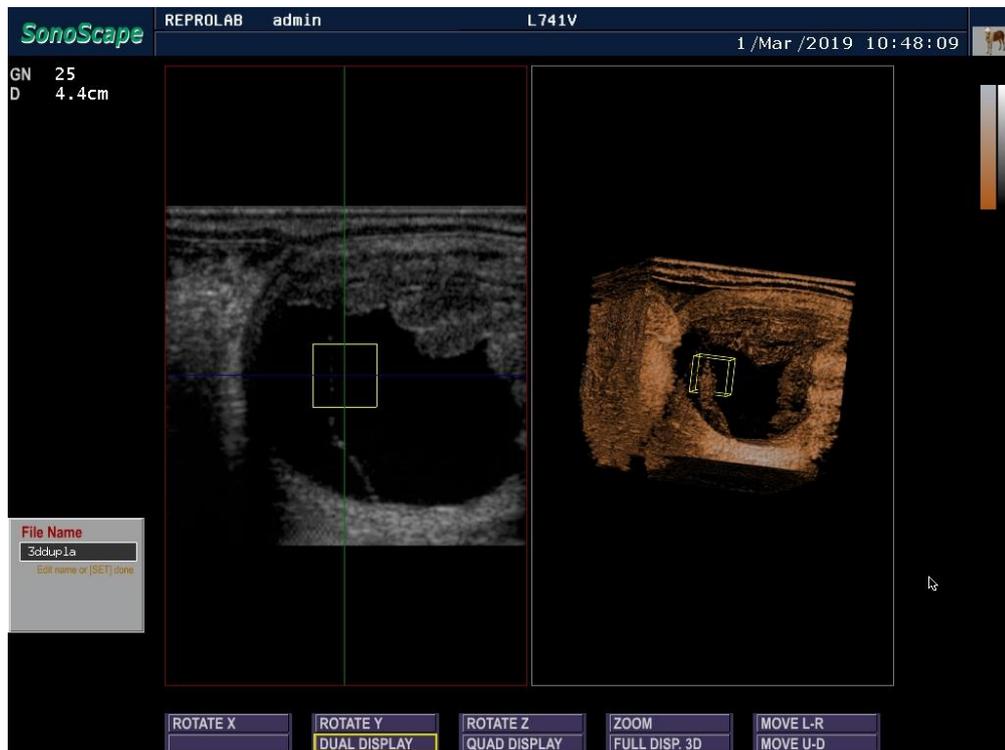
Figura 15 - Imagem ultrassonográfica do útero e embrião aos 22, 24, 26, 29 e 36 dias de gestação.



Fonte: Adaptado de Bergfelt e Adams (2011)

No dia 24, o saco alantoide se tornou uma área anecoica proeminente sob o embrião e as paredes da membrana do saco vitelínico dorsalmente e do saco alantoico ventralmente ficam sobrepostas e aparecem como linhas ecoicas ao lado do embrião (Figura 15) que tende a manter uma posição horizontal, exceto em situações que envolvem desorientação (Figura 16) ou gestação gemelar (GINTHER, 1995b; MCKINNON, 1998).

Figura 16 - Imagem ultrassonográfica em modo B e em 3D mostrando um embrião de 27 dias que se encontra em orientação anormal.

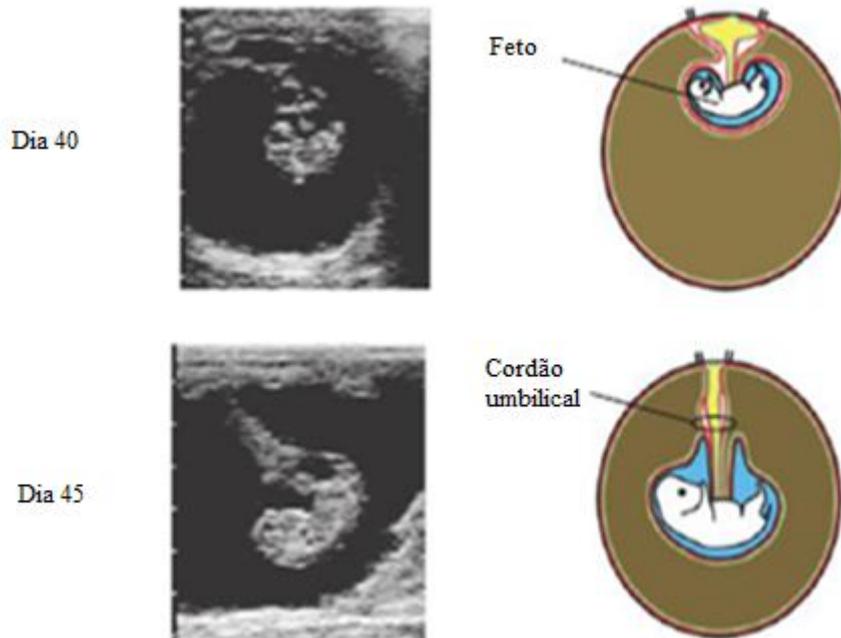


Fonte: Reprolab - UFRGS.

### 3.3 Descida do embrião (Dia-40)

O dia 40 marca a transição do estágio embrionário para o estágio fetal, pois a partir do dia 40 se inicia a calcificação do esqueleto do feto (GINTHER, 1993; FRANCIOLLI, 2011). No começo do estágio fetal, o cordão umbilical se alonga e o feto desce para a posição ventral da vesícula gestacional (Figura 17) (GINTHER, 1995b; MCKINNON, 1998; BERGFELT; ADAMS, 2011). Aproximadamente no dia 45 o feto se encontra na metade da vesícula gestacional e no dia 50 o feto se encontra no assoalho da vesícula gestacional (Figura 17), sendo esses acontecimentos um auxílio importante para estimar a idade gestacional e sua viabilidade (GINTHER, 1986; GINTHER, 1995b; MCKINNON, 2011).

Figura 17 - Imagem ultrassonográfica do útero e embrião, e diagrama do embrião aps 40 e 45 dias de gestação.

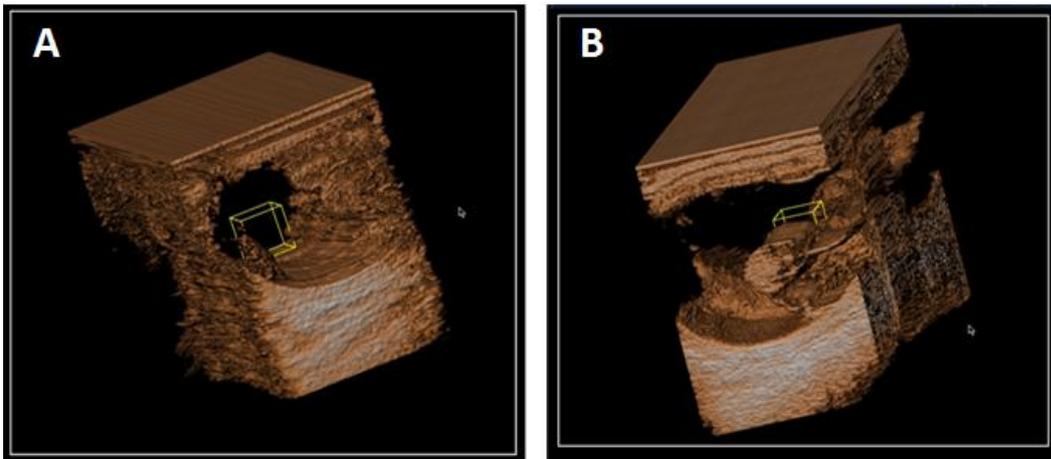


Fonte: Adaptado de Bergfelt e Adams (2011)

#### 4. Ultrassonografia tridimensional (3D)

O grupo de pesquisa do REPROLAB – UFRGS realizou o acompanhamento da prenhez inicial entre os dias 12 a 35 após da ovulação pela ultrassonografia convencional e implementando a técnica 3D (CAMACHO *et al.* 2019). A ultrassonografia tridimensional permitiu a visualização das estruturas uterinas e embrionárias facilitando o acompanhamento no desenvolvimento das estruturas do embrião. Após a fixação da vesícula embrionária no endométrio as imagens obtidas foram didáticas e interessantes. A visualização inicial do embrião propriamente dito foi realizada no dia 21, assim como o subsequente crescimento com o passar dos dias (Figura 18 - A). Já ao 34º dia da prenhez a técnica 3D permitiu uma completa exploração do embrião, permitindo visualizar a divisão do saco vitelino e o saco alantoide, além de visualização em 360 graus rotando a imagem nos sentidos vertical e horizontal (Figura 18 - B). Essa técnica ainda não tem aplicação clínica na medicina veterinária, mas proveem excelente material educacional e acadêmico para praticantes e pesquisadores, além de ser imagens ilustrativas para a educação dos clientes.

Figura 18 - Imagem mostra uma vesícula embrionária equina no modo 3D. A - Imagem de vesícula embrionária de 26 dias em 3D onde se identifica o embrião propriamente dito na parte ventral da vesícula embrionária. B - Imagem de vesícula embrionária aos 34 dias em 3D, nota-se o embrião ao centro da vesícula e as divisões do saco vitelino na parte superior e o saco alantoide na região inferior direita. O cubo amarelo representa o centro da imagem em 3D para referência e orientação do operador.



Fonte: Adaptado de Camacho *et al.* (2019)

## 5. Considerações Finais

Ainda não está completamente esclarecida a origem de algumas peculiaridades no desenvolvimento embrionário equino, mas sabe-se que do início ao fim da gestação a égua contrasta com as outras espécies animais domésticas em muitos aspectos estruturais e funcionais, que se combinam para fornecer nutrição suficiente para o crescimento e desenvolvimento do embrião. Com o uso cada vez maior das técnicas de reprodução assistida, torna-se de grande importância o conhecimento das fases do desenvolvimento embrionário e da fisiologia e endocrinologia da gestação, para com isso, prever problemas como a perda inicial da gestação e otimizar os resultados das biotecnologias da reprodução equina.

## REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. R. et al. The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. **Journal of Endocrinology**, v. 172, n. 2, p. 237-246, 2002.
- ALLEN, W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. **Reproduction**, Cambridge, v. 121, n. 4, p. 513-527, 2001.
- ALLEN, W.R.; GODDARD, P.J. Serial investigations of early pregnancy in pony mares using real time ultrasound scanning. *Equine Veterinary Journal*, Reino Unido, v.16, n. 6, p.509-514, 1984.
- ALLEN, W. R. The physiology of early pregnancy in the mare. In: Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 46, 2000, San Antonio, Texas. **Proceedings**, San Antonio, Texas: AAEP, 2000. p. 338-354.
- ALLEN, W. R.; WILSHER, S. A. Review of Implantation and Early Placentation in the Mare. **Placenta**, v. 30, n. 12, p. 1005–1015, 2009.
- AMOROSO, E.C. Placentation. In: PARKES, A. C. Marshall's Physiology of Reproduction. 3 ed. London: **Longmans Green**, 1952. v. 2, p. 127-311.
- ARAR, S. *et al.* Desialylation of core type 1 O-glycan in the equine embryonic capsule coincides with immobilization of the conceptus in the uterus. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 8, p. 1110-1115, 2007.
- BALL, B. A. Embryonic loss in mares: incidence, possible causes, and diagnostic considerations. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 4, n. 2, p. 263-290, 1988.
- BERGFELT, D. R.; ADAMS, P. G. Pregnancy. In: Equine Reproduction. 2. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2011. v.2, cap. 217, p. 2065-2079.
- BETTERIDGE, K. J. Comparative aspects of equine embryonic development. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60-61, p. 691-702, 2000.
- BETTERIDGE, K. J. et al., Development of horse embryos up to twenty-two days after ovulation: observations on fresh specimens. **Journal of Anatomy**, v. 135, n. 1, p. 191-209, 1982.
- BETTERIDGE, K. J.; WAELCHLI, R. O.; SMITH, A. K.; HAYES, M. A. Trophoblastic discs, yolk-sac tubercles and yolk-sac cords in the equine conceptus during the third and fourth weeks of pregnancy. **Proceedings of the 6th international symposium on equine embryo transfer**, Rio de Janeiro, p. 3, 2004.
- BOYD, J. D.; HAMILTON, W. J. Cleavage, early development and implantation of the egg. In: PARKES, A. C. Marshall's Physiology of Reproduction. 3 ed. London: **Longmans Green**, 1952. v. 2, p. 1 - 126.

- BURTON, G. J.; WATSON, A. L.; HEMOSTOCK, J.; SKEPPER, J. N.; JAUNIAUX, E. Uterine Glands Provide Histirotrophic Nutrition for the Human Fetus during the First Trimester of Pregnancy. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 87, n. 6, p. 2954 - 2959, 2002.
- CAMACHO, C. A. *et al.* Ultrassonografia 3D na avaliação da prenhez inicial equina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Minas Gerais, 2019. *In press*.
- CAMOZZATO, G. C. *et al.* Ultrastructural and histological characteristics of the endometrium during early embryo development in mares. **Theriogenology**, Wisconsin, v.123, p. 1-10, jan, 2018.
- COCHET, M.; VAIMAN, D.; LEFEVRE, F. Novel interferon delta genes in mammals: cloning of one gene from the sheep, two genes expressed by the horse conceptus and discovery of related sequences in several taxa by genomic database screening. **Gene**, v. 433, n. 1-2, p. 88-99, 2009.
- ENDERS, A.C.; LIU, I. K. M. Trophoblast- uterine interactions during equine chorionic girdle cell maturation, migration, and transformation. **American Journal of Anatomy**, Davis, California, v. 192, n. 4, p. 366-381, 1991.
- EWART, J. C. VII — Studies on the Development of the Horse. I. The Development during the Third Week. **Transactions of the Royal Society of Edinburgh**, Edinburgh, v. 51, n. 02, p. 287-329, 1917.
- FRANCIOLLI, A. L. R. *et al.* Characteristics of the equine embryo and fetus from days 15 to 107 of pregnancy. **Theriogenology**, Wisconsin, v. 76, n. 5, p. 819–832, 2011.
- GASTAL, E.L.; NEVES, A.P.; MATTOS, R.C.; PETRUCCI, B.P.L.; GASTAL, M.O.; GINTHER, O.J. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal and endometrial dynamics during the oestrous cycle. **Reproduction Fertility and Development**, Wisconsin, v.20, n.3, p. 376-385, 2008.
- GASTAL, M. O. *et al.* Effect of PGE2 on uterine contractility and tone in mares. **Theriogenology**, Wisconsin, v. 50, n. 7, p. 989-999, 1998b.
- GINTHER, O. J. Equine fetal kinetics: Allantoic-fluid shifts and uterine horn closures. **Theriogenology**, Wisconsin, v.40, n.2, p. 241-256, 1993.
- GINTHER, O. J. Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. In: Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 44, 1998, Baltimore, Maryland. **Proceedings...** Baltimore, Maryland: AAEP, 1998. p. 73-104.
- GINTHER, O. J. Mobility of the early equine conceptus. **Theriogenology**, Wisconsin, v.19, n.4, p. 603–611, 1983.
- GINTHER, O. J. **Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects**. 2 ed. Madison, Wisconsin: Equiservices Publishing, 1992. 642 p.

GINTHER, O. J. Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare: The single embryo. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wisconsin, v. 4, n. 2, p. 75-81, 1984a

GINTHER, O. J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography**. Book 4. Wisconsin: Equiservices Publishing, 2007.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Fundamentals**. Book 1. Wisconsin: Equiservices Publishing, 1995a.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses**. Book 2. Wisconsin: Equiservices Publishing, 1995b.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: Horses**. Madison, Wisconsin: Equiservices Publishing, 1995. v.2, 400p.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare**. Wisconsin: Equiservices Publishing, 1986.

HAFEZ, B; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal, Fertilização e clivagem**. 7 ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.

HAYES, M. A. *et al.* Changes in various endometrial proteins during cloprostenol-induced failure of early pregnancy in mares. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 4, p. 723-741, 2012.

HERRLER, A; BEIER, H. M. Early embryonic coats: morphology, function, practical applications. An Overview. **Cells Tissues Organs**, Basel, v. 166, n. 2, p. 233-246, 2000.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema **IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Acesso em setembro 2019.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema **IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em setembro 2019.

KLEIN, C. Early pregnancy in the mare: old concepts revisited. **Domestic Animal Endocrinology**, Canada, v. 56, p. 212–17, 2016a.

LIMA, R. A. S.; CINTRA, A. G. Revisão do Estudo do complexo do agronegócio cavalo. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Brasília – MAPA. 56p, 2016.

LUNN, P.; VAGNONI, K.E.; GINTHER, O. J. The equine immune response to endometrial cups. **Journal of Reproductive Immunology**. Wisconsin, V. 34, P. 203–216, 1997.

MCCUE P. M., MCKINNON A. O. Pregnancy Examination. *In: Equine Reproduction*. 2. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2011. v.2, cap. 231, p. 2245 – 2259.

MCDOWELL, K. J. *et al.* Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance in mares. **Biology of Reproduction**, New York, v. 39, n. 2, p. 340-348, 1998.

MCKINNON A. O. Origin and Outcome of Twin Pregnancies. *In: Equine Reproduction*. 2. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2011. v.2, cap. 241, p. 2350 – 2357.

MCKINNON A. O. Reproductive ultrasonography: the mare. *In: RANTANEN, Norman W.; MCKINNON, Angus O. (eds). Equine Diagnostic Ultrasonography*. Philadelphia: Lea &Febiger, 1998. p. 125–251.

MEIRA, C.; FERREIRA, J. C.; SILVA, E. S. M.; IGNÁCIO, F. S. Developmental aspects of early pregnancy in mares. **Animal Reproduction**, v.9, n.3, p.166-172, 2012

MESTRE, A. M.; ANTCZAK, D. F.; ALLEN, W. R. Equine Chorionic Gonadotropin (eCG). *In: Equine Reproduction*. 2. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2011. v.2, cap. 172, p. 1648-1664.

MORRIS, L.H.; ALLEN, W.R. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. **Equine Veterinary Journal**, Newmarket, v.34, n.1, p.51-60,2002.

RAESIDE, J. I., CHRISTIE, H. L., RENAUD, R. L., WAELCHLI, R. O., BETTERIDGE, K. J. Estrogen Metabolism in the Equine Conceptus and Endometrium During Early Pregnancy in Relation to Estrogen Concentrations in Yolk-Sac Fluid1. **Biology of Reproduction**, Canada, v. 71, n. 4, p. 1120–1127, 2004.

RAESIDE, J. I.; CHRISTIE, H. L.; WAELCHLI, R. O.; BETTERIDGE, K. J. Biosynthesis of oestrogen by the early equine embryo proper. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, p. 1071 - 1078, 2012.

RAESIDE, J. I.; CHRISTIE, H. L.; WAELCHLI, R. O.; BETTERIDGE, K. J. Estrogen metabolism by the equine embryo proper during the fourth week of pregnancy. **Reproduction**, v. 138, p. 953-960, 2009.

REEF, V. B. **Equine Diagnostic Ultrasound**. Philadelphia: W. B. Saunders & Company, 1998.

SILVA, L. A. *et al.* Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology of reproduction**, New York, v. 72, n. 3, p. 755-761, 2005.

SILVA, L. A. *et al.* Conceptus-mediated endometrial vascular changes during early pregnancy in mares: An anatomic, histomorphometric, and vascular endothelial growth factor receptor system immunolocalization and gene expression study. **Reproduction**, Cambridge, v. 142, n. 4, p. 593-603, 2011

SILVA, L. A.; KLEIN, C.; EALY, A. D.; SHARP, D. C. Conceptus-mediated endometrial vascular changes during early pregnancy in mares: an anatomic, histomorphometric, and vascular endothelial growth factor receptor system immunolocalization and gene expression study. **Reproduction**, Cambridge, v. 142, n. 4, p. 593-603, 2011.

SILVA, L. A.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology of Reproduction**, v. 72, n. 3, p. 755-761, 2005.

SHARP, D. C. The early fetal life of the equine conceptus. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60-61, p. 679-689, 2000.

SHORT, R. V. Implantation and the maternal recognition of pregnancy. In: Ciba Foundation Symposium on Foetal Autonomy, 1969, London. **Proceedings...**London: CFSFA, p. 2- 26, 1969.

STEWART, F.; LENNARD, S. N.; ALLEN, W. R. Mechanisms controlling formation of the equine chorionic girdle. **Biology of Reproduction**, New York, v. 1, p. 151-159, 1995.

STOUT, T. A. E.; ALLEN, W. R. Prostaglandin E(2) and F2- $\alpha$  production by equine conceptuses and concentrations in conceptus fluids and uterine flushings recovered from early pregnant and diestrous mares. **Reproduction**, Cambridge, v. 123, p. 261-268, 2002.

STOUT, T. A. E.; ALLEN, W. R. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. **Reproduction**, Cambridge, v. 121, p. 771-775, 2001a.

STOUT, T. A. E.; MEADOWS, S.; ALLEN, W. R. Stage-specific formation of the equine blastocyst capsule is instrumental to hatching and to embryonic survival in vivo. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.87, n. 3-4, p. 269-281, 2005.

STOUT, T. A. E. The early pregnancy. In: Samper J. C. editor. **Equine breeding management and artificial insemination**. 2ed. Philadelphia: Saunders, p.223-240, 2009.

WINTER, G. H.; SOUZA, A.; CAZALES, N.; MIGLINO, M. A.; MATTOS, R. C. Morphology changes during post fixation and peri-implantation period in equine endometrium. **Placenta**, v. 35, n. 9, p. A14, 2014.

WOLFGANG, K. Ultrasonography in the mare. *In: Veterinary Reproductive Ultrasonography*. Hannover: Schlutersche Verlagsgesellschaft, 2004.