

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

**PERDA EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS: CAUSAS E POSSÍVEIS
INTERVENÇÕES**

Elaborado por Gabriel Monteiro Davolli,
Acadêmico da Faculdade de Veterinária

**PORTO ALEGRE
2010/1**

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

**PERDA EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS: CAUSAS E POSSÍVEIS
INTERVENÇÕES**

Autor: Gabriel Monteiro Davolli

Orientador: Rodrigo Costa Mattos

Co-orientador: Gustavo Henrique
Zimmerman Winter

PORTO ALEGRE

2010/1

D266p Davolli, Gabriel Monteiro

Perda embrionária em éguas: causas e possíveis intervenções. / Gabriel Monteiro Davolli. – Porto Alegre: UFRGS, 2010.

30 f.; il. – Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, RS-BR, 2010. Rodrigo Costa Mattos, Orient.

1. Reprodução animal: eqüinos 2. Manejo: eqüinos
3. Embriões: desenvolvimento I. Mattos, Rodrigo Costa, Orient. II. Winter, Gustavo, Co-orient. III. Título

CDD 619.4

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer por esta família maravilhosa que ganhei:

Ao meu Pai, Américo, um exemplo de ser humano para todos que conviveram com ele. Com quem aprendi incontáveis lições, uma mais valiosa que a outra. Que sempre me disse que o conhecimento era algo que ninguém poderia nunca tirar de mim.

À minha Mãe, Isabel, que foi sempre um exemplo de carinho e dedicação e que nunca poupou um centavo na minha educação.

E à minha Irmã, Letícia, que é um orgulho pra mim e com quem posso contar, eu sei, sempre que precisar.

Um agradecimento especial ao Gustavo Winter pela parceria e orientação, não só nesta monografia.

Ao Prof. Rodrigo Mattos, pelo mestre que é.

E à Priscila Serpa, mestranda em medicina de equinos, que muito tem me ajudado com o relatório e monografia.

A todos aqueles que, não sei se mereço, tive a sorte de encontrar pelo caminho.

RESUMO

A perda embrionária ou morte embrionária é caracterizada pela perda gestacional do momento da concepção até o 40º dia de prenhez. Muito do atual interesse e conhecimento acerca da perda embrionária em éguas se deve à introdução da ultrassonografia para detecção precoce de gestação. Sob condições de campo, tipicamente, ultrassonografia transretal é usada no início, aos 12 a 14 dias, enquanto sob condições experimentais, pode-se utilizar mais cedo, aos 10 a 11 dias. Portanto, a ultrassonografia possibilita o acompanhamento do embrião do dia 10 até o dia 40, ou seja, $\frac{3}{4}$ do período em que ocorre a perda embrionária. Para estudar o embrião antes dos 10 dias de gestação, foram usadas outras técnicas, como transferência de embriões e oócitos, além de técnicas experimentais, como cultura de embrião *in vitro*. Em condições de campo, a incidência detectada de perda embrionária em éguas entre os dias 12 e 40 é na ordem de 10% a 15%, para éguas jovens, e 20% a 30% para éguas idosas. Nessas dimensões, a perda embrionária representa também uma perda econômica considerável para os criatórios e a indústria equina, na forma de aumento dos custos de produção ou diminuição do número de potros nascidos. Os objetivos do presente trabalho foram (1) revisar a etiologia da perda embrionária e abordar (2) possíveis observações relacionadas a esse fenômeno que podem ser feitas através da ultrassonografia e (3) eventuais tratamentos e alternativas possíveis. Os fatores que contribuem para a ocorrência de perda embrionária em éguas têm sido classificados como intrínsecos, extrínsecos e embrionários. Os fatores intrínsecos incluem doenças endometriais, insuficiência de progesterona, idade materna, lactação, cobertura no cio do potro, momento da inseminação em relação à ovulação, local de fixação intra-uterina da vesícula embrionária e anormalidades cromossomais maternas. Os fatores extrínsecos incluem estresse, nutrição, estação do ano e temperatura ambiental, garanhão e fatores iatrogênicos. Já os fatores embrionários incluem características inerentes ao embrião, como anormalidades cromossomais. O exame ultrassonográfico pode fornecer uma série de achados indicativos de morte ou sugestivos de perda embrionária iminente. Baseado nesses achados será tomada a decisão de alterar o manejo e/ou de tratar ou não a égua, e com o que tratar. Deve ficar claro ao veterinário que a ocorrência de mortes embrionárias é inevitável e para sua ocorrência nas menores taxas possíveis, deve ser dado o suporte apropriado em nível de manejo e criação.

Palavras-chave: éguas, embrião, perda embrionária.

ABSTRACT

The embryonic loss or embryonic death is characterized by gestational loss from the conception through the 40th day of pregnancy. Much of the current interest and knowledge of embryonic loss in mares is due to the introduction of ultrasounding for early pregnancy detection. Under field conditions, typically, transrectal ultrasound is used as soon as 12-14 days, whereas under experimental conditions, it can be used earlier, after 10-11 days. Therefore, ultrasound allows the monitoring of the embryo from Day 10 until Day 40 of gestation, i.e., 3/4 of the period in which happens embryonic loss. To study the embryo prior to 10 days of gestation, other techniques were used, such as embryo and oocyte transfer, and experimental techniques such as in vitro embryo culture. Under field conditions, the incidence detected for embryonic loss in mares between 12 and 40 days of pregnancy is around 10% to 15% for young mares, and 20% to 30% for older mares. At those levels, embryonic loss represents a considerable economic loss to the farms and equine industry in the form of increased production costs or reduced number of foals born. The objectives of this study were (1) to review the etiology of embryonic loss and address (2) possible observations related to this phenomenon as detected by ultrasonography, and (3) possible treatments and alternatives. Factors contributing to the occurrence of embryonic loss in mares, have been classified as intrinsic, extrinsic and embryonic. Intrinsic factors include endometrial diseases, insufficient progesterone, maternal age, lactation, breeding on the foal heat, time of insemination relative to ovulation, local of intra-uterine fixation of the embryonic vesicle and maternal chromosomal abnormalities. Extrinsic factors include stress, nutrition, season and ambient temperature, sire and iatrogenic factors. Embryonic factors include inherent characteristics of the embryo, such as chromosomal abnormalities. Ultrasound scanning can provide a number of findings indicating embryonic death or suggestive of impending loss. Based on these findings, relays the decision whether to change the management and / or treat or not the mare, and what to use on treatment. It should be clear to the veterinarian that the occurrence of embryonic deaths in a certain range is inevitable and, furthermore, natural, and for its occurrence in the lowest possible rates, all necessary support and proper management must be given

Keywords: mares, embryo, embryonic loss.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Perda embrionária em andamento com suspeita de estar associada ao edema das pregas endometriais.....	20
Figura 2	Morte embrionária devido à associação com fluido livre ao redor da vesícula embrionária.....	20

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	DEFINIÇÕES E TERMINOLOGIA.....	10
3	ETIOLOGIA.....	11
3.1	Fatores Intrínsecos.....	11
3.1.1	Doenças endometriais.....	11
3.1.2	Insuficiência de Progesterona.....	13
3.1.3	Idade da égua.....	14
3.1.4	Lactação.....	15
3.1.5	Cobertura no cio do potro.....	15
3.1.6	Momento da inseminação em relação à ovulação.....	16
3.1.7	Local de fixação da vesícula embrionária.....	16
3.1.8	Alterações cromossomais maternas.....	17
3.2	Fatores Extrínsecos.....	17
3.2.1	Estresse.....	17
3.2.2	Nutrição.....	18
3.3	Fatores Embrionários.....	19
4	DIAGNÓSTICO E ACOMPANHAMENTO ULTRASSONOGRÁFICO DE MORTE EMBRIONÁRIA.....	19
5	POSSÍVEIS INTERVENÇÕES.....	22
6	CONCLUSÕES.....	25
	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

Caracterizada pela perda gestacional do momento da concepção até o 40º dia da gestação, a perda embrionária ou morte embrionária tem sido proposta como fator de redução da fertilidade em éguas desde a década de 40 (BALL, 1988), mas até 1965 esse fenômeno era clinicamente pouco identificado e muitas vezes atribuído a abortos não observados (MEYERS *et al.*, 1991). A partir dessa época, investigações a campo começaram a ser relatadas para diferentes raças equinas em muitos países.

Muito do atual interesse e conhecimento acerca da perda embrionária em éguas se deve à introdução do uso ultrassonografia, durante o início da década de 80, na detecção precoce de gestação. Sob condições de campo, tipicamente, a ultrassonografia transretal é usada no início, dos 12 aos 14 dias, enquanto sob condições experimentais, pode-se utilizar mais cedo, dos 10 aos 11 dias. Desse modo, a ultrassonografia possibilita o acompanhamento do embrião pelo período do dia 10 até o dia 40, ou seja, 3/4 do período em que ocorre a perda embrionária (VANDERWALL, 2008). Para estudar o embrião antes dos 10 dias de gestação, foram usadas outras técnicas, como transferência de embriões e oócitos, além de técnicas experimentais, como cultura de embrião *in vitro*.

Dependente de muitos fatores, a incidência de morte embrionária está principalmente relacionada com o dia da prenhez. Para uma estimativa populacional, têm-se mesclado achados de diferentes estudos, embora isso não seja muito confiável, pois não há uma padronização dos estudos quanto ao momento dos exames e, nos registros em maior escala, que seriam os coletados em rotina a campo, dificilmente se consideram as diferenças entre os criatórios avaliados (MEYERS *et al.*, 1991).

Até que houvesse o advento da ultrassonografia, no início da década de 80, os diagnósticos de prenhez eram feitos apenas por palpação retal, que permite detectar a presença do embrião somente entre os dias 18 e 22, no mínimo (BALL, 1988). De acordo com Ball, analisando alguns estudos de campo envolvendo apenas palpação retal, as perdas gestacionais entre os dias 20 e 90 de prenhez variou de 7 a 16%. Ball atribuiu a variação encontrada às diferenças nos dados coletados em condição de campo, como discutido acima.

A ultrassonografia possibilitou a detecção e monitoramento de um embrião de tamanho normal desde 9 a 10 dias e consistentemente aos 11 dias (GINTHER, 1992). Como resultado, muitos experimentos envolvendo perdas embrionárias incluindo o período de 11 a 20 dias foram publicados.

Em análise retrospectiva de estudos com avaliação ultrassonográfica entre os dias 10 e 50 pós-ovulação, Ball (1988) encontrou taxas de perda embrionária variando de 5 a 24%. Essa faixa não diferiu muito da encontrada por Vanderwall (2008), que, ao revisar estudos em até 60 dias de gestação, verificou uma variação entre 2,6 e 24% e uma média ponderada de 8,6% nas taxas de morte embrionária.

O aumento na incidência de morte embrionária após o início do uso do ultrassom deve-se não apenas à possibilidade de se poderem realizar diagnósticos já aos 11 dias, mas também ao fato de haver perda embrionária, entre 11 e 20 dias de gestação, maior do que nos 20 dias restantes do período embrionário, como foi observado por Ginther *et al.* (1985b) e Villahoz *et al.* (1985). Em outros experimentos, também foi encontrada uma maior perda comparando o intervalo entre os dias 14 e 28 com os intervalos entre 28 e 42 dias (WOODS *et al.*, 1985 *apud* BALL, 1988) e entre 42 e 56 dias de gestação (WOODS *et al.*, 1987).

Para se estabelecer a taxa de perda embrionária antes do dia 10, esta deve ser diferenciada de falha na fecundação. Antes da detecção da prenhez por ultrassonografia, estudos com recuperação embrionária (DOUGLAS, 1982; PASCOE *et al.*, 1985; SQUIRES *et al.*, 1985; WOODS *et al.*, 1985 *apud* BRISKO *et al.*, 1994) têm indicado uma taxa de recuperação mais baixa entre os dias 7 e 10 em éguas subférteis comparadas com éguas normais. Devido às taxas de fertilização entre éguas normais e subférteis serem similares (BALL *et al.*, 1986; BALL *et al.*, 1989), essas diferenças nas taxas de recuperação embrionária se devem a morte embrionária. Nesses dois estudos, Ball encontrou que as incidências entre o dia 2 ou 4 e dia 14 pós-ovulação foram 62 a 73% para éguas subférteis comparado com 0 a 9% para éguas normais.

Sob condições a campo, a incidência detectada de morte embrionária entre 12 e 40 dias de prenhez está na ordem de 10 a 15% para éguas jovens e de 20 a 30% para éguas idosas (mais de 21 anos) (WOODS *et al.*, 1989).

Com níveis como estes, a perda embrionária representa uma perda econômica significativa dentro do processo de criação e representa custos adicionais envolvidos nas repetidas coberturas das éguas durante a temporada reprodutiva e pela diminuição do número de potros nascidos. Os objetivos do presente trabalho foram (1) revisar a etiologia da perda embrionária e abordar (2) possíveis observações relacionadas a esse fenômeno que podem ser feitas através da ultrassonografia e (3) eventuais tratamentos e alternativas possíveis.

2 DEFINIÇÕES E TERMINOLOGIA

O diagnóstico de perda embrionária requer um exame prévio confirmando a gestação (diagnóstico de gestação). A constatação de ausência de embrião em acompanhamento subsequente denota a perda embrionária.

Muitos autores mudam a utilização do termo embrião por feto ao final da organogênese, que em equinos foi sugerido ocorrer ao dia 30 pós-ovulação. Para Ginther (1992) pode ser mais prático usar o termo feto quando é possível se identificar a ordem taxonômica do embrião baseado nos caracteres externos. Na espécie equina, isso pode ocorrer do dia 38 ao dia 60, dependendo do julgamento do observador. Ginther (1992), no entanto, utiliza o termo embrião e morte embrionária até o dia 40º de gestação, devido principalmente a estar dentro da faixa de dias utilizada por outros autores e pelo desenvolvimento de estruturas anexas ao conceito, como o final da transição do saco vitelino para saco alantóide, a formação dos cálices endometriais, entre outros. No entanto, muitos autores consideram morte embrionária a perda gestacional ocorrida desde o dia 0, referente à fecundação, até o dia 50 de gestação, ou mais, talvez até pela confusão e/ou receio de empregar o termo aborto, normalmente utilizado para perdas gestacionais mais avançadas durante a gestação. Aborto se refere a todas as perdas gestacionais durante o estágio fetal, ou seja, a partir do 40º dia de gestação até 300 dias de gestação, como recomendado pela *Working Party on Terminology* (1982). Já o termo conceito se refere tanto ao embrião quanto ao feto, mas no presente artigo, será usado por mais vezes com o sentido de embrião ou vesícula embrionária.

Embrião e vesícula embrionária são muitas vezes usados como sinônimos, embora o último sirva para enfatizar referência à estrutura inteira, do embrião e envoltórios. Do mesmo modo, o termo embrião pode incluir apenas a porção do conceito que dará origem ao feto e potro (GINTHER, 1992), referido como o “embrião propriamente dito” traduzido do inglês *embryo proper*, que pode ser visualizado por ultrassonografia já aos 19-21 dias de gestação.

O termo reabsorção embrionária, segundo Ginther (1992), deve ser abandonado. Pois além de não ter ocorrido uma absorção anteriormente a maior parte ou toda a vesícula embrionária e seus debrís e conteúdos são expelidos pela cérvix quando esta se abre no estro subsequente. No entanto esse termo é largamente utilizado até hoje, mas não será usado nesta revisão. O ideal é referir-se como Perda Embrionária ou Morte Embrionária.

3 ETIOLOGIA

Os fatores que podem contribuir para a ocorrência de perda embrionária na égua têm sido classificados como intrínsecos, extrínsecos e embrionários (BALL, 1988). Os fatores intrínsecos incluem doenças endometriais, insuficiência de progesterona, idade materna, lactação, cobertura no cio do potro, momento da inseminação em relação à ovulação, local de fixação intra-uterina da vesícula embrionária e anormalidades cromossômicas maternas. Os fatores extrínsecos incluem estresse, nutrição, estação do ano e temperatura ambiental, fatores inerentes ao garanhão e sêmen, e fatores iatrogênicos. Já os fatores embrionários incluem anormalidades cromossômicas e outras características inerentes ao embrião. Será dado destaque aos fatores mais debatidos na literatura.

Os fatores relacionados à transferência de embrião, por dependerem de uma gama de outros fatores (CARNEVALE *et al.*, 2000), não serão abordados diretamente neste trabalho, exceto por eventual uso da técnica nos modelos experimentais dos estudos consultados, mas interessantes apontamentos foram feitos pela autora e colaboradores no referido trabalho. Assim como Ginther (1992) discorre de maneira completa sobre a influência da gestação gemelar nas perdas embrionárias, assunto que merece uma revisão própria e, portanto, também não terá atenção na presente revisão.

3.1 Fatores Intrínsecos

3.1.1 Doenças endometriais

Para Ginther (1985a), a morte embrionária devido a um útero não saudável pode estar associada à regressão luteínica, por vezes prematura.

O fluido intra-uterino acumulado durante a endometrite persistente pós-cobertura ou endometrite infecciosa pode causar morte embrionária se a falha reprodutiva provém de um efeito direto do ambiente uterino incompatível com a sobrevivência do embrião, ou da liberação constante de prostaglandina- $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), devido à inflamação, levando à diminuição da progesterona circulante pela lise do corpo lúteo (ADAMS *et al.*, 1987; LeBLANC, 2003). Foi demonstrado que inflamação aguda associada com coleções de fluido intra-uterino durante o diestro aumenta a incidência de perda embrionária (CARNEVALE & GINTHER, 1992). De maneira semelhante, éguas com histórico de endometrite demonstraram taxas superiores de perda embrionária comparadas com éguas sem histórico de endometrite (WOODS *et al.*, 1987).

Em contraste com a inflamação aguda, a inflamação crônica parece não diminuir a fertilidade, pois, em um experimento de BALL e colaboradores (1987), éguas subférteis com inflamação crônica conseguiram manter o desenvolvimento embrionário do dia 7-8 até o dia 28 do mesmo modo que éguas normais.

O mesmo autor ainda sugere que como no experimento as éguas receberam embriões de outras éguas (normais), não houve inseminação, como ocorreu em outros experimentos (SQUIRES *et al.*, 1985; VILLALBA *et al.*, 1985), a relação entre inseminação e perda embrionária deveria ser considerada nesses casos. Em éguas subférteis, uma leve endometrite pode ter sido induzida no momento da inseminação e persistido até o momento em que o embrião alcançou o útero, com subsequente perda embrionária.

Mais tarde (1992), Carnevale e Ginther observaram que o grau de infiltrados inflamatórios crônicos no endométrio de éguas velhas (≥ 15 anos) não foi diferente entre éguas que mantiveram ou perderam a prenhez entre 12 e 39 dias de gestação.

Comparando os embriões de éguas idosas (média de 18 anos) e inférteis com os de éguas jovens (média de 4 anos) e férteis, Woods *et al.* (1986) verificaram que não houve diferença no número de embriões normais recuperados de éguas idosas com ou sem doença endometrial

Anormalidades não-infecciosas do endométrio, como fibrose periglandular, têm sido consideradas clinicamente como um importante fator na ocorrência de perda embrionária precoce e morte fetal (KENNEY, 1978) e, por este tipo de alteração patológica no endométrio ser mais comum em éguas velhas (DOIG *et al.*, 1981), houve uma aparente pré-conclusão de que fibrose periglandular causava uma maior taxa de perda embrionária em éguas idosas. Entretanto, quando Ball *et al.* (1987) testou essa hipótese pela transferência de blastocistos de 7 e 8 dias, morfológicamente normais, ao útero de receptoras novas (fibrose mínima) e velhas (fibrose extensa), as taxas de sobrevivência ao dia 12 e perda embrionária entre 12 e 28 dias não diferiram significativamente entre éguas receptoras jovens e velhas. Esses resultados indicaram que a patologia uterina (fibrose periglandular e inflamação crônica) presente no útero de éguas de idade resultou em uma maior incidência de perda embrionária precoce nessas éguas. Portanto, aparentemente outros fatores são responsáveis pela maior perda embrionária observada em éguas velhas.

Outra forma comum de patologia endometrial não-inflamatória são as dilatações císticas, que podem ser tanto glandulares ou linfáticas (STANTON *et al.*, 2004).

Conforme relatos, cistos glandulares variam de alguns milímetros a 1 cm de diâmetro e ocorrem com a distensão de glândulas endometriais como resultado da diminuição do fluxo de secreção devido à fibrose periglandular (KENNEY *et al.*, 1975). Cistos linfáticos, conforme relatos, podem variar entre alguns milímetros até 20 cm e resultam da obstrução dos vasos linfáticos. Também é possível que cistos linfáticos ocorram pela retenção de linfa em éguas multíparas devido aos efeitos gravitacionais de um útero aumentado, gravídico ou pós-parturiente (WOLFSFORF, 2002).

De maneira geral, os cistos endometriais menores não são nocivos à fertilidade da égua. Porém conforme aumenta o tamanho e/ou o número de cistos de tamanho razoável, haver efeitos negativos na medida em que afetam a mobilidade do concepto, fixação da vesícula embrionária e placentação. No primeiro caso ocorre o não reconhecimento materno da gestação. Há inadequados fluxo sanguíneo e fornecimento de nutrientes se há uma fixação próxima ou adjacente a um cisto. E no terceiro caso, afeta a placentação na medida em que não houver desenvolvimento microcotiledonário nas zonas em que a placenta estiver em contato com os cistos (STANTON *et al.*, 2004).

3.1.2 Insuficiência de progesterona

A produção de progesterona durante a prenhez da égua começa convencionalmente pela luteostase do corpo lúteo primário induzida pelo concepto. Isso é por pouco tempo, entretanto, e o suporte de progesterona é suplementado por um aumento na produção ovariana de progesterona após o dia 40, pela ação do hormônio eCG, que induz a ovulação de folículos secundários e, assim, produz um grupo de corpos lúteos acessórios (ALLEN, 2001). Apesar de o baixo nível de progesterona causado por insuficiência do corpo lúteo primário haver sido proposto como uma causa de perda embrionária precoce em éguas que justificaria a administração de progesterona exógena, sua ocorrência não foi bem documentada. (ALLEN, 2001).

Há um impasse quanto à necessidade e eficácia da suplementação com progesterona exógena na manutenção da prenhez. Em um experimento (DAELS *et al.*, 1987) comprovou-se que luteólise e perda embrionária podem ocorrer por endotoxemia experimental durante os primeiros 40 dias de gestação, mas não após esse momento, devido ao forte suporte luteogênico de eCG para os corpos lúteos secundários. Além disso, esses abortos induzidos por endotoxemia podem ser prevenidos pelo uso do progestágeno exógeno altrenogest e/ou de flunixin meglumine (DAELS *et al.*, 1989 *apud* ALLEN, 2001).

Entretanto, quando Irvine *et al.* (1990 *apud* ALLEN, 2001) acompanharam 287 éguas de um criatório por ultrassonografia do útero e diversas amostragens de plasma periférico para verificar progesterona durante os 42 primeiros dias de prenhez, observaram 17 (9%) perdas gestacionais e apenas um desses casos estava associado a baixa concentração de progesterona. Apesar da progesterona continuar sendo utilizada na prática clínica, mais pesquisa é necessária para estabelecer o valor da progesterona exógena na prevenção da perda embrionária espontânea.

Em algumas éguas, como descrito por Ginther (1985a), um corpo lúteo funcional é sujeito a um perecimento precoce. Nesse sentido, aparentemente qualquer condição que irrite o endométrio ou cause metrite pode levar a uma luteólise precoce ativada pelo útero. Em algumas dessas éguas, a luteólise ocorrerá apesar da permanência do embrião no útero (VANDERWALL, 2008), sendo que se a iminente perda de prenhez pode ser contida com administração progesterona exógena iniciada prontamente. Porém, o tratamento deve ser continuado até que a égua forme corpos lúteos acessórios e/ou a produção fetoplacentária de progestinas inicie, em torno de 55 dias e 85 dias, respectivamente (KNOWLES, 1993).

3.1.3 Idade da égua

Segundo experimento de Woods *et al.* (1986), sob condições ideais (sêmen fresco, fértil), as taxas de fertilização são bem altas (>90%) em éguas novas (média de 4 anos) e podem ser um pouco menores (85%) em éguas velhas (média de 18 anos). Entretanto, as taxas de recuperação embrionária em éguas idosas nos dias 6 a 9 pós-ovulação são marcadamente menores que a de éguas normais ((34% vs. 54%) durante a primeira semana de gestação.

Ball e colaboradores (1989) delinearum um experimento para comparar a viabilidade de embriões coletados de éguas jovens e idosas seguido de sua transferência para o útero de receptoras novas. Embriões de 4 dias pós-parto foram coletados dos ovidutos de éguas jovens (5-6 anos) e velhas (18-21 anos) e transferidos para éguas novas (5-6 anos). A taxa de sobrevivência de embriões de éguas jovens (84%) foi significativamente maior do que a daqueles de éguas velhas (25%). Pelos embriões de éguas velhas terem tido uma taxa de sobrevivência mais baixa após a transferência para um ambiente uterino normal, e os embriões nunca terem sido expostos ao ambiente uterino das éguas idosas, se sugeriu que efeitos adversos do ambiente do oviduto e/ou

defeitos inerentes aos embriões fossem responsáveis pela baixa taxa de sobrevivência de embriões de éguas idosas.

Carnevale e Ginther (1995) usaram aspiração folicular guiada por ultrassom transvaginal e transferência de oócitos para comparar a viabilidade de oócitos/embriões de éguas jovens (6-10 anos) e éguas idosas (20-26 anos). Os oócitos foram coletados por aspiração transvaginal e então cirurgicamente transferidos para ovidutos de éguas jovens. A transferência de oócitos permitiu a fertilização e desenvolvimento embrionário na égua receptora, evitando efeitos potencialmente deletérios do ambiente dos ovidutos de éguas idosas aos oócitos. Quando a prenhez foi diagnosticada no dia 12 com ultrassonografia transretal, mais oócitos de éguas novas do que éguas velhas resultaram em vesículas embrionárias (respectivamente 92% e 31%).

3.1.4 Lactação

Um trabalho recente de Newcombe e Wilson (2005) que examinou os registros de 12 temporadas de cobertura determinou que as perdas embrionárias em éguas lactantes tiveram uma incidência de 31,4%, enquanto as perdas em éguas primíparas foi marginalmente menor e em éguas falhadas foi a metade da incidência das lactantes. Esses achados não permitem que se chegue a uma conclusão absoluta, pois podem estar associados a outros eventos relacionados ao parto, visto que não foram comparadas éguas lactantes com éguas que pariram e não amamentaram. Henneke *et al.* (1984) concluíram que éguas em alta condição corporal aparentemente usaram suas reservas energéticas para compensar os efeitos adversos da energia restrita durante a lactação na sobrevivência embrionária, sugerindo uma relação mais próxima entre nutrição e sobrevivência embrionária do que a lactação em si.

3.1.5 Cobertura no cio do potro

Em um estudo de Meyers *et al.* (1991), que quantificaram a ocorrência de morte embrionária precoce em três fazendas, se obteve uma chance de 1,9 vezes mais chances de ocorrência de morte embrionária precoce em éguas cobertas no cio do potro. Já outro estudo (BLANCHARD *et al.*, 2004), em um retrospectiva de cinco anos, não encontrou diferenças entre éguas cobertas no cio do potro ou em cios subsequentes quanto à fertilidade e manutenção da prenhez, mesmo quando comparadas éguas de categorias diferentes, como virgens, falhadas e, ainda, que haviam abortado no ano anterior. Ambos autores, entretanto, concordam que esses resultados poderiam ter sido afetados

pelo manejo de cada fazenda, como tratamentos para acúmulo de fluido intra-uterino. Blanchard e colaboradores ressaltam que o achado deles de que éguas tratadas para fluido intra-uterino que engravidaram no cio do potro sofreram maior perda embrionária indica que fatores uterinos podem contribuir para essa morte embrionária. Talvez a presença de fluido intra-uterino seja um indicador de involução uterina incompleta, e poderia contribuir não apenas para falhas no estabelecimento da prenhez, mas poderiam também limitar a habilidade em sustentar o conceito ao longo da gestação. Os mesmos autores, ainda, propuseram que baixas taxas de prenhez estavam mais sujeitas a ocorrer em éguas ovulando próximo do pós-parto (BLANCHARD *et al.*, 2004). Bell e Bristol (1987) acharam uma fertilidade mais baixa em éguas ovulando ≤ 10 dias pós-parto, mas não verificaram diferença na taxa de perda embrionária comparando éguas com cio do potro atrasado em 4 a 8 dias, através do uso de progesterona e estradiol-17 β , com éguas não tratadas.

3.1.6 Momento da inseminação em relação à ovulação

Em experimento (WOODS *et al.*, 1990) com 268 éguas, as taxas de perda embrionária entre os dias 11 e 40 dias de prenhez foram significativamente maiores em éguas inseminadas, com sêmen fresco, 12 horas ou mais tarde a partir da ovulação (8/17, 47%) comparadas a éguas inseminadas de 0 a 12 horas pós-ovulação (6/24, 25%). As inseminações pós-cobertura resultaram em alta taxa de perda embrionária (34%), com a maioria das perdas ocorrendo entre os dias 15 e 20. Em um estudo mais recente (BARBACINI *et al.*, 1999), envolvendo éguas inseminadas com sêmen congelado 6 horas antes ou após a ovulação, não foi observada diferença nas taxas de perda embrionária por inseminar pré (8,1%) ou pós-ovulação (9,3%). Isso possibilitou o autor afirmar que inseminação com sêmen congelado durante o período de 0 a 6 horas após a ovulação não aumenta a taxa de perda embrionária. É importante lembrar que o aumento no tempo entre ovulação e inseminação (após 6 horas), particularmente quando sêmen congelado é usado, envolve uma marcada elevação da taxa de perda embrionária devido, entre outros, ao envelhecimento do oócito (WOODS *et al.*, 1990).

3.1.7 Local de fixação da vesícula embrionária

A fixação do embrião se dá em média ao dia 16 pós-ovulação e é uma combinação do aumento da vesícula embrionária com aumento na resistência intraluminal à mobilidade aumentada devido ao incremento no tônus uterino e com

empecilho ao movimento que se dá pela flexão ou curvatura abrupta dos cornos uterinos nesse a essa altura (GINTHER, 1986; GINTHER, 1992). Apesar de ser um evento incomum, a vesícula embrionária pode vir a se fixar em um local aberrante, particularmente o corpo uterino. Em um estudo retrospectivo por Jobert *et al.* (2005) analisaram que de 30 prenhez “no corpo uterino”, 9 estavam cranialmente localizadas e as outras 21 se situavam próximo à cérvix. Sete, dos nove embriões fixados cranialmente, foram carregados a termo e nos duas restantes houve morte do concepto entre 35 e 42 dias. Das 21 próximas à cérvix, em 3 foi usada PGF_{2α} para findar a gestação. Das outras 18, apenas 3 chegaram a termo.

3.1.8 Alterações cromossômicas maternas

As anormalidades cromossômicas mais comuns em cavalos são as que envolvem cromossomos sexuais, como a Síndrome de Turner equina (monossomia do cromossomo X ou X0 [zero]) e síndrome da reversão sexual XY (POWER, 1990 *apud* LEAR *et al.*, 2008). Entretanto essas síndromes estão associadas com infertilidade primária em éguas, não com morte embrionária precoce. Apenas três translocações autossômicas associadas a perda embrionária precoce haviam sido relatadas, em 1991, até 2008 (LEAR *et al.*, 2008), quando, pela citada autora, foram relatadas três novas translocações causando perda embrionária em éguas saudáveis e fenotipicamente normais. Todas as éguas do estudo foram cariotipadas devido a histórico de perdas embrionárias, resultando em subfertilidade ou infertilidade. Dependendo da recombinação gênica e segregação cromossômica seguindo a meiose, as translocações podem produzir gametas normais ou alterados. Todas as três éguas relatadas ciclavam normalmente e uma delas já tinha parido duas vezes. O estudo sugere que anormalidades cromossômicas como translocações podem ter uma influência maior na fertilidade equina do que relatado anteriormente para perda embrionária e que seria interessante cariotipar éguas subférteis para verificar eventuais anormalidades cromossômicas.

3.2 Fatores Extrínsecos

3.2.1 Estresse

O estresse materno foi proposto como um fator passível de contribuir para a ocorrência de perda embrionária precoce. Foi relatado (VAN NIEKERK & MORGENTHAL, 1982 *apud* BALL, 1988) um aparente declínio abrupto nas

concentrações de progestinas periféricas totais em éguas que passaram por estresse relacionado a dor, doença infecciosa ou desmame durante a gestação. Os autores propuseram que o declínio nessas concentrações seria devido à liberação de corticóides. Newcombe e Wilson (2005) sugeriram que o estresse social, principalmente em éguas recém incluídas no lote de cria, também pode contribuir para perda embrionária.

Éguas são frequentemente transportadas logo após a confirmação da prenhez e, portanto, transportadas durante o início da gestação, quando estão suscetíveis à perda embrionária precoce (VILLAHOZ *et al.*, 1985). Um estudo (BAUCUS *et al.*, 1990), avaliou o efeito do transporte sobre a ocorrência de morte embrionária em éguas. Os animais (54) foram transportados por 9 horas durante a 3ª ou a 5ª semana de gestação, quando, segundo Villahoz *et al.* (1985) as éguas estão sob maior risco de perda embrionária precoce. Apesar de ter induzido alterações nos níveis séricos de cortisol e progesterona, o transporte não afetou a taxa de morte embrionária nas éguas, quando comparadas com as éguas não-transportadas.

Para verificar os efeitos adversos do estresse provocado por endotoxemia na prenhez, Daels *et al.* (1987) administrou endotoxina de *Salmonella tythimurium* por via intravenosa, o que provocou perda embrionária em 7 de 9 éguas tratadas. As éguas estavam entre 23 e 55 dias de gestação e perderam a gestação em 5 dias de tratamento, o que não aconteceu com éguas entre 56 e 318 dias de prenhez postas sob o mesmo tratamento. O que sugere que houve um suporte pelos corpos lúteos acessórios (discutido anteriormente) na manutenção dos níveis de progesterona e, assim, da prenhez. O efeito adverso da endotoxina na atividade luteínica ocorre devido à liberação de PGF_{2α} endógena.

3.2.2 Nutrição

Em um experimento com 32 éguas envolvendo condição corporal no periparto (HENNEKE *et al.*, 1984), o grupo de éguas que perderam condição corporal por 90 dias antes do parto e mantiveram a condição baixa por 90 dias pós-parto teve, entre os dias 30 e 90 de gestação, uma taxa de perda embrionária de 75%. Essa taxa foi muito mais alta comparada com 0 a 12% encontrada nos outros grupos, em que houve: manutenção de condição corporal pelas éguas por 90 dias até o parto, com manutenção por 90 dias após; manutenção da condição até o parto e perda de condição corporal posterior ao parto ou, ainda, perda de condição corporal até o parto, mas recuperação no pós-parto. Além disso, quando comparadas entre diferentes grupos, as éguas no estudo que

pariram com escore corporal menor que 5 (escala de 1 a 10) tiveram taxas de prenhez menores e, das éguas que apresentavam escore corporal menor que 5 no momento do parto, todas perderam a prenhez até os 90 dias. Para se somar a esse estudo, há o experimento de Newcombe e Wilson (2005), que encontraram que 71% das éguas que mantiveram prenhez ganharam peso durante a temporada reprodutiva, enquanto 58% das éguas que perderam a gestação entre 14 e 45 dias perderam peso durante a estação reprodutiva.

3.3 Fatores Embrionários

Como descrito anteriormente, o aumento na idade materna está claramente associado com um decréscimo na qualidade dos oócitos, o que pode refletir alterações cromossômicas ou outras mudanças no oócito que aparentemente não afetam as taxas de fertilização, mas elevam muito a incidência de perda embrionária precoce em éguas idosas. Foi proposto (BISHOP, 1964) que uma parte considerável das perdas embrionárias seria devido a embriões geneticamente defeituosos que provavelmente são formados a cada geração parental e que, na maioria das vezes não são herdados. A perda embrionária secundária a isso requer uma explicação em termos de vantagens biológicas para a população ou a espécie como um todo. Deveria ser considerada uma maneira normal de eliminação de genótipos defeituosos com um custo biológico baixo. Isso fica evidente quando se compara a ocorrência de uma perda embrionária com a ocorrência de um neonato com má formação fatal.

4 DIAGNÓSTICO E ACOMPANHAMENTO ULTRASSONOGRÁFICO DA MORTE EMBRIONÁRIA

Pelo grande número de novos achados acerca da perda embrionária após o advento do ultrassom, nota-se a sua importância no acompanhamento da gestação e, especialmente o período embrionário, principalmente pela disseminação do uso de aparelhos de ultrassom no meio veterinário atual.

Segundo Ginther *et al.* (1985b) e Ball (1987 *apud* VANDERWALL, 2008), possíveis indicações de perda embrionária incluíram: vesícula embrionária menor que o normal; mobilidade prolongada (além do dia 16) do embrião; formato irregular da vesícula; edema excessivo das pregas endometriais (**Figura 1**); presença de fluido no lúmen uterino (**Figura 2**); deslocamento da vesícula, com perda de fluido; falta de desenvolvimento do embrião; ausência de batimentos cardíacos no embrião (após dia

24-25); aumento na ecogenicidade do fluido no concepto e desenvolvimento anormal das membranas fetais. Muitas perdas entre os dias 11 e 20 não foram apresentaram sinais detectados por Ginther *et al.* (1985b) através de ultrassonografia, havendo apenas, em muitos casos, o simples desaparecimento da vesícula sem nenhum indicativo.



Figura 1: Perda embrionária em andamento com suspeita de estar associada ao edema das pregas endometriais.

Fonte: McKinnon, 2009



Figura 2: Morte embrionária devido à associação com fluido livre ao redor da vesícula embrionária.

Fonte: McKinnon, 2009

Vários estudos relataram que embriões pequenos para a sua idade têm maiores chances de perda (GINTHER *et al.*, 1985b; GINTHER, 1986; BELL & BRISTOL, 1987; ADAMS *et al.*, 1987). Em um experimento de Ginther *et al.* (1985b), em exame entre 11 e 20 dias, vesículas pequenas para sua idade (abaixo do diâmetro médio em dois desvios-padrão) foram achadas em 3% das éguas que mantiveram o embrião e em 20% das éguas que perderam o embrião. Retrospectivamente, a probabilidade de que uma vesícula menor que o normal indique uma eventual perda embrionária foi de 62%. Apesar dessas porcentagens, as vesículas menores que o normal crescem na mesma taxa diária, proporcionalmente, que as de tamanho normal. Não foi detectada uma diminuição de diâmetro antes da perda como indicativo de perda embrionária. Já as vesículas embrionárias maiores que o normal (dois desvios padrão acima da média de diâmetro estabelecida para a idade) não tiveram associação com perda embrionária.

Quando há o bloqueio bem sucedido da luteólise pelo embrião e a subsequente morte embrionária, pode estabelecer-se um quadro de pseudogestação ou

pseudoprenhez, descrito por Ginther *et al.* (1985b; GINTHER, 1985a), em que o corpo lúteo e tônus uterino são mantidos, apesar da ausência da vesícula. A incidência de pseudogestação no estudo de Ginther *et al.* (1985b) foi dependente do tempo de ocorrência da perda embrionária. Todas as oito éguas com perda após o dia 20 se tornaram pseudoprenhes comparadas com as três dos dias 15 a 20 e 11 pseudogestações de 38 perdas embrionárias entre os dias 11 a 15.

O quadro contrário (GINTHER, 1985a), em que há a persistência do embrião mesmo após a luteólise, caracteriza-se por nítido edema das pregas endometriais ao redor, tamanho menor que o normal. Em uma égua observada, houve o retorno ao estro e ovulação enquanto a vesícula embrionária ainda estava no útero. Nesse tipo de quadro, há, retrospectivamente, concentração plasmática de progesterona, menor que 1 ng/mL (VANDEWALL, 2008).

Ainda foi descrita outra alteração no desenvolvimento embrionário normal, caracterizada por formação da vesícula embrionária sem o embrião dentro dela (VANDERWALL *et al.*, 2000). Quando a massa de células internas da vesícula falha em se formar ou desenvolver, a vesícula pode aparentemente continuar crescendo (aumentar o diâmetro), mas, obviamente, sem completar seu desenvolvimento normal.

A detecção precoce de perda embrionária pode ser feita pela realização de exames sequenciais com ultrassonografia transretal a cada 10 dias a duas semanas entre o 14º e o 40º dias de gestação. A cada exame, uma avaliação completa do concepto deveria ser realizada e anotada (*i.e.*, tamanho, localização, presença de batimentos cardíacos, etc.) (VANDERWALL, 2008). Os momentos dos exames podem ser escolhidos estrategicamente, ou seja, levando em conta os eventos que estão ocorrendo durante o desenvolvimento do embrião. Primeiramente, realizar o diagnóstico de prenhez aos 14 dias, por exemplo. Nesse momento já se observa se o diâmetro da vesícula está na faixa de normalidade; aos 21 dias observa-se o surgimento do embrião na base da vesícula embrionária; aos 25 pode-se repetir o exame, desta vez averiguando os batimentos cardíacos do embrião; aos 34 dias a viabilidade do embrião é checada, pois se houver alguma anormalidade, pode-se finalizar a prenhez antes da formação dos cálices endometriais. Em qualquer momento entre o dia 25 e 34 podem-se realizar exames observando a relação das áreas do saco vitelino e do saco alantóide na imagem ultrassonográfica. Se o concepto mostra algum sinal de falha iminente, a prenhez pode ser monitorada mais de perto e uma decisão sobre o uso de suplementação de

progesterona pode ser tomada (VANDERWALL, 2008), como será discutido mais adiante.

Como avanços na ultrassonografia, há expectativas em relação ao ultrassom Doppler. Através da avaliação da extensão de perfusão sanguínea para as áreas examinadas, essa modalidade de ultrassonografia demonstra um grande potencial não apenas para indicar o estado da estrutura no momento, mas também para fornecer indícios do futuro sucesso da estrutura (GINTHER & MATTHEW, 2004). Heinrich e colaboradores (2002) demonstraram diferenças no fluxo sanguíneo uterino entre éguas prenhes e não prenhes ao dia 11 pós-ovulação. Segundo Ginther e Matthew (2004), a ultrassonografia de Doppler pode ajudar o clínico a fazer julgamentos para a probabilidade de perda embrionária. Isso foi comentado por Gastal (2009, comunicação pessoal), que explicou, por exemplo, a necessidade da correta orientação do embrião na vesícula em relação à irrigação uterina, o que está associado a perdas embrionárias, caso haja uma má orientação. Por possibilitar uma visualização dos eventos relacionados ao desenvolvimento do embrião ou eventual anormalidade antes que o ultrassom comum possa detectar, há mais base no julgamento de quando e como intervir no fenômeno da perda embrionária.

5 POSSÍVEIS INTERVENÇÕES

Em conjunto com o reconhecimento de possíveis causas de perda embrionária atuantes e o correto diagnóstico e acompanhamento da ocorrência desse quadro, também é necessário verificar se existem modificações a serem feitas ou tratamentos a serem realizados para diminuir a incidência de perda embrionária e/ou “salvar” embriões mostrando sinais de morte próxima.

Seria ilógico iniciar quaisquer tratamentos sem se preocupar com o correto manejo dos animais. Como ressalta Darenius e colaboradores (1988), as éguas de cria devem receber adequado trato para assegurar a correta nutrição e condição corporal mínima. A constância e uniformidade dos grupos de éguas diminuem fatores de estresse social e nutricional que podem ocorrer pela competição por alimento, por exemplo.

Tratamentos específicos direcionados a sanar anormalidades reprodutivas tratáveis são altamente indicados para aumentar a probabilidade de manutenção bem-sucedida da prenhez. Conformações perineais pobres, que deixam o útero suscetível a doenças, podem ser corrigidas através de procedimentos cirúrgicos específicos (McKINNON, 2009). Lavagens uterinas associadas podem tanto solucionar processos

inflamatórios endometriais em andamento ou melhorar o ambiente uterino que irá receber o embrião quando realizadas pós-cobertura (MALSCHITZKY *et al.*, 2007), inclusive no cio do potro (MALSHITZKY *et al.*, 2002)

Em contraste (VANDERWALL, 2008), é improvável que muito possa ser feito para superar perdas embrionárias precoces em éguas idosas cujas causas sejam devidas a baixa qualidade dos oócitos. E, como discutido anteriormente, a administração de progesterona exógena em éguas prenhes para manutenção de prenhez é uma prática disseminada, embora faltem evidências de que ela possa “resgatar” um embrião que irá ser perdido com certeza sem tratamento. Entretanto, o tratamento com progesterona é claramente justificável quando, como discutido anteriormente, há sinais de luteólise apesar da persistência do concepto no útero. O mesmo tratamento com progesterona exógena poderia ser usado com sucesso na manutenção da prenhez no caso de embriões pequenos para a idade, mesmo que não menores que dois desvios-padrão, pois há a possibilidade de que não sejam capazes de bloquear a luteólise. Além disso, a administração de progesterona exógena é indicada quando há indícios de endotoxemia devido a doença severa, pois a luteólise secundária à endotoxemia faria baixar os níveis de progesterona circulante. Assim como foi sugerida a progesterona exógena como opção terapêutica durante a perda de prenhez secundária induzida por endotoxemia, também foi visto que o uso de um anti-inflamatório como o flunixin meglumine poderia anular a liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ se aplicado no estágio inicial da endotoxemia (DAELS *et al.*, 1991 *apud* VANDERWALL, 2008).

A suplementação com progesterona é normalmente realizada empiricamente, visto que não há nas bulas das formas comerciais o uso específico para prevenção de perda embrionária. Há duas formas de progesterona sendo usadas para este fim. Um progestágeno sintético de uso oral (altrenogest) e progesterona cristalizada, de uso intramuscular. O altrenogest já é usado empiricamente há muitos anos e em experimento de Knowles *et al.* (1993) sua administração teve sucesso na manutenção da prenhez em éguas ovariectomizadas. A progesterona cristalizada teve sua eficácia comprovada recentemente como tratamento de longa ação (LA) por Vanderwall e colaboradores (2003). Os autores induziram a luteólise (com cloprostenol) e iniciaram o tratamento no 18º dia de gestação, com administração de altrenogest para um grupo de éguas tratado e de progesterona cristalizada LA para o outro. No dia 18 da prenhez há, de acordo com experimentos citados anteriormente, uma menor taxa de perda embrionária que entre os dias 11 e 15, período em que ele poderia ter diagnosticado as

preñeas e iniciado o tratamento. Não há como saber se foi ou não com a intenção de evitar este período que o autor escolheu o dia 18, mas o fato é que a progesterona usada teve a mesma eficácia, comparativamente, que o altrenogest. O uso da progesterona LA tem, sobretudo, a vantagem de a aplicação ser semanal, enquanto a do altrenogest deve ser diária.

Segundo Vanderwall *et al.* (2000), quando há sinais de morte embrionária ou que a perda está prestes a ocorrer sem que haja tratamento possível, existem duas opções. A primeira é o tratamento conservativo, que consiste no monitoramento do conceito anormal pelo uso de ultrassonografia transretal e permitindo que a expulsão dos restos da vesícula e embrião se dê naturalmente. A segunda opção consiste na terminação da prenhez anormal pela administração de uma dose luteolítica $PGF_{2\alpha}$ sozinha ou em combinação com redução manual do conceito transretalmente. O manejo ativo é a opção de escolha quando há a intenção de ter a égua coberta novamente na mesma temporada reprodutiva. Deve, no entanto, ser realizada antes do 35º dia de gestação, quando os cálices endometriais começam a se desenvolver e secretar eCG. Findar a prenhez antes que os cálices endometriais se tornem funcionais é importante, pois a perda gestacional após esse momento, induzida ou não, resulta em muitas éguas que falham em retornar à atividade cíclica normal, entre outras complicações, sendo por isso chamado de “ponto sem retorno”, representado pela perda da possibilidade de emprenhar a égua na temporada (MEYERS *et al.*, 1991)

6 CONCLUSÕES

São muitos os fatores que afetam a perda embrionária e muitas vezes estão inter-relacionados. De um modo geral, podemos dividir os fatores entre aqueles que não podemos modificar e os que podemos modificar. Causas não-modificáveis de morte embrionária incluem principalmente as relacionadas à idade das éguas, que trazem, muitas vezes, subfertilidade. Como foi dito, se relacionam com a própria formação dos oócitos e qualidade dos embriões logo após a fecundação. Pouco pode ser feito, pelo menos nos dias de hoje, para sanar estes fatores, portanto devem ser aceitos em uma faixa de normalidade, dependendo das características da população de equinos com a qual se está trabalhando.

Por outro lado, deve-se garantir que todos os fatores modificáveis sejam contemplados na prevenção do fenômeno da perda embrionária, principalmente aqueles envolvidos nos processos de criação e manejo na produção potros.

É necessária maior organização nos experimentos, para chegar a conclusões embasadas. De maneira a poder se utilizar largos números coletados a campo, mas com padronização dos métodos de coleta de dados e do nível de detalhamento, para aumentar a confiabilidade dos achados e, assim, estabelecer a influência real (ou mais próximo disso) de cada um dos fatores envolvidos no fenômeno da perda embrionária. Assim, se estabelecem também critérios mais claros para julgar em quais situações intervir.

Por fim, o uso de novas tecnologias se faz interessante, por trazerem mais conhecimentos sobre a dinâmica da perda embrionária, com é o exemplo da ultrassonografia de Doppler, que tem potencial tanto para auxiliar na descoberta de novos aspectos das perdas gestacionais precoces, quanto para o julgamento a campo na escolha do tratamento correto e monitoramento.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, G. P.; KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J.. Effect of uterine inflammation and ultrasonically detected uterine pathology on fertility in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility (Supplement)**, v. 35, p. 445–454, 1987
- ALLEN W. R. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. **Reproduction in Domestic Animals**, v.36, p. 121–131, 2001.
- BALL, B. A.; LITTLE, T. V.; HILLMAN, R. B.; WOODS G. L.. Pregnancy rates at days 2 and 14 and estimated embryonic loss rates prior to day 14 in normal and subfertile mares. **Theriogenology**, v. 2, n. 5, p. 611-619, 1986.
- BALL, B. A.; HILLMAN, R. B.; WOODS, G. L.. Survival of equine embryos transferred to normal and subfertile mares. **Theriogenology**, v. 28, p. 167–174, 1987.
- 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.
- BALL, B. A.; LITTLE, T. V.; WEBER, J. A.; WOODS, G. L.. Survival of day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 85, p. 187-194, 1989
- BARBACINI, S.; GULDEN, P.; MARCHI, V.; ZAVAGLIA, G.. Incidence of embryo loss in mares inseminated before or after ovulation. **Equine Veterinary Education**, v. 11, n. 5, p. 251–254, 1999.
- BAUCUS, K. L.; RALSTON, S. L.; NOCKELS, C. F.; McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L..Effects of transportation on early embryonic death in mares. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 345-351, 1990.
- BELL, R. J.; BRISTOL, F.. Fertility and pregnancy loss after delay on oestrous with progesterone and oestradiol-17 β . **Journal of Reproduction and Fertility (Supplement)**, v. 35, p. 667-668, 1987.
- BISHOP, M. W. H.. Paternal contribution to embryonic death. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 7, n. 3, p. 383-396, 1964
- BLANCHARD, T. L.; THOMPSON , J. A.; BRINSKO, S. P.; STICH, K. L.; VARNER, D. D.; RIGBY, S. L.. Mating mares on foal heat: a five-year retrospective study. **Proceedings AAEP 2004**, v. 50, p. 525–530.
- BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; STOLLA, R.. Transrectal doppler ultrasonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 60, p. 597-605, 2003.

BRINSKO, S. P.; BALL, B. A.; MILLER, P. G.; THOMAS, P. G. A.; ELLINGTON, J. E.. In vitro development of day 2 embryos obtained from young, fertile mares and aged, subfertile mares. *Journal of Reproduction Fertility*, v. 102, p. 371–378, 1994.

CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, v. 37, p. 1101–1115, 1992.

CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J.. Defective oocytes as a cause of subfertility in old mares.. *Biology of Reproduction Mono*, v. 1, p. 209–214, 1995.

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

DAELS, P. F.; STARR, M.; KINDAHL, H.; FREDRIKSSON, G.; HUGHES, J. P.; STABENFELDT, G. H.. Effect of Salmonella typhimurium endotoxin on PGF-2a release and fetal death in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility* (Supplement), v. 35 p. 485–492, 1987.

DARENIUS, K.; KINDAHL, H.; MADEJ, A.. Clinical and endocrine studies in mares with known history of repeated conceptus losses. *Theriogenology*, v. 29, p. 1215-1232, 1988.

DOIG, P. A.; McKNIGHT, J.D.; MILLER, R. B.. The use of endometrial biopsy in the infertile mare. *Canadian Veterinary Journal*, v. 22, p. 72–76, 1981.

GINTHER, O. J.. Embryonic loss in mares: Incidence, time of occurrence, and hormonal involvement. *Theriogenology*, v. 23, n° 1, p. 77-89, 1985 (1).

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; LEITHGS, G. S.; SCRABA, S. T..Embryonic loss in mares: incidence and ultrasonic morphology. *Theriogenology*, v. 24, p. 73–86, 1985 (2).

GINTHER, O. J. Embryonic Loss. In: **Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare**. Cross Plains: Equiservices, 1986; p. 241, 253-285.

GINTHER, O. J. Pregnancy Loss. In: **Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects**. 2 ed. Cross Plains: Equiservices, 1992, p. 509-545, 546.

GINTHER, O. J.; MATTHEW, D.. Doppler ultrasound in equine reproduction: Principles, techniques and potential. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 24, n. 12, p. 516-525, 2004.

HENNEKE, D .R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.. Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. *Theriogenology*, v. 21, p. 897–90, 1984.

JOBERT, M. L.; LeBLANC, M. M.; PIERCE, S. W.. Pregnancy loss rate in equine uterine body pregnancies. *Equine Veterinary Education*, v. 17, n. 3, p. 163-165, 2005.

KENNEY, R. M.; GANJAM, V. K.. Selected pathological changes of the mare uterus and ovary. **Journal of Reproduction and Fertility (Supplement)**, v. 23, p. 335-339, 1975.

KENNEY, R. M.. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 172, n. 3, p. 241-262, 1978.

KNOWLES, J. E.; SQUIRES, E. L.; SHIDELER, R. K.; TARR, S. F.; NETT, T. M.. Relationship of progesterone to early pregnancy loss in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 13, n. 9, p. 528-533, 1993.

LEAR, T. L.; LUNDQUIST, J.; ZENT, W. W.; FISHBACK, Jr. J. R.; CLARK, A.. Three autosomal chromosome translocations associated with repeated early embryonic loss (REEL) in the domestic horse (*Equus caballus*). **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, p. 117-122, 2008.

LeBLANC, M. M.. Persistent mating induced endometritis. In: ROBINSON, N.E. (ed.) **Current therapy in equine medicine**, 5 ed., Filadélfia: W.B. Saunders, 2003. p. 234-237.

MALSCHITZKY, E.; SHILELA, A.; MATTOS, A. L. G.; GARBADE, P.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C.. Effect of intra-uterine fluid accumulation during and after foal-heat and of different management techniques on the postpartum fertility of thoroughbred mares. **Theriogenology**, v. 58, n. 2-4, p. 495-498, 2002.

MALSCHITZKY, E. JOBIM, M. I. M.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C.. Endometrite na égua, novos conceitos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 1, p. 17-26, 2007.

McKINNON, A. O.. Selected Reproductive Surgery of the Broodmare. In: **Proceedings of the 11th Annual Resort Symposium of the AAEP**, Vail, Colorado, 2009. Disponível em: <<http://www.ivis.org>>. Acesso em: 7 junho 2010.

MEYERS, P. J.; BONNETT, B. N.; McKEE, S. L.. Quantifying the occurrence of early embryonic mortality on three equine breeding farms. **Canadian Veterinary Journal**, v. 32, p. 665-672, 1991.

NEWCOMBE, J. R.; WILSON, M. C.. Age, body weight, and pregnancy loss. **Journal Equine Veterinary Science**, v. 25 p.188-194, 2005.

SQUIRES, E. L.; GARCIA, R. H.; GINTHER, O. J.. Factors affecting success of equine embryo transfer. **Equine Veterinary Journal, Supplement**, v. 17, n. 3, p. 92-95, 1985

STANTON, M. B.; STEINER, J. V.; PUGH, D. G. Endometrial cysts in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, p. 14-19, 2004.

VANDERWALL, D. K.; SQUIRES, E. L.; BRINSKO, S. P.; McCUE, P. M.. Diagnosis and management of abnormal embryonic development characterized by formation of an embryonic vesicle without an embryo in mares. **Journal of American Veterinary Medicinal Association**, v. 217, n. 1, p. 58-63, 2000.

VANDERWALL, D. K.; WILLIAMS, J. L.; WOODS, G. L.. Use of a compounded proprietary long-acting progesterone formulation for maintenance of pregnancy in mares. **Proceedings of the Society for Theriogenology**, 2003, Columbus, p. 8

VANDERWALL, D. K.. Early embryonic loss in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 11, p. 691-702, 2008.

VILLAHOZ, M. D.; SQUIRES, E. L.; VOSS, J. L.; SHIDELER, R. K.. Some observations on early embryonic death in mares. **Theriogenology**, v. 23, p. 915-924, 1985.

WOLFSDORF, K. E.. Endometrial cysts. In: **Proceedings of the Bluegrass Equine Reproduction Symposium**, Lexington, 2002.

WOODS, G. L.; HILLMAN, R. B.; SCHLAFER, D. H.. Recovery and evaluation of embriões de éguas normais e inférteis. **Cornell Veterinary**, v. 76, p. 386-394, 1986.

WOODS, G. L., BAKER, C. B.; BALDWIN, J. L.; BALL, B. A.; BILINSKI, J.; COOPER, W. L.. Early pregnancy loss in brood mares. **Journal of Reproduction and Fertility, (Supplement)**, v. 35, p. 455-459, 1987

WOODS, J.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J.. Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss rate in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, p. 410-415, 1990.

WORKING PARTY ON TERMINOLOGY, Recommendations. **Journal of Reproduction and Fertility (Supplement)**, v. 35, p. 647-652, 1982.