

FATORES QUE ALTERAM A FERTILIDADE REPRODUTIVA EM ÉGUAS

Isabel Regina Nunes Ribeiro^{1*} e Gabriel Almeida Dutra².

¹Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário UNA – Divinópolis/MG – Brasil – *Contato: nunesisabel2004@gmail.com

²Docente do Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário UNA – Divinópolis/MG – Brasil

INTRODUÇÃO

Sabe-se que a produção de equinos tem crescido em grande escala, visto que algumas das utilidades são lazer, esporte e trabalho. Por isso ocorrem grandes avanços no setor de reprodução equina visando o aumento da qualidade do plantel. Dito isso, é importante analisar a influência dos problemas reprodutivos na produção animal, visto que diminui a taxa de concepção e natalidade, além de desclassificar uma égua como matriz e diminuir a viabilidade financeira da produção. Os obstáculos são: fertilidade reprodutiva relacionada à idade, em se tratando de prováveis ocorrências de mutações e alterações morfológicas², falhas na maturação folicular, levando em conta os genes BMP15 e GDF9³, a nutrição e manejo relacionados aos fatores metabólicos⁴ e ao β -caroteno⁸. Além disso, fatores internos, como a leptina, kisspeptina⁵, eNOS (expressões do mRNA do endotélio)⁶ e IGF2⁷, a secreção mucosa do endométrio considerando o CFTR (canal regulador que atravessa a membrana) e as AQP's (aquaporinas)⁸ e, posteriormente o reconhecimento materno da gestação (RMG).⁹ Sendo assim, o presente resumo de tema busca discutir quais os fatores podem interferir na atividade reprodutiva das éguas, corroborando para o desenvolvimento acadêmico e prático na reprodução.

METODOLOGIA

Foram pesquisadas para a montagem da revisão de tema informações em diferentes plataformas acadêmicas, como Google Acadêmico (retiradas de J-Stage, LOCUS-UFV, REALP) e Science Direct. Assim, as consultas datam de 1975 até 2022. Com isso, foram 12 referências totais.

RESUMO DE TEMA

Inicialmente, com o crescimento da produção equina, surge o aprimoramento do manejo reprodutivo dos mesmos, com a necessidade de avanços em biotécnicas reprodutivas que amenizem as problemáticas⁹, as quais vão desde a pré-concepção, a concepção e a pós-concepção. São tópicos do resumo: a idade^{1,2}, falhas na maturação folicular³, nutrição^{4,7}, fatores internos^{5,6,10,11,12}, secreção mucosa do endométrio⁸ e o reconhecimento materno da gestação⁹.

Inicialmente, a alta idade influencia o desempenho reprodutivo, uma vez que os oócitos podem apresentar alterações morfológicas, disgenesia gonadal e problemas de fertilidade. Há também a monossomia do cromossomo X, a qual é uma anormalidade citogenética, comum em éguas com disgenesia gonadal e problemas de fertilidade¹⁰.

Pensando em fertilidade, as falhas na maturação folicular dependem de vários fatores, como o nível de LH, comunicação das células do *cumulus* com o oócito e com células que liberam os genes BMP15 e GDF9 que são fatores de comunicação. Esses heterodímeros auxiliam na estimulação da mitogênese, por isso animais homocigotos para BMP15 e GDF9 apresentam infertilidade, porque não ocorreu desenvolvimento primário do folículo e a ovulação só acontece em heterocigose, mas caso ocorra o bloqueio de apenas uma cópia dos alelos aumenta a taxa de ovulação na heterocigose. Quando se têm mutações nos genes, há ligação alterada aos seus respectivos receptores, encontrados na superfície das células da granulosa e *cumulus* ou níveis baixos de proteína madura³.

Tabela 1 – SNPs nos genes BMP15 e GDF9 com sua localização.

Adaptado de Fernanda Paulini (2010).

MUTAÇÃO	GENE	LOCUS GÊNICO	LOCALIZAÇÃO
Galway	BMP15	FecX ⁶	Pré-peptídeo
Hanna	BMP15	FecX ¹¹	Peptídeo maduro
Inverdale	BMP15	FecX ¹	Peptídeo maduro
Lacaune	BMP15	FecX ¹	Peptídeo maduro
Belclare	BMP15	FecX ⁸	Peptídeo maduro
Alta fertilidade	GDF9	FecG ¹¹	Peptídeo maduro
Booroola	ALK6/BMPRII	FecB ³	Peptídeo maduro

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), são pontos genômicos diferentes em um par de nucleotídeos. A imagem mostra onde são localizados e descritos nos genes BMP15 e GDF9³.

Ademais, a nutrição é fator determinante na reprodução, visto que ela controla os hormônios e os fatores metabólicos, como leptina, IGF1 e

Ghrelin. A alimentação interfere no sistema GH-IGF e pode determinar o crescimento folicular ovariano e aumentar a percepção folicular ao FSH, multiplicação de folículos, estereoidogênese, produção de ativina e inibina na granulosa.²

Diante dessa informação, segundo uma análise feita sobre a perda gestacional de éguas Mangalarga Marchador, constatou-se 4 perdas gestacionais por debilidade dos animais, mostrando que a nutrição e o manejo adequado inferem diretamente na gestação, sendo que essa problemática causa a perda no início da prenhez. Outros dois animais tiveram perda por patologias, como acúmulo de líquido no lúmen uterino, ocorreu aborto depois de 45 dias em que a concentração de P₄ (progesterona) caiu. Ainda outros dois animais tiveram a gestação interrompida após um transporte entre criatórios, porém o nível de P₄ também já vinha diminuindo⁹.

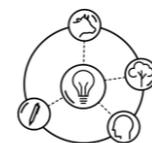
Adentrando na questão, tem-se as proteínas leptina e kisspeptina nas éguas⁴. A leptina tem o papel fundamental como mediadora da reserva de energia com a manutenção da condição corporal. Ela é um proteohormônio produzido no tecido adiposo, regulando os neurônios pró-opiomelanocortina, o que diminui o apetite. Dessa forma, ela faz o intermédio do anestro para o ciclo ovariano, demonstrando adaptação ao alimento disponível¹¹. A kisspeptina, descoberta recentemente, demonstrou forte vínculo com a diferenciação sexual cerebral, o estopim da puberdade, controle da secreção de gonadotrofinas e de fertilidade por sinais metabólicos e ambientais. No estudo, foi administrado Kp-10 em éguas, assim a concentração de LH aumentou tanto que atingiu seu pico em 30 minutos pós-aplicação intravenosa⁴.

Ainda internamente, outro fator atuante no endométrio é o NOS (Óxido Nítrico Sintase) no útero, sendo uma de suas expressões, o eNOS (expressões do mRNA do endotélio) que regula a vascularização em fêmeas que pode ser causada pela vasodilatação. Assim, o E₂ aumenta a expressão de eNOS e mRNA, além da expressão proteica nas células endoteliais da artéria. O iNOS (Óxido Nítrico Sintase Reduzida) pode ser importante, porém não surte efeito significativo no ciclo. Então, o eNOS é um importante fator que contribui para o aumento do fluido sanguíneo no estro⁵.

Além disso, foi demonstrada a influência da IGF2. Sua importância com o cDNA ou DNA complementar foi demonstrando em seus resultados. Ele pode ser usado em várias áreas de pesquisa genética e biotecnologia, sendo importante para os estudos e avanços científicos. O cDNA é uma molécula sintetizada em laboratório formada por ácido nucleico, a partir de um molde de mRNA. Sendo assim, é feito a transcrição reversa do cDNA, na qual uma enzima (transcriptase reversa) sintetiza o DNA a partir de uma sequência de RNA. Este estudo investigou o gene IGF2 em cavalos, um importante fator de crescimento. A análise da sequência de aminoácidos deduzida indicou a presença de dois principais domínios, IIGF e IGF2-C, na proteína. Além disso, ao avaliar a polimorfia de sequência do IGF2 em tecidos fetais de cavalos nativos de Hokkaido e Puro-sangue, identificou-se um polimorfismo de nucleotídeo único (T para C) na posição 398 em Puro-sangues. Isso levou a uma substituição de aminoácido na posição 133 da sequência do IGF2.

Este estudo também proporcionou uma visão inédita sobre o padrão de expressão do mRNA do IGF2 nos tecidos fetais de cavalos, demonstrando que é consistente com o observado em outras espécies. Coletivamente, esses achados sugerem que os produtos de transcrição e tradução do gene IGF2 mantêm funções conservadas durante o desenvolvimento fetal de mamíferos, incluindo os cavalos. As UTRs (regiões não codificantes) são conhecidas por conter elementos regulatórios cruciais que afetam a expressão gênica em níveis de transcrição e pós-transcrição, sendo que a expressão do mRNA do IGF2 ocorre principalmente no tecido do fígado durante a vida embrionária.

Analisou-se a sequência completa do mRNA do gene IGF2 em cavalos, incluindo suas UTRs de 5' e 3', identificando uma nova variante de transcripto. Também identificou-se dois principais domínios proteicos na proteína IGF2, chamados IIGF2 e IGF2-C. A comparação da sequência de



XII Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente

aminoácidos do IGF2 equino com outras espécies revelou uma notável conservação genética. Além disso, pela primeira vez, determinamos o padrão de expressão do mRNA do IGF2 em tecidos fetais de cavalos, que se mostrou semelhante ao observado em outras espécies de mamíferos. No geral, os resultados sugerem que os produtos do gene IGF2 desempenham funções semelhantes durante o desenvolvimento fetal em mamíferos, incluindo cavalos. O comprimento da 5'-UTR é importante na regulação da tradução do gene IGF2, e a sequência da 3'-UTR também desempenha um papel na estabilidade do mRNA e na tradução, regulando a síntese de proteínas, muitas vezes por meio de interações com microRNAs. Embora a regulação do gene IGF2 em cavalos não esteja totalmente esclarecida, entender as informações genéticas nas regiões UTR pode ser útil para uma compreensão mais aprofundada desse processo⁶.

Outra questão é que no inverno, o feno esgota seu conteúdo de β -caroteno. Um estudo envolvendo sessenta éguas trotadoras italianas foi realizado, dividindo-as aleatoriamente em grupos de controle e tratamento. O grupo de tratamento recebeu 1g/dia de β -caroteno sintético por um período de 15 dias após o parto. Foram coletadas amostras de sangue no momento do parto e nos dias 5, 10 e 15 pós-parto, e essas amostras foram analisadas para avaliar os níveis de β -caroteno, vitaminas A, progesterona, 17 β -estradiol, bem como os parâmetros energéticos (glicose, colesterol, NEFA – ácidos graxos não esterificados), o perfil proteico (proteína total, albumina, ureia) e LDH (lactato desidrogenase). Algumas das alterações observadas nessas medidas foram atribuídas ao tratamento, que teve um impacto significativo nas concentrações de β -caroteno e 17 β -estradiol. Além disso, foi observado um efeito significativo na retomada da atividade estral. O β -caroteno plasmático no periparto auxilia na absorção ou redução da pró vitamina em vitamina A. Ou seja, trouxe efeitos metabólicos favoráveis. Por isso, é discutido que a suplementação com o β -caroteno auxilia na performance reprodutiva, uma vez que reduz o tempo da próxima ovulação⁷.

Além disso, a secreção mucosa é uma das causas das mudanças da atividade elétrica e estão associadas à expressão gênica, porém, o último, não é verificado, assim o CFTR (canal regulador que atravessa a membrana) pode desempenhar papéis fisiológicos na reprodução feminina, visto que controla a passagem do íon cloreto. Em camundongos, a expressão máxima do mRNA do CFTR no endométrio uterino ocorre três dias após o acasalamento, o qual intermedia a secreção de bicarbonato e da capacidade de fertilização espermática e, pode afetar os humanos também. A expressão dele durante o CH (corpo hemorrágico) e o desenvolvimento do CL (corpo lúteo) mostra a contribuição da secreção para a interação do esperma. Além disso as AQP, ou Aquaporinas, são proteínas de membrana que desempenham um papel importante na regulação do transporte de água através das membranas celulares. Elas hidratam o trato reprodutivo e o remodelam. O AQP3 está associado ao desenvolvimento do CL até o CA (*corpo albicans*), porém o AQP5 é alto principalmente no desenvolvimento do CL ativo. Concluindo que a atividade elétrica nos tecidos do útero podem ser determinantes na presença do CL⁸.

Em se tratando de fatores internos, encontrou a presença de receptores de ativina útero-placentar em exame imuno histoquímico. Nessa análise os tipos IA, IB, IIA e IIB sugerem uma correlação com a regulação de hormônios esteroides em fêmeas, considerando sua formação e secreção. Em relação a isso, houve correlação entre os hormônios e a ativina, sendo que a placenta fornece P4 após 100 dias de gestação e estrógeno na segunda metade da prenhez e, conectando com o período em que a cadeia β A está presente no útero. Ela também participa dos processos de contração miometrial direta, sendo estimulada pela ocitocina, mesmo que possa ocorrer a inibição indireta de ocitocina pela ativina no endométrio¹².

Para que ocorra de fato o início da gestação é preciso que aja o reconhecimento materno da gestação (RMG), dito isso o embrião equino se comporta de forma distinta das demais espécies, possuindo formato esférico dentro da cápsula de glicocálix e, movimenta-se no lúmen uterino até o 17º dia de gestação, quando ocorre o desenvolvimento do miométrio e o embrião fixa-se no corno, garantindo o RMG. Tal movimentação auxilia a alimentação antes do surgimento da placenta. Dessa forma, com a fixação, o embrião produz PGF2 α , auxiliando no relaxamento das fibras musculares e introdução ao útero. Sabendo disso, há uma queda de receptores de ocitocina entre os dias 10 e 16, que reduz a formação da PGF através de seu precursor: ácido araquidônico. Ainda, o estrógeno associado à progesterona, aumenta as úteroferinas que permitem o reconhecimento

materno, além de que o E2 corrobora com a comunicação da placenta epiteliocorial. Dito isso, para que seja possível o início de uma gestação é essencial a ausência de barreiras físicas impedindo o embrião de se movimentar e a não existência de cistos ou septos endometriais⁹.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, após todos os adendos, constata-se que todos os fatores mencionados influem na fertilidade das éguas, positiva ou negativamente, do início à manutenção gestacional. Por isso, conhecer os casos acima é de imensa importância para o sucesso do plantel, tendo o maior número possível de animais grávidos, evitando posteriores patologias e demais problemáticas reprodutivas. Com base em toda a análise, é indubitável o desenvolvimento de novas pesquisas que investiguem os fatores correlacionados à função reprodutiva, o descobrimento de elementos influentes nela e a exposição desses dados, para que aumente o acervo informacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. IGNÁCIO, Fernanda S.; DE MEIRA; Cezinande. **Subfertilidade em éguas: como diagnosticar a causa?** Revista Brasileira de Reprodução Animal, XXIV Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA-2021) e VIII International Symposium on Animal Biology of Reproduction, Belo Horizonte, v.45, p.533-541, outubro, 2021.
2. CHANDLEY, Ann C. et al. **Chromosome abnormalities as a cause of infertility in mares.** Journal of Reproduction and Fertility Supplement, Inglaterra, 1 de outubro, 1975. Disponível em: Chromosome abnormalities as a cause of infertility in mares - PubMed (nih.gov). Acesso em: 23/10/2023.
3. PAULINI, Fernanda. **Expressão do growth and differentiation factor 9 (GDF9) e bone morphogenetic protein 15(BMP15) in vitro e seu efeito no processo de luteinização em células da granulosa bovinas.** 2015. 118 págs. Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
4. DE ARAÚJO, Jéssica M. **A influência da nutrição e a atuação da leptina e kisspeptina no ciclo reprodutivo da égua.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.42, p.9-14, jan./mar. 2018.
5. HONNENS, Aenne. et al. **Relationships Between Uterine Blood Flow, Peripheral Sex Steroids, Expression of Endometrial Estrogen Receptors and Nitric Oxide Synthases During the Estrous Cycle in Mares.** Journal of Reproduction and Development. Berlin, v.57, p.43-48, outubro, 2011.
6. KIKUCHI, Kohta. et al. **Identification and expression analysis of cDNA encoding insulin-like growth factor 2 in horses.** Journal of Reproduction and Development, Hokkaido, v.64, p.57-64, fevereiro, 2018.
7. TROMBETTA, Maria F. et al. **Effect of β -carotene Supplementation on Italian Trotter Mare Peripartum.** Journal Equine Science, Itália, v.21, p.1-6, Fev. 2010.
8. KIKUCHI, Kohta. et al. **Evaluating the electrical impedance and mucus-related gene expression of uterine endometrial tissues in mares.** Journal of Reproduction and Development, Vol. 64, p. 193-197, janeiro, 2018.
9. DA MATTA, Manuela Pereira. **Avaliação dos parâmetros de gestação de éguas da raça mangalarga marchador.** 2013. 115 páginas. Dissertação – UFV (Universidade Federal de Viçosa), Viçosa, 2013.
10. PIENKOWSKA-SHELLING, Aldona. **X chromosome aneuploidy and micronuclei in fertile mares.** Theriogenology, v.147, p. 34-38, abril, 2020.
11. DREWS, Bárbara. et al. **Moderate differences in Plasma Leptin in Mares have no effect on either the amino acid or the fatty acid composition of the uterine fluid.** Journal of Equine Veterinary Science. v.109, fevereiro, 2022.
12. KIMURA Yuki. **Expression of activin receptors in the equine uteroplacental tissue: an immunohistochemical analysis.** Journal of Equine Science, Hokkaido, v.29, p.33-37, 2018.