SAULO BARACAT VILLELA

**Efeito da suplementação com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico
durante o período periparto sobre a involução uterina de éguas**

Pirassununga

2018

SAULO BARACAT VILLELA

**Efeito da suplementação com microalgas ricas em ácido docosaheptaenóico
durante o período periparto sobre a involução uterina de éguas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Departamento de Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição de Equinos

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira
Gobesso

Pirassununga

2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3709
FMVZ

Villela, Saulo Baracat
Efeito da suplementação com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico durante o período periparto sobre a involução uterina de éguas / Saulo Baracat Villela. – 2018.
56 f. : il.

Mestrado (Dissertação) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Departamento de Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Departamento de Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.

1. Ácido graxo. 2. DHA. 3. Equinos. 4. EPA. 5. Reprodução. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito da Suplementação com DHA Durante o Período Periparto Sobre a Involução Uterina de Éguas", protocolada sob o CEUA nº 7278221117 (ID 005445), sob a responsabilidade de **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso e equipe; Saulo Baracat Villela** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 03/09/2018.

We certify that the proposal "Effect of DHA Supplementation During the Peripartum Period on Uterine Involution of Mares", utilizing 28 Equines (28 females), protocol number CEUA 7278221117 (ID 005445), under the responsibility of **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso and team; Saulo Baracat Villela** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 09/03/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **11/2017** a **04/2018**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **5 a 15 anos**

N: **28**

Linhagem: **SRD**

Peso: **350 a 500 kg**

Local do experimento: O experimento será desenvolvido nas instalações de um haras particular chamado Vila colonial, localizado na cidade de Analândia/SP.

São Paulo, 03 de setembro de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: VILLELA, Saulo Baracat

Título: Efeito da suplementação com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico durante o período periparto sobre a involução uterina de éguas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____ / ____ / ____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pois sem Ele nada disso estaria acontecendo;

À Universidade de São Paulo, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo;

Ao meu orientador Alexandre Gobesso pelos ensinamentos e por ter aberto as portas do mestrado para mim;

Ao professor Guilherme Pugliesi pela enorme boa vontade e disposição em ensinar e ajudar, e por disponibilizar o Lfem para realizarmos algumas análises;

Aos meus pais e irmãos que me apoiaram e apoiam incondicionalmente sempre em minhas decisões;

Aos meus avós, primos, tios e tias que mesmo estando longe me deram força para que essa jornada se tornasse mais leve. Cada um da sua maneira, todos foram e são muito importantes para mim;

Ao meu primo Rafael, que desde o início me incentivou e deu força com seus conselhos;

À equipe do Haras Vila Colonial, principalmente Dr. Carlo Rangel, Natália e Renato por terem aberto as portas para realização do experimento e pela enorme boa vontade;

Aos pós-graduandos , estagiários e alunos de IC do LABEQUI por tudo! Tivemos muitos momentos bons e ruins juntos mas, com certeza, os melhores superaram os piores;

À equipe do Haras Raphaela, principalmente Felipe Fedozzi, que durante esse ano de 2018 me possibilitou conciliar o término do mestrado com meu trabalho;

Aos amigos que fiz durante esse tempo em Pirassununga! Camila, Hortência, Felipe, Andrew! Sem dúvidas vocês foram fundamentais durante esse tempo. Sentirei saudades e levarei essa amizade pela vida;

Por fim gostaria de agradecer aos cavalos, pois são eles o motivo disso tudo!

RESUMO

VILELLA, S. B. Efeito da suplementação com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico durante o período periparto sobre a involução uterina de éguas. (Effects of docosahexaenoic acid rich microalgae supplementation in periparturient mares on uterine regression). 2018. 56 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da adição de suplemento contendo microalgas ricas em ácido docosahexaenóico (DHA) no período periparto sobre o processo de involução uterina de éguas. Foram utilizadas 18 éguas sem raça definida, com $410 \pm 39,5$ kg (média $\pm$ desvio padrão) de peso corporal, $7,83 \pm 2,01$ anos de idade e escore de condição corporal $5,39 \pm 0,61$. Noventa dias antes da data de parto prevista, os animais foram aleatoriamente alocados para receber um dos tratamentos experimentais: CONT: sem a adição de suplemento rico em microalgas; e ALG: com a adição de 0,06 g/kg de peso corporal/dia de microalga (All-G Rich[®], Alltech, Nicholasville, KY). As éguas foram mantidas em pastagem de *Cynodon* e receberam 1 kg/dia de concentrado no pré-parto e 2 kg/dia após o parto, divididos em dois fornecimentos diários. As éguas foram avaliadas por palpação retal, ultrassonografia no modo B e Doppler, aos 3, 7, 11, 15 após o parto e 4 e 7 dias após a primeira ovulação pós parto. Os dados foram divididos em avaliações pós parto (3, 7, 11 e 15 dias) e pós ovulação (4 e 7 dias) e foram avaliados como medidas repetidas no tempo, utilizando o PROC MIXED do SAS (versão 9.3). Independentemente ($P \geq 0,508$) do tempo de avaliação, a adição de suplemento rico em microalgas não afetou ($P \geq 0,265$) o diâmetro do endométrio,. Em relação aos animais do grupo CONT, os animais do grupo ALG apresentaram menor ($P = 0,042$) diâmetro do mesométrio do corno gestante após o parto e tenderam ($P = 0,093$) a apresentar menor diâmetro no corno não gestante. Os diâmetros do endométrio e mesométrio foram afetadas ($P < 0,001$) pelo tempo de avaliação pós parto. De

maneira geral, com a passagem do tempo, os diâmetros foram reduzidos. Nem a adição de microalgas ($P \geq 0,185$), nem o tempo de avaliação ($P \geq 0,164$) afetaram a vascularização do endométrio e do mesométrio. A suplementação com microalgas aumentou ($P = 0,004$) a ecogenicidade uterina pós parto, sem afetar ($P \geq 0,392$) a presença de fluido uterino, o diâmetro do folículo dominante, os intervalos entre o parto e a primeira ovulação, assim como o escore de condição corporal dos animais. Independentemente ($P \geq 0,523$) do tratamento, com o passar do tempo, houve redução ($P \leq 0,05$) da quantidade de fluido uterino e aumento ($P \leq 0,05$) do diâmetro do folículo dominante. A suplementação com microalgas ricas em DHA na dieta de éguas, apesar de reduzir o diâmetro do mesométrio e aumentar a ecogenicidade uterina, não afeta a recuperação uterina pós-parto, nem reduz o intervalo entre o parto e a primeira ovulação.

Palavras chave: ácido graxo; DHA; equinos; EPA; reprodução.

ABSTRACT

VILELLA, S. B. Effects of docosahexaenoic acid rich microalgae supplementation in periparturient mares on uterine regression. (Efeito da suplementação com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico durante o período periparto sobre a involução uterina de éguas). 2018. 56 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

The present study aimed to evaluate the effect of dietary supplementation of microalgae rich in docosahexaenoic acid (DHA) to periparturient mares on uterine involution process. Eighteen mares with 410 ± 39.5 kg (mean $\pm$ standard deviation) of body weight, 7.83 ± 2.01 years of age and body condition score 5.39 ± 0.61 were used. Ninety days before the expected calving date, animals were randomly allocated to receive one of the experimental treatments: CONT: without supplemental microalgae; and ALG: algae, with the addition of 0.06 g/kg body weight/d of microalgae (All-G Rich[®], Alltech, Nicholasville, KY). Animals were maintained on *Cynodon* pasture and received 1 kg /d of concentrate supplement in prepartum and 2 kg/d in post partum, supplied twice daily. Mares were evaluated by rectal palpation, B mode and Doppler ultrasonography at 3, 7, 11, and 15 days postpartum and 4 and 7 days post ovulation. The data were divided into postpartum (3, 7, 11 and 15 days) and post ovulation (4 and 7 days postpartum) evaluations and were evaluated as time-repeated measures using SAS MIXED PROC (version 9.3). The addition of ALG had no effect ($P \geq 0.508$) on endometrial diameter regardless evaluation time ($P \geq 0.265$). In relation to CONT-treated animals, the animals of the ALG group had lower ($P = 0.042$) mesometrial diameter of the pregnant horn and tended ($P = 0.093$) to show decreased diameter of non-pregnant horn. Endometrial and mesometrial diameters were affected ($P < 0.001$) by the time of postpartum evaluation. In general, with passage of time, the diameters were reduced. Neither the addition of microalgae

($P \geq 0.185$) nor the time of evaluation ($P \geq 0.164$) affected endometrium and mesometrium vascularization. Microalgae supplementation increased ($P = 0.004$) postpartum uterine echogenicity without affecting ($P \geq 0.392$) the presence of uterine fluid, the diameter of dominant follicle, interval between partum and first ovulation, and animal body score condition. Over time, there was decrease ($P \leq 0.05$) in the amount of uterine fluid and increase ($P \leq 0.05$) in dominant follicle. Dietary supplementation of DHA-rich microalgae in periparturient mares, although reducing mesometrium diameter and increasing uterine echogenicity, shows no effect on postpartum uterine recovery and interval between partum and first ovulation

Keywords: DHA; equines; EPA; reproduction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Metabolismo de ácidos graxos ômega 3 e ômega 6	25
Figura 2 - Oferta dos suplementos (tratamentos) aos animais experimentais.....	32
Figura 3 - Diâmetro do endométrio do corno gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico..	37
Figura 4 - Diâmetro do endométrio do corno não gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico.....	38
Figura 5 - Diâmetro do mesométrio do corno gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico..	39
Figura 6 - Diâmetro do mesométrio do corno não gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico.....	40
Figura 7 - Fluido uterino de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico	43
Figura 8 - Ecogenicidade uterina de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico.....	44
Figura 9 - Diâmetro do folículo dominante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição bromatológica do concentrado e da pastagem utilizados no estudo..	33
Tabela 2 - Diâmetro do endométrio e do mesométrio de éguas alimentadas com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico.....	36
Tabela 3 - Vascularização do endométrio e do mesométrio, presença de fluido e ecogenicidade uterina e diâmetro do folículo dominante de éguas alimentadas com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico	42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	HIPÓTESE.....	15
3	OBJETIVOS	15
3.1	OBJETIVO GERAL	15
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
4.1	DIGESTÃO E METABOLISMO DE LIPÍDEOS EM EQUINOS	20
4.2	EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE FONTES DE ÁCIDO GRAXOS ÔMEGA 3 NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL.....	24
4.3	EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE FONTES DE AG ÔMEGA 3 SOBRE A REPRODUÇÃO.....	28
5	MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1	LOCAIS	30
5.2	ANIMAIS, TRATAMENTOS E MANEJO NUTRICIONAL	31
5.3	EXAMES DE PALPAÇÃO E ULTRASSONOGRAFIA TRANSRETAL.....	33
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
7	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

As éguas apresentam algumas alterações fisiológicas e endócrinas no final da gestação para prepararem-se para a expulsão fetal, liberação de placenta e involução uterina, resultando na apresentação de cio fértil poucos dias após o parto. No entanto, a viabilidade da utilização deste cio é questionável. As condições uterinas indesejáveis, como a presença de fluido, debris celulares e células inflamatórias parecem ser as principais causas de reduzida taxa de concepção. Além disso, as fêmeas podem apresentar balanço energético negativo nesse período, em decorrência do baixo consumo de energia e das elevadas exigências em decorrência do início da lactação, acarretando em redução da imunidade e prejuízos à reprodução.

Diferentes protocolos farmacológicos têm sido avaliados com o intuito de acelerar o processo de involução uterina, no entanto, os resultados têm sido pouco efetivos. A adição de fontes lipídicas na dieta de éguas, principalmente na forma de óleos vegetais, tem permitido o aumento do consumo de energia e melhora da condição corporal dos animais no pós-parto. Além disso, a suplementação dietética com ácidos graxos poli-insaturados pode ser uma alternativa para melhorar a resposta imune, melhorando a condição geral e reprodutiva das fêmeas no pós-parto imediato. Ademais, o desenvolvimento de novas fontes lipídicas ricas em ácidos graxos essenciais de elevada disponibilidade, como as microalgas tem despertado interesse da pesquisa. Destes ácidos graxos, os da família ω -3 são tidos como essenciais, uma vez que os mamíferos não possuem capacidade de síntese em quantidade suficiente para atender as exigências. Além disso, os potenciais efeitos anti-inflamatórios dos ácidos graxos ω -3 podem potencializar a involução uterina, resultando em melhores condições uterinas, quando da ocorrência do primeiro cio após o parto.

O fornecimento de ácidos graxos ω -3 tem sido associado ao aumento da sensibilidade à insulina e à alteração do perfil dos ácidos graxos circulantes, o que pode melhorar a condição metabólica de éguas recém paridas. Embora se discuta a respeito dos efeitos ácidos graxos poli-insaturados sobre a imunidade e o desempenho reprodutivo de animais de produção, pouco se sabe sobre os efeitos da suplementação com ω -3 sobre o desempenho reprodutivo e especialmente sobre a regressão uterina em éguas.

2 HIPÓTESE

A suplementação dietética com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico no periparto acelera a involução uterina, reduzindo a presença de fluido intrauterino, os diâmetros e a perfusão sanguínea do endométrio e do mesométrio, com redução da ecogenicidade uterina e do intervalo entre o parto e a primeira ovulação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

O presente estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da suplementação dietética com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico em éguas, no periparto, sobre o processo de recuperação uterina.

3.2 Objetivos específicos:

Os objetivos específicos do presente estudo foram avaliar:

- diâmetros e perfusão sanguíneas do endométrio e mesométrio;
- presença de fluido intrauterino;
- ecogenicidade;
- escore de condição corporal;
- intervalo entre o parto e a primeira ovulação.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os equinos são reprodutivamente classificados como animais poliéstricos estacionais de dias longos, nos quais as fêmeas apresentam início da ciclicidade durante a primavera, quando há aumento da duração da luz natural, da temperatura e da disponibilidade de alimentos (NAGY; GUILLAUME; DAELS, 2000). De acordo com Carvalho et al. (2001), a duração da gestação de uma égua é de aproximadamente 330 dias, fazendo com que a concepção ocorra o mais rápido possível para que seja possível que o animal tenha um parto por ano. Além disso, uma concepção precoce, dentro de uma estação de monta pode antecipar o nascimento dos potros, o que favorece o desempenho deste em relação aos seus contemporâneos (LANGLOIS; BLOUIN, 1996) e permite um maior tempo de recuperação para a matriz até a concepção subsequente, reduzindo a ocorrência de falhas reprodutivas.

As éguas possuem placenta do tipo epiteliocorial, considerada pouco invasiva em relação às vacas e porcas, o que permite elevadas taxas de concepção nos primeiros cio após o parto (SERTICH; HINRICHS; KENNEY, 1989). Em relação às demais espécies domésticas, as éguas apresentam uma rápida involução uterina. Carvalho et al. (2001) destacam que em condições normais, doze horas após o parto, o corno uterino gestante apresenta 1,5 vezes o tamanho do corno não gestante. Sete dias após o parto, o epitélio

luminal não apresenta as dilatações das glândulas endometriais e microcarúnculas. Como o endométrio está recuperado no sétimo dia após o parto (SERTICH; HINRICHS; KENNEY, 1989), cios férteis podem ocorrer nas primeiras semanas pós parto.

No entanto, a viabilidade da utilização do primeiro estro pós-parto ainda suscita muitas dúvidas. Alguns autores relatam taxas de concepção de 11 à 30% menores do que àquelas observadas em estros subsequentes (MERKT; GÜNZEL, 1979; GINTHER, 1992; KATILA, 2003). Além da menor taxa de concepção, as perdas embrionárias também podem ser mais frequentes (MERKT; GÜNZEL, 1979; BELL; BRISTOLL, 1987). Contudo, as causas destas maiores perdas não estão completamente elucidadas. Acredita-se que a involução uterina incompleta e a contaminação do ambiente uterino no momento do parto sejam os principais fatores determinantes deste menor desempenho reprodutivo (ROCHA et al., 1996).

Streptococcus e *Coliformes* são os microrganismos mais frequentes em culturas de *swab* uterino de éguas no pós parto (KATILA; REILAS, 2001): inicialmente a bactéria mais isolada é *E. coli* e com o avanço da involução, *Streptococcus* tendem a se tornarem mais prevalentes (KATILA et al., 1988). A incidência de *swab* positivo para bactérias entre um e dois dias após o parto tem sido baixa (20 à 40%), sendo que alguns dias depois, entre os dias 3 e 6 após o parto, a incidência aumenta consideravelmente (70 à 90%; KATILA et al., 1988). O manejo ao parto, o ambiente e os eventos durante o parto influenciam grandemente a contaminação uterina no pós parto. Desta forma, éguas que apresentam distocias tem maior probabilidade de apresentarem crescimento bacteriano aos 3, 6 e 9 dias pós parto do que éguas que tiveram parto normal (GLATZEL; BELZ, 1995).

Com o passar dos dias após o parto, especialmente na primeira semana, ocorrem grandes mudanças no tamanho do útero, o que pode ser detectado por palpação retal (KATILA et al., 1988). A ultrassonografia transretal permite uma avaliação mais acurada do

diâmetro dos cornos uterinos do que a palpação. Usando ultrassonografia é possível observar que o corno uterino anteriormente gravídico retorna ao seu diâmetro inicial três semanas após o parto (SERTICH; WATSON, 1992). Além disso, durante muitos dias após o parto, o útero é extremamente firme, provavelmente em função da intensidade do edema (KATILA et al., 1988). Imediatamente após o parto, a liberação de prostaglandina $F2\alpha$ aumenta consideravelmente, mas retorna ao seu nível basal em três dias (SERTICH; WATSON, 1992). Desta forma, a contratilidade uterina, avaliada por ultrassonografia se mantém muito baixa até a primeira ovulação (GRIFFIN; GINTHER, 1991). Estes achados parecem contraditórios, uma vez que era esperado que a contratilidade uterina se elevasse durante o pós-parto imediato, facilitando o esvaziamento, a limpeza e consequentemente a involução uterina (KATILA; REILAS, 2001).

Como os hormônios associados a manifestação de estro tendem a atuar positivamente no processo de involução, é de se esperar uma involução mais rápida do útero de éguas que ovulam logo após o parto, em relação àquelas que apresentam falha na atividade folicular. Lemes et al. (2017a) estudaram a dinâmica folicular e a perfusão sanguínea uterina em éguas ($n = 10$) que apresentaram estro precoce (< 10 dias) ou tardiamente (> 10 dias) após o parto. As éguas que apresentaram cio precocemente apresentaram maior número de folículos com diâmetro maior de 25 mm após o parto, em relação àquelas que apresentavam estro a partir do décimo dia. No entanto, quando o diâmetro foi corrigido para o dia em relação à ovulação, nenhuma diferença foi observada entre os grupos. Os autores observaram que os folículos ovulatórios dos animais que ovulam precocemente apresentam dominância antes mesmo do parto, apresentando-se com maior diâmetro, no período pós parto.

Embora o termo "anestro lactacional" não seja um termo adequado para éguas, a ocorrência de anestro logo após o primeiro estro pós parto é relativamente comum, seja esta associada a persistência do corpo lúteo gestacional ou distúrbios metabólicos (PALMER;

DRIANCOURT, 1983). Os estrógenos aumentam a atividade miometrial e as contrações uterinas durante o estro (SALTIEL; GUTIERREZ, 1987). A ação do estradiol pode ocorrer por meio do aumento do número de receptores de oxitocina e prostaglandinas no miométrio (BLANCHARD; VARNER, 1993). Em recente trabalho avaliando a expressão gênica de receptores hormonais no endométrio, Rink et al. (2018) encontraram expressão mínima de receptores de hormônios esteroides imediatamente após o parto e aumento considerável na expressão destes receptores, 7 dias após o parto, embora o processo de involução não estivesse completo.

Tratamentos farmacológicos têm sido testados com o intuito de otimizar a involução uterina e consequentemente aumentar a taxa de concepção. No entanto, estes tratamentos tem se mostrado pouco eficientes (LEMES et al., 2017b). De acordo com estes autores, uma redução do fluxo sanguíneo tem sido observada após a eliminação das membranas fetais em porcas e vacas. O melhor entendimento da irrigação do trato reprodutivo, utilizando a técnica de ultrassonografia *doppler*, além de permitir um melhor monitoramento clínico e tratamento das desordens uterinas, pode melhorar a compreensão do processo de involução uterina (LEMES et al., 2017b).

Considerando que a presença de fluido e a ocorrência de inflamação do endométrio são os principais determinantes de atrasos no processo de involução, Blanchard et al. (1989) avaliaram o efeito da realização de lavagens uterinas (aos 3 dias) em éguas após o parto e não encontraram diferenças sobre o diâmetro uterino e a presença de células inflamatórias. No entanto, nos primeiros dias após o parto, tem se observado uma redução das concentrações de progesterona e estradiol (GYGAX; GANJAM; KENNEY, 1979). Ocitocina endógena e a prostaglandina F2 α tem sido considerados os principais hormônios responsáveis pela liberação dos conteúdos uterinos durante o puerpério (VANDEPLASSCHE et al., 1983). Desta forma, Gündüz et al. (2008) avaliaram o efeito da aplicação de oxitocina e de um análogo de

prostaglandina F2 α (cloprostenol sódico) sobre o processo de involução uterino em éguas e não encontraram qualquer efeito sobre os diâmetros uterinos e o tempo até a primeira ovulação.

Arrot et al. (1994) avaliaram o efeito da aplicação, no dia do parto, de uma cápsula biodegradável contendo 100 mg de estradiol e também não observaram qualquer efeito sobre o processo de involução uterina. Além disso, a aplicação de progesterona (300 mg) e estradiol (20 mg) nas primeiras 24 horas após o parto, em éguas (n = 50) foi avaliada por Bruemmer et al. (2002), sem apresentar qualquer efeito sobre o diâmetro do endométrio.

Dada a baixa efetividade dos tratamentos farmacológicos em acelerar o processo de involução uterina, estratégias nutricionais que possam atuar sobre tal processo ganham relevância. Embora estudos envolvendo a interação entre nutrição e reprodução em éguas sejam limitados, Van Niekerk e Van Niekerk (1998) observaram que uma redução do aporte proteico pode resultar em aumento das perdas embrionárias, provavelmente por uma inadequada produção de progesterona à partir do corpo lúteo, o que, segundo tais autores, não tem sido observado com a redução do fornecimento de energia aos animais. Há de se destacar, no entanto, que hormônio esteroides (progesterona, estradiol e prostaglandinas) são sintetizados a partir do colesterol, oriundo dos ácidos graxos da dieta (KING et al., 2008).

4.1 DIGESTÃO E METABOLISMO DE LIPÍDEOS EM EQUINOS

A maioria das fontes lipídicas utilizadas na alimentação de equinos é rica em triacilgliceróis ou triglicerídeos (GEOR et al., 2013). Os triglicerídeos são compostos de uma estrutura orgânica contendo um glicerol ligado à três ácidos graxos. Os ácidos graxos, por sua vez, são formados por cadeias de hidrocarbonetos que possuem mais frequentemente de 2 a 28 carbonos. Em equinos, a digestão dos triglicerídeos inicia-se na boca, onde, além da ação

de lipases linguais, a atividade mecânica da mastigação promove a ruptura dos triglicerídeos e a aglomeração das gotículas lipídicas.

Após a deglutição, além da atividade mecânica promovida pelas contrações da região do antro (PHAN; TSO, 2001), lipases gástricas promovem a hidrólise dos compostos lipídicos, liberando os ácidos graxos (BERME, 2000; MORGADO; GALZERANO, 2006). No intestino delgado (duodeno), os sais biliares, secretados continuamente no intestino dos equinos, em função da ausência de vesícula biliar (GEOR et al., 2013), fazem a emulsificação dos ácidos graxos, enquanto que as lipases pancreáticas realizam a lipólise das micelas lipídicas. Com a interação das micelas lipídicas e as microvilosidades intestinais, ocorre a absorção dos ácidos graxos (BERME, 2000; MORGADO; GALZERANO, 2006), principalmente na porção distal do intestino delgado (íleo) (RIBEIRO et al., 2009). O posicionamento de lipases na proximidade da mucosa dos enterócitos permite uma rápida difusão dos ácidos graxos através da membrana celular, resultado em um aumento do nível plasmático de ácidos graxos.

Estes ácidos graxos absorvidos são reesterificados ainda nos enterócitos e transportados para os diferentes tecidos, na forma de quilomícrons, sendo utilizados como fonte de energia. No fígado, os ácidos graxos são associados com proteínas, formando as lipoproteínas. De acordo com Correa e Correa (1985), as lipoproteínas são constituídas de lipídeos (triglicérides e ésteres de colesterol), fosfolipídios e colesterol associado à proteínas, que podem ser classificados, de acordo com a densidade, em lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL); de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL). As lipoproteínas de muita baixa densidade são sintetizadas principalmente no fígado, e transportam os triacilglicerídeos até os tecidos, servindo de substrato para a síntese de lipoproteínas de baixa densidade que são responsáveis pelo transporte direto do colesterol, o que será enviado aos

tecidos e paredes vasculares (WATSON; BUMS; PACKARD, 1993; MASANOBU; HIDEITO, 2008).

As lipoproteínas transportam e armazenam o colesterol dos tecidos até os sais biliares (FRANK; SOJKA; LATOUR, 2002; GAZIANO; MANSON; RIDKER, 2007). Quando os animais apresentam um estado catabólico, determinado por redução dos níveis de insulina, os ácidos graxos do tecido adiposo sofrem lipólise e são liberados no plasma, na forma de ácidos graxos não esterificados (AGNE). Estes ácidos graxos se juntam à albumina plasmática e são transportados aos diferentes tecidos para a síntese de energia via beta-oxidação. Apesar das baixas concentrações plasmáticas, os AGNE's representam uma expressiva fonte energética (FRANK; SOJKA; LATOUR, 2002; GAZIANO; MANSON; RIDKER, 2007).

De acordo com Frape (2008), equinos digerem eficientemente dietas que contenham até 30% da energia digestível sob a forma de gordura. A adição de óleos na alimentação de equinos é uma prática relativamente comum. Além de aumentar a densidade energética e maximizar o consumo de energia, sem afetar o consumo alimentar, a inclusão de lipídeos é uma estratégia mais segura do que o aumento do teor de carboidratos da dieta (LAWRANCE, 1990; FRAPE, 2008).

As fontes lipídicas quando adicionadas à dieta reduzem a pulverulência, e promovem lubrificação, diminuindo o desgaste dos equipamentos utilizados no preparo de concentrados e atuando como ligante para a pel etização, além de aumentarem a densidade energética e potencialmente melhorarem a pelagem dos animais (POTTER et al., 1990). Cintra (2016) destaca que a adição de óleos à dieta de equinos reduz o consumo de grãos e favorece o consumo de volumosos, reduzindo os riscos da ocorrência de cólica e de laminite, além de reduzir a produção de calor no processo digestivo, o que pode ser vantajoso, especialmente para animais em estresse térmico.

A aceitabilidade da fonte lipídica parece estar diretamente associada ao sucesso da suplementação. Ribeiro et al. (2009) estudaram o efeito da adição de óleo de soja, sebo suíno e vaselina líquida (300 g ou 5% da dieta) na dieta de potros (n = 4, com delineamento em quadrado Latino) sobre a aceitabilidade e a digestibilidade aparente total. Embora a vaselina tenha reduzido a digestibilidade aparente dos nutrientes, o óleo de soja e o sebo não afetaram a aceitabilidade e a digestibilidade aparente total dos nutrientes, além de aumentarem a digestibilidade aparente do extrato etéreo, em relação ao tratamento controle. Gobesso et al. (2009) avaliaram a adição de óleo de soja em dietas de potros (n = 4, delineamento em quadrado Latino) contendo feno de alfafa processado em diferentes formas. A adição de óleo aumentou a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo e fibra em detergente neutro.

Estudando o efeito da adição de concentrações crescentes (5 e 15% do concentrado) de óleo de soja na dieta de cavalos (n = 4, em quadrado Latino) submetidos à exercício físico aeróbico (40 e 60 minutos/dia), Oliveira et al. (2013) encontraram aumento da concentração de lactato e redução da concentração dos triglicerídeos séricos. De acordo com os autores, os resultados indicam a importância de se suplementar com lipídios apenas animais de elevada exigência energética, evitando as consequências negativas do ganho de peso excessivo.

Na nutrição de equinos o óleo de soja tem sido a fonte mais utilizada. Recentemente, o óleo de linhaça passou a ser usado como fonte de ácido alfa-linolênico (ω -3). Gobesso et al. (2011) incluíram diferentes óleos (soja, linhaça, canola e palma) na dieta de potros (n = 4, quadrado Latino 4×4) e avaliaram a digestibilidade aparente no trato total e o perfil lipídico plasmático. Nenhuma diferença foi observada sobre as variáveis analisadas e os autores concluíram que as diferentes fontes (ricas em ácido palmítico ou ácidos graxos ω -3 e ω -6) podem ser utilizadas como fontes energéticas na dieta de equinos. Por outro lado, com a evolução das técnicas de produção e isolamento, a utilização de microalgas ricas em ácidos

graxos poli-insaturados tem se tornado uma possibilidade (JACOBS et al., 2018). Desta forma, a utilização de suplementos lipídicos vem crescendo nos últimos anos, sendo desenvolvidos para melhorar e suprir as diferentes necessidades e carências de cada animal, principalmente com idade avançada. Ademais, os efeitos nutracêuticos, associados aos efeitos dos ácidos graxos específicos sobre o metabolismo animal ganham destaque.

4.2 EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE FONTES DE ÁCIDO GRAXOS ÔMEGA 3 NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

O interesse acerca dos efeitos da suplementação com ácidos graxos poli-insaturados tem crescido atualmente, em função do potencial efeito dos ácidos graxos da família ω -3, em especial, os ácidos linolênico, eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), de modificar o processo inflamatório (ROS JONES et al., 2014). Os ácidos graxos poli-insaturados da série ω -3 são assim chamados em função da localização das instaurações da cadeia carbônica. São encontrados principalmente em óleos de peixes, óleos vegetais, sementes de linhaça, nozes e algas.

Quando ingerido, o ácido alfa-linolênico passa por uma série de reações de dessaturação e alongação, sendo convertido em EPA e DHA (Figura 1). Como EPA e DHA são biologicamente mais ativos, e a eficiência de conversão do ácido alfa-linolênico nestes é relativamente baixa, o potencial da adição dietética de EPA ou DHA é maior que a o potencial da adição do seu precursor (ácido linolênico). De acordo com King et al. (2008), no terceiro dia após o início da suplementação (10 até 40 g/dia), há um aumento significativo da concentração de EPA e DHA no organismo, sendo que no sétimo dia atinge-se o pico, que é mantido em suplementações prolongadas. No entanto, os ácidos graxos poli-insaturados

possuem vida curta, sendo que após a interrupção da suplementação, há uma redução de mais de 75% das concentrações destes no organismo após o nono dia.

Figura 1. Metabolismo de ácidos graxos ômega 3 e ômega 6. Adaptado de Calder (2001)

Jacobs et al. (2018) avaliaram o efeito da adição de microalgas ricas em DHA (0,06 g/kg/dia) na dieta de éguas (n = 13) sobre a perfil de ácidos graxos dos fluidos uterinos e a expressão gênica do conceito, em quatro ciclos estrais subsequentes. Os autores observaram que a suplementação com microalgas altera o ambiente uterino e modifica a expressão gênica nos conceitos, antes mesmo da implantação. O DHA participa na formação das membranas,

alterando sua permeabilidade e flexibilidade, e no funcionamento do tecido nervoso e visual, onde pode chegar a constituir em torno de 40% dos fosfolipídios destes tecidos (WIDDOWSON; DICKERSON, 1981) e também apresenta importantes funções reguladoras no sistema imunológico (NEURINGER et al., 1988).

O EPA é um importante precursor de outra série de eicosanoides. Além disso, está envolvido em importantes atividades reguladoras da homeostase cardiovascular (LEVINSON et al., 1990). Estudando o efeito da suplementação com óleo de peixe (rico em ω -3) em cavalos em exercício, O'Connor et al. (2004) observaram uma redução da concentração sérica de colesterol, além de redução da frequência cardíaca e da concentração de ácidos graxos livre durante o exercício. Este achado sugere que assim como documentado em humanos, a suplementação com ácidos graxos ω -3 pode ter efeitos cardioprotetivos. Ademais, O'Connor et al. (2004) também encontraram aumento da relação entre glicose e insulina, o que foi relacionado por estes autores à redução da sensibilidade periférica à insulina.

Os ácidos graxos poli-insaturados são utilizados não apenas como fonte energética e componente estrutural do organismo, mas também como importantes mediadores da expressão gênica (CLARKE, 2001). De acordo com Grimm et al. (2002) os ácidos graxos ω -3 inibem a expressão gênica de genes envolvidos com a lipogênese e influenciam positivamente a transcrição de genes envolvidos com a oxidação lipídica e termogênese. Desta forma, esta suplementação poderia reduzir a susceptibilidade dos animais ao excessivo ganho de peso.

Além disso, os derivados lipídicos têm efeitos variáveis sobre o processo inflamatório. O perfil de ácidos graxos das células inflamatórias e do sistema imune é sensível à mudanças na relação entre ω -3 e ω -6, o que justifica a relação entre o consumo de ácidos graxos poli-insaturados e os efeitos sobre o sistema imune (CALDER, 2001). Os ácidos graxos ω -3 atuam como potentes moduladores do processo inflamatório, sendo EPA e DHA mais biologicamente ativos do que o ácido linolênico (CALDER, 2001), como anteriormente

descrito. Um aumento da concentração de destes ácidos promove uma substituição do ácido aracdônico presente nas membranas celulares e consequentemente reduz a produção de mediadores derivados deste (prostaglandinas proinflamatórias - E₂, leucotrienos e compostos relacionados). Os derivados do ácido aracdônico são potentes sinalizadores moleculares relacionados à uma variedade de funções celulares tanto em condições normais (fisiológicas), quanto em condições patológicas (inflamação). Como parte das funções inflamatórias, prostaglandina E₂ estimula a vasodilatação (causando edema e rubor), aumentando a permeabilidade e hiperalgesia, com aumento da sensibilidade à dor (KIRKER-HEAD et al., 2000).

Hodge et al. (2017) estudaram os efeitos da suplementação com óleo de peixe (ω -3) e óleo de soja (ω -6) na dieta de éguas (n = 18) de 28 dias antes da data prevista de parto até 84 dias pós parto. A suplementação lipídica aumentou as concentrações de ácido eicosapentaenoico no soro e no leite das águas, assim como no soro dos potros, sem afetar o teor de imunoglobulina G no leite e no soro dos potros. O consumo de dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados resulta em aumento da proporção de EPA e DHA nos fosfolipídios das membranas das células inflamatórias, o que acontece em detrimento da concentração de ácido aracdônico (CALDER, 2001). Como EPA e DHA são substratos para outras enzimas, que não a cicloxigenase, ativa na degradação do ácido aracdônico; prostaglandinas e leucotrienos estruturalmente diferentes e menos potentes em estimular o processo inflamatório são produzidos (CALDER, 2001). Desta forma, os ácidos graxos ω -3 tem um efeito anti-inflamatório, podendo melhorar o bem estar e especialmente a saúde dos animais, quando submetidos à suplementação prolongada.

4.3 EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE FONTES DE AG ÔMEGA 3 SOBRE A REPRODUÇÃO

Na fisiologia reprodutiva, os ácidos graxos apresentam importantes funções. O balanço energético positivo gerado pela adição de energia à dieta influencia positivamente a função reprodutiva dos animais, estando esses ácidos graxos relacionados ao aumento na produção de esteroides e eicosanoides, alterando o funcionamento dos ovários e do útero (WANG et al., 2005). Algumas pesquisas mostram que essas dietas podem aumentar o número de folículos ovarianos e o tamanho dos mesmos, gerando assim um corpo lúteo maior (LUCY et al., 1993; MATTOS; STAPLES; THATCHER, 2000). Outro ponto importante do uso desses ácidos graxos nas dietas de fêmeas no pré-parto é que estes podem estimular a produção de hormônios esteróides, como o estrógeno, progesterona, e as prostaglandinas, sendo que estes desempenham papel importante na involução uterina (CARVALHO et al., 2001).

A suplementação com ácidos graxos ω -3 pode ainda inibir a ação da enzima Cicloxigenase no tecido endometrial, reduzindo a secreção de prostaglandina $F_{2\alpha}$, prevenindo a morte embrionária e diminuindo a sensibilidade do corpo lúteo (STAPLES; BURKE; THATCHER, 1998). Os ácidos graxos são utilizados como substrato para a síntese de colesterol, como previamente apresentado. Dependendo do tipo de ácido graxo (ω -3 ou ω -6) são sintetizados diferentes tipos de prostaglandinas. Ácidos graxos ω -6 são precursores de prostaglandinas das séries 1 e 2 via ácido araquidônico, enquanto que ácidos graxos ω -3 são precursor de prostaglandinas da série 3 via EPA. Estas prostaglandinas são menos bioativas do que as prostaglandinas das séries 1 e 2 (AMBROSE; KASTELIC, 2003; GREGORY et al., 2009). Desta forma, observa-se redução das perdas embrionárias (MATTOS; STAPLES; THATCHER, 2000). A suplementação alimentar com óleo de peixe (EPA e DHA) diminui

ação de delta desaturasse 6, 5 e 9, diminuindo a dessaturação de ácido linoleico e linolênico nos microssomas hepáticos e a concentração de ácido araquidônico nos fosfolipídios das células hepáticas (GARG et al., 1988; CHRISTIANSEN et al., 1991).

Em um recente estudo, Drews et al. (2018) estudaram o efeito de diferentes fases do ciclo estral sobre o perfil de ácidos graxos do sangue, do oviduto e do fluido uterino de éguas (n = 10). Embora não tenham encontrado nenhum efeito da fase do ciclo estral sobre a composição dos ácidos graxos, o perfil destes nos locais avaliados foi consideravelmente diferente: os ácidos graxos mais importantes no sangue foram linoleico, esteárico, oleico e palmítico; já nos fluidos reprodutivos, foram encontradas elevadas concentrações de araquidônico, eicosapentaenóico e linoleico. Ainda de acordo com estes autores, a presença de elevadas concentrações de ácidos graxos ω -3 nos fluidos reprodutivos é importante graças aos seus efeitos anti-inflamatórios: diretos, reduzindo a adesão de moléculas e a quimiotaxia de células imunes e; indiretos, através da síntese de moléculas anti-inflamatórias.

A adição de ácido linolênico (ω -3) na dieta de éguas em reprodução promove uma redução direta na secreção de $\text{PGF2}\alpha$, em razão da inibição da ação da prostaglandina H sintase ou, indiretamente, por meio dos produtos da sua dessaturação à EPA e DHA. Além disso, os ácidos graxos ω -3 podem promover insensibilização do corpo lúteo à $\text{PGF2}\alpha$, o que também pode melhorar a taxa de prenhes de fêmeas na fase inicial da gestação (GREGORY et al., 2009).

Trujillo e Broughton (1995) avaliaram o efeito da adição de ácidos graxos ω -3 na dieta de ratos e observaram aumento nas taxas de ovulação. De acordo com estes autores, o ácido linoleico (ω -6) após a absorção é utilizado para a síntese de eicosanóides, via enzima cicloxigenase, enquanto que o ácido linolênico (ω -3) dá origem à prostaglandinas da série 3, as quais são menos ativas biologicamente (GOODMAN; GILMAN, 1985). Como a conversão destes ácidos graxos é dependente da ação da enzima cicloxigenase, com o aumento do

suplemento de ω -3, as concentrações de prostaglandinas da série 2 (PGE₂ and PGF_{2 α}) são reduzidas.

Em éguas senis as concentrações de FSH, LH e P4 são menores quando comparado à éguas jovens. Resende (2014), demonstraram que a suplementação com arginina aumenta as concentrações desses hormônios em éguas senis. O ômega 3 também atua melhorando o equilíbrio hormonal, além de atuar como anti-inflamatório natural em inflamações crônicas, antioxidante e imunoestimulante (LINDINGER et al., 2017). Em equinos pode ser observado uma melhora de 20% para 51% as taxas de recuperação de embriões utilizando ω -3 (HEMBROOKE, 2008). Em um estudo recente demonstraram que a utilização de ω -3 em novilhas pré púberes auxilia no desencadeamento da ciclicidade (MOREIRA et al., 2016). Utilizando ratos como modelo experimental, Sarsmaz et al. (2016) evidenciaram que o ω -3 ajuda a preparar o endométrio, favorecendo um ambiente mais adequado para implantação do embrião.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LOCAIS

O experimento foi conduzido no Haras Vila Colonial, no município de Analândia/SP. As análises bromatológicas das amostras de alimentos foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga/SP.

5.2 ANIMAIS, TRATAMENTOS E MANEJO NUTRICIONAL

Foram utilizadas 18 éguas, sem raça definida, com peso corporal de $410 \pm 39,5$ kg (média $\pm$ desvio padrão), $7,83 \pm 2,01$ anos de idade e escore de condição corporal $5,39 \pm 0,61$, escala de 1 a 9 (HENNEKE et al., 1983), no terço final da gestação. Estes animais foram devidamente vacinados, vermifugados e pulverizados contra ectoparasitas. As éguas foram aleatoriamente alocadas em 2 grupos experimentais: 1) CONT: controle, sem a oferta suplementar de microalga; e 2) ALG: com a oferta de 0,06 g de microalga rica em ácido dosahexaenóico (All-G Rich[®], Alltech, Nicholasville, KY) por kg de peso corporal, adicionados ao concentrado oferecido pela manhã. A quantidade ofertada foi a mesma para todos os animais tratados, sendo esta obtida a partir do peso médio dos animais. Os animais foram alocados no estudo, 90 dias antes da data prevista de parto receberam os tratamentos até o sétimo dia após a primeira ovulação (JACOBS et al., 2017). De acordo com Marques et al. (dados não publicados): cada kg do produto possui: 972 g de matéria orgânica, 608 g de extrato etéreo, 151 g de proteína bruta, 171 g de carboidratos não fibrosos, 41,6 g de fibra em detergente neutro e 4,10 g de fibra em detergente ácido.

Todos os animais tiveram acesso à pastagem de *Cynodon spp.* cv. Tifton 85 e receberam água da mesma fonte. Foram utilizados dois piquetes com a mesma gramínea, que receberam os animais experimentais em semanas alternadas. O concentrado utilizado foi o B-150 (Royal Horse, Campinas, Brasil), sendo oferecido 1 kg de matéria natural para cada animal por dia, divididos em dois tratos de igual volume, no período da manhã (8:00 horas) e da tarde (15:00 horas). Após o parto essa quantidade foi aumentada para 2 kg. Para a individualização dos animais durante o fornecimento dos tratamentos, foi utilizada uma unidade de serviço com 90 cm de largura e 220 cm de comprimento para cada animal (Figura 2).

Figura 2 - Oferta dos suplementos (tratamentos) aos animais experimentais.

Para a caracterização da dieta basal dos animais, amostras do concentrado ofertado, assim como da pastagem disponível foram coletados semanalmente e congeladas para posteriores análises químicas. As amostras de pastagem foram pré secas à 60 °C por 72 horas em estufa de ventilação forçada e processadas em moinho de facas (MA340, Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneira de porosidade de 1 mm. As amostras de alimentos, foram analisadas quanto ao teor de MS (100 °C por 24 h; AOAC 2000), as cinzas foram determinadas por combustão à 600 °C por 3 horas; proteína bruta (PB, $N \times 6,25$; método de Kjeldahl 984.13; AOAC 2000), extrato etéreo (EE; método 920.39; AOAC 2000), fibra em detergente ácido (FDA) (método 973.18; AOAC 2000), cálcio (método 935.13; AOAC, 2000) e fósforo (método 964.06. AOAC, 2000). A fibra em detergente neutro (FDN) foi analisada usando α -amilase (UNDERSANDER; MERTENS; THEIX, 1992) e sem a adição de sulfito de sódio (Analisador de fibra TE-149, Tecnal Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP, Brasil). Na Tabela 1 são apresentadas as composições químicas do concentrado e da forragem utilizados no estudo.

Tabela 1 - Composição bromatológica do concentrado e da pastagem utilizados no estudo

Nutrientes (g/kg MS)	Concentrado ¹	Pastagem
Matéria seca (g/kg matéria natural)	887	351
Fibra em detergente neutro	296	731
Fibra em detergente ácido	165	384
Proteína bruta	194	97,7
Extrato etéreo	48,8	16,2
Matéria mineral	116	59,1
Cálcio	20,5	4,3
Fósforo	10,5	2,8

¹De acordo com as informações do fabricante, cada kg de MS possui: 3,50 g de sódio, 7,50 g de lisina e 2,00 g de metionina.

5.3 EXAMES DE PALPAÇÃO E ULTRASSONOGRAFIA TRANSRETAL

Avaliações por palpação e ultrassonografia transretal foram realizadas por apenas um profissional, aos 3, 7, 11 e 15 dias após o parto e nos dias 4 e 7 após a ovulação. Foram realizadas as avaliações ultrassonográficas via transretal do útero e dos ovários conforme descrito por Lemes et al. (2017b). Para isso, foi usado um equipamento ultrassonográfico duplex (MyLabDelta, Esaote, Itália) com um transdutor linear multifrequencial (3,5-10 MHz) em modo B e Doppler. Nesses exames foram avaliados em ambos os cornos uterinos: diâmetro uterino, presença e quantidade de fluido intrauterino (FIU), ecogenicidade uterina, dinâmica folicular. A perfusão sanguínea (endométrio e do mesométrio) foi avaliada apenas no corno gestante.

Nos casos em que houveram FIU, a mensuração também foi feita medindo-se os diâmetros. A ecogenicidade uterina foi avaliada seguindo-se uma escala que varia de 1 a 3, na qual 1 será hipoecóica e 3 hiperecóica (LEMES et al., 2017b). A perfusão sanguínea no endométrio e mesométrio uterino foi avaliada utilizando-se o ultrassom no modo Doppler e

seguindo um escore que vai de 1 a 4, conforme descrito por Lemes et al. (2017b). Ademais, o folículo ovariano de maior diâmetro foi considerado dominante. Os dados de todas as avaliações realizadas após o parto (D3, D7, D11 e D15) foram considerados nas análises estatísticas. A partir do momento em que uma égua possuísse um folículo dominante de 35 mm, as avaliações do ovário do animal passavam a ser realizadas diariamente, a fim de que se identificar o dia da ovulação.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando o PROC MIXED (versão 9.3, SAS Instituto Inc., Cary, NC), de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \omega_{i:j} + D_k + T \times D_{ik} + e_{ijk}$$

Com $\omega_{i:j} \approx N(0, \sigma_\omega^2)$ e $e_{ijk} \approx MVN(0, \sigma_e^2)$; em que: Y_{ijk} é o valor observado da variável dependente; μ é a média geral; T_i é o efeito fixo de tratamento ($i = 1$ e 2); $\omega_{i:j}$ é o erro associado ao efeito de tratamento (efeito aleatório do animal dentro do tratamento; $j = 1$ à 18); D_k é o efeito fixo do dia de avaliação ($k = 1$ à 4 para as avaliações pós parto e 1 à 2 para avaliações após a ovulação); $T \times D_{ik}$ é o efeito fixo de interação entre tempo e dia de avaliação; $T \times D_{ik}$ é o erro experimental; N indica distribuição normal; σ_ω^2 é a variância associada ao efeito de animal; MVN indica análise multivariada com distribuição normal; e σ_e^2 é a variância residual. Para todas as variáveis foi utilizada a matriz de covariância autorregressiva (AR1). Quando houve interação entre tratamento e dia de avaliação, esta foi desmembrada utilizando a função SLICE. Quando houve efeito de dia de avaliação para as variáveis avaliadas após o parto, o efeito foi estudado utilizando o teste de diferença mínima significativa de Fisher

(LDS). Para as avaliações de escore de condição corporal e intervalo parto-ovulação, foi utilizado o modelo a seguir:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Com $e_{i:j} \approx N(0, \sigma_e^2)$, em que: Y_{ij} é o valor observado da variável dependente; μ é a média geral; T_i é o efeito fixo de tratamento ($i = 1$ e 2); $e_{i:j}$ é o erro experimental ($j = 1$ à 18); N indica distribuição normal; e σ_e^2 é a variância residual. De acordo com as recomendações do *Journal of Animal Science* e do *Animal Feed Science and Technology*, valores de probabilidade menores que 5% foram considerados como efeito e valores entre 5 e 10% foram considerados como tendência, sendo o valor exato apresentado.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Diâmetros e perfusão sanguínea do endométrio e mesométrio

Independentemente do tempo de avaliação, o fornecimento de ALG não afetou ($P \geq 0,263$; Tabela 1 e Figuras 3 e 4) o diâmetro do endométrio do corno gestante e do corno não gestante. Na literatura, apesar da escassez de informações acerca do efeito dos fatores dietéticos sobre tal variável, a ausência de efeitos de tratamentos hormonais exógenos sobre o diâmetro do endométrio tem sido observado quando da administração de progesterona (BRUEMMER, BRADY, BLANCHARD, 2002; GÜNDÜZ et al., 2008) e estradiol (ARROT et al., 1994; BRUEMMER, BRADY, BLANCHARD, 2002; GÜNDÜZ et al., 2008).

Tabela 2 - Diâmetro do endométrio e do mesométrio de éguas alimentadas com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico

Item	Tratamentos ¹		EPM ²	Probabilidades ³		
	CONT	ALG		Trat.	Tempo	INT
Diâmetro do endométrio, <i>mm</i>						
Corno gestante						
Pós parto	31,1	30,2	0,72	0,543	<0,001	0,798
Pós ovulação	25,5	26,4	0,69	0,535	0,045	0,726
Corno não gestante						
Pós parto	28,1	27,9	0,64	0,848	<0,001	0,910
Pós ovulação	23,2	24,5	0,56	0,265	0,191	0,508
Diâmetro do mesométrio, <i>mm</i>						
Corno gestante						
Pós parto	34,6	31,4	0,74	0,042	<0,001	0,268
Pós ovulação	27,6	28,6	0,67	0,460	0,019	0,032
Corno não gestante						
Pós parto	32,3	29,8	0,71	0,093	<0,001	0,553
Pós ovulação	27,8	26,7	0,58	0,345	0,041	0,965

¹Tratamentos: CONT: controle, sem o fornecimento de microalgas; ALG: microalga, com a suplementação de xx g/animal/dia de microalga rica em ácido dosahexaenóico (All-G Rich®, Alltech, Nicholasville, KY); ²Erro padrão da média; ³Probabilidades: Trat.: efeito de tratamento (CONT vs. ALG); Efeito de tempo de avaliação (D3, D7, D11 e D15 para pós parto e D41 e D71 para pós ovulação); INT: efeito de interação entre tratamento e tempo de avaliação.

Figura 3 - Diâmetro do endométrio do corno gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico. Média $\pm$ EPM. ^{a-c}Teste de médias diferença mínima significativa de Fisher (LDS) à 5% de probabilidade

Por outro lado, o diâmetro do endométrio do corno gestante foi menor ($P \leq 0,05$) nas avaliações realizadas aos 11 e 15 dias pós parto, em relação àquelas realizadas aos 3 e 7 dias após o parto. Avaliando o diâmetro do corno uterino de éguas no período pós parto, Lemes et al. (2017b) observaram redução significativa do diâmetro até o sétimo dia, como observado no presente estudo, em que o diâmetro foi maior aos 3 dias e reduziu na avaliação com 7 dias pós parto. Ainda de acordo com estes autores, após 7 dias, o ritmo de redução do diâmetro do endométrio cai drasticamente, resultando em ausência de diferença entre as avaliações realizadas aos 11 e 15 dias pós parto, no presente estudo. De acordo com Griffin e Ginther (1991), este ritmo acelerado de redução do diâmetro uterino permanece até o décimo dia pós parto. Como no presente estudo, o diâmetro uterino não foi avaliado diariamente, a ausência de diferença entre as observações entre os dias 11 e 15, para a avaliação do corno gestante reforça que as diferenças foram menores a partir do décimo primeiro dia, assim como destacado pelos estudos supracitados.

Figura 4 - Diâmetro do endométrio do corno não gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico. Média $\pm$ EPM. ^{a-d}Teste de médias diferença mínima significativa de Fisher (LDS) à 5% de probabilidade

O fornecimento de microalga aos animais resultou, no período pós parto, em redução do diâmetro do mesométrio do corno gestante ($P = 0,042$; Figura 3) e tendência de redução no corno não gestante ($P = 0,093$; Figura 5). De acordo com Ferreira et al. (2015), o mesométrio é uma importante região de irrigação arterial do útero e a avaliação do fluxo sanguíneo desta região é uma forma eficiente de avaliar o fluxo sanguíneo uterino. Uma reduzida perfusão vascular uterina poderia interferir na implantação e dinâmica embrionária, contribuindo para infertilidade, perdas embrionárias e redução do crescimento do conceito (FERREIRA et al., 2008; 2015). Desta forma, apesar da ausência de efeito da suplementação lipídica sobre a perfusão sanguínea, a redução do diâmetro do mesométrio uterino pode ser atribuída à redução do edema pós parto nesta região, nos animais tratados com ALG, em relação aos animais do grupo controle, uma vez que os efeitos anti-inflamatórios dos ácidos graxos ω -3 tem sido largamente reportados (ROSS-JONES et al., 2014; HESS; ROSS-JONES, 2014).

Ademais, assim como para o diâmetro do endométrio, com o passar dos dias pós-parto, houve uma redução ($P \leq 0,05$; Figura 5) no diâmetro do mesométrio até o D11, sendo

que o diâmetro do mesométrio dos animais avaliado no D15 não diferiu ($P > 0,05$) daquele avaliado no D11. Os resultados foram similares aos observados para o diâmetro do endométrio. No entanto, para o diâmetro do mesométrio do corno não gestante (Figura 6), as avaliações realizadas aos 7 e 11 dias pós-parto não diferiram entre si ($P > 0,05$) e foram menores ($P \leq 0,05$) do que às realizadas em D3 e maiores ($P \leq 0,05$) do que as realizadas em D15.

Figura 5 - Diâmetro do mesométrio do corno gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosaheptaenóico. †: Tendência ($P = 0,084$) para efeito de tratamento aos 7 dias pós ovulação. Média $\pm$ EPM. ^{a-c}Teste de médias diferença mínima significativa de Fisher (LDS) à 5% de probabilidade

Nas avaliações realizadas após a ovulações, foi observada uma redução ($P \leq 0,045$) aos 7 dias, em relação à avaliação realizada aos 4 dias, no diâmetro do endométrio uterino do corno gestante, e no diâmetro do mesométrio do corno não gestante, independentemente ($P \geq 0,726$) do grupo experimental que pertencesse o animal. O estradiol (E2) apresenta um efeito conhecido vasodilatador, estando relacionado à formação do edema uterino, proliferação e diferenciação do endométrio uterino em éguas (GINTHER, 1992). O pico de concentração deste hormônio, durante o ciclo estral da água ocorre aproximadamente dois

dias antes da ovulação, o que é sucedido por subsequente redução até chegar em níveis basais após o término do estro (GINTHER, 1992). A redução dos diâmetros observados na avaliação realizada aos sete dias, em relação àquela realizada quatro dias após a ovulação indica o efeito residual do estradiol sobre a hemodinâmica uterina, quatro dias após a ovulação, embora nenhum efeito do dia de avaliação tenha sido observado sobre a perfusão sanguínea.

Figura 6 - Diâmetro do mesométrio do corno não gestante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico. Média ± EPM. ^{a-c}Teste de médias diferença mínima significativa de Fisher (LDS) à 5% de probabilidade

Houve ainda interação ($P = 0,032$; Figura 5) entre os efeitos de tratamento e de dia de avaliação para o diâmetro do mesométrio do corno gestante. Apenas na avaliação realizada sete dias após a ovulação, o diâmetro do mesométrio do corno gestante tendeu ($P = 0,084$) a ser maior nos animais tratados com ALG do que nos animais do grupo CONT. Este foi o único efeito de interação entre tempo e tratamento observado no presente estudo e é interessante destacar que a tendência de aumento do diâmetro do endométrio observado aos sete dias após a ovulação contradiz com o a redução do mesmo diâmetro nos animais

alimentados com ALG, nas avaliações realizadas no período pós parto. Como apresentado por Palmer e Driancourt (1983), a ocorrência de anestro após o primeiro cio é relativamente comum em éguas e esta pode ser associada ao efeito de interação observado. Embora no período pós-parto, a redução tenha sido associado à uma inibição do edema, o aumento do diâmetro do mesometrio após a primeira ovulação parece associado à menor predisposição destes animais a apresentar anestro. Uma maior susceptibilidade dos animais não suplementados com ALG à resistência periférica à insulina (O'CONNOR et al., 2004; HEES et al., 2013; HESS; ROSS-JONES, 2014) podem justificar esta menor susceptibilidade.

A suplementação com ALG não afetou ($P \geq 0,185$; Tabela 3) a perfusão vascular do endométrio e do mesométrio. O dia de avaliação também não afetou ($P \geq 0,164$) as avaliações de perfusão. De acordo com Bollwein et al. (2002), no início do diestro, a irrigação uterina em éguas é baixa e o aumento da perfusão tem sido observado em éguas gestantes (FERREIRA et al., 2010), o que coincidentemente ocorre na mesma fase do ciclo estral (D5 do diestro) em que o embrião chega ao útero. Canesin (2013) avaliou a perfusão vascular do corno uterino de éguas não gestantes e observou que a localização do corpo lúteo e do folículo pré-ovulatório não afetam tais variáveis. Ainda de acordo com este autor, a avaliação da perfusão sanguínea durante o diestro é importante ferramenta para orientar o manejo reprodutivo, ao passo que, no estro, a técnica ainda carece de padronização. Como no presente estudo, os animais foram avaliados ao longo de diferentes fases do ciclo, no período pós parto, era de se esperar uma elevada variabilidade das medidas. Ademais, outra importante fonte de variação que é a concepção, não chegou a ser avaliada, uma vez que os animais não foram inseminados. Desta forma, nenhuma diferença na perfusão sanguínea foi observada, nem mesmo entre os diferentes dias de avaliação.

6.2 Presença de fluido intrauterino;

A suplementação com ALG não afetou a presença de fluido intrauterino ($P \geq 0,392$). Como esperado, a presença de fluido caiu nas avaliações realizadas aos 7 e 11 dias pós parto, em relação à primeira avaliação realizada (D3) ($P \leq 0,05$; Figura 5). Ademais, no décimo quinto dia pós parto, nenhum animal apresentou fluido intrauterino detectável. De maneira similar, a presença de fluido uterino em éguas tem sido reportada até o nono (GÜNDÜZ; KASICSI; KAYA, 2008; LEMES et al., 2017b) décimo (BRUEMMER; BRADY; BLANCHARD, 2002), décimo quinto (MCKINNON et al., 1988) e o décimo sexto (GRIFFIN; GINTHER, 1991) após o parto.

Tabela 3 - Vascularização do endométrio e do mesométrio, presença de fluido e ecogenicidade uterina e diâmetro do folículo dominante de éguas alimentadas com microalgas ricas em ácido docosahexaenóico

Item	Tratamentos ¹		EPM ²	Probabilidades ³		
	CONT	ALG		Trat.	Tempo	INT
Vascularização do endométrio, <i>score</i> (1-4)						
Pós parto	2,19	2,33	0,133	0,625	0,164	0,243
Pós ovulação	2,17	2,22	0,132	0,835	0,768	0,153
Vascularização do mesométrio, <i>score</i> (1-4)						
Pós parto	2,17	2,63	0,170	0,185	0,447	0,993
Pós ovulação	2,28	2,33	0,161	0,865	0,539	0,539
Fluido, <i>mm</i>	2,25	1,33	0,523	0,392	0,004	0,566
Ecogenicidade, <i>score</i> (1-3)						
Pós parto	2,25	2,69	0,069	0,004	0,049	0,332
Pós ovulação	2,67	2,78	0,074	0,462	0,501	0,502
Diâmetro do folículo						
dominante, <i>mm</i>	35,5	37,0	1,67	0,657	<0,001	0,523
Escore de condição	5,78	5,89	0,150	0,715	-	-

corporal

Intervalo parto-

ovulação, dias	13,0	12,0	0,87	0,573	-	-
----------------	------	------	------	-------	---	---

¹Tratamentos: CONT: controle, sem o fornecimento de microalgas; ALG: microalga, com a suplementação de xx g/animal/dia de microalga rica em ácido dosahexaenóico (All-G Rich®, Alltech, Nicholasville, KY); ²Erro padrão da média; ³Probabilidades: Trat.: efeito de tratamento (CONT vs. ALG); Efeito de tempo de avaliação (D3, D7, D11 e D15 para pós parto e D41 e D71 para pós ovulação); INT: efeito de interação entre tratamento e tempo de avaliação.

Figura 7 - Fluido uterino de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico. Média ± EPM. ^{a-b}Teste de médias diferença mínima significativa de Fisher (LDS) à 5% de probabilidade

6.3 Ecogenicidade;

A suplementação com ALG aumentou ($P = 0,004$; Figura 8) o escore de ecogenicidade uterina das éguas, nas avaliações realizadas após o parto. De acordo com Alonso (2008) o aumento do índice de ecogenicidade está relacionado à redução do tônus uterino e animais com menor índice de ecogenicidade, no momento da transferência de embriões apresentam menores taxas de prenhes. Ademais, a ecogenicidade foi maior ($P \leq 0,05$) nas avaliações realizadas 7 dias após o parto do que nas avaliações realizadas 3 dias pós

parto. O aumento da ecotextura uterina tem sido associado à ocorrência de edema, em decorrência do estro (GINTHER, 1992). Como em éguas o primeiro estro ocorre entre 6 e 9 dias após o parto (CALDAS et al., 1994; GÜNDÜZ et al., 2008), o aumento da ecogenicidade aos 7 dias parece um achado fisiológico.

Figura 8 - Ecogenicidade uterina de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico. Média ± EPM. ^{a-b}Teste de médias diferença mínima significativa de Fisher (LDS) à 5% de probabilidade

Os tratamentos dietéticos não afetaram ($P \geq 0,657$, Figura 9) o diâmetro do folículo dominante das éguas, independentemente do tempo de avaliação. Como previamente apresentado, a redução da resistência periférica à insulina, associado à suplementação com ω -3 (O'CONNOR et al., 2004; HEES et al., 2013) poderia melhorar a entrada de glicose na célula e favorecer o desenvolvimento dos folículos. No entanto, nenhuma diferença foi observada sobre no diâmetro do dominante. Como não houve diferença no intervalo entre o parto e a primeira ovulação, os diferentes grupos apresentavam-se em fases similares do ciclo.

Ademais, como a ovulação ocorreu em média no décimo segundo dia, apenas as avaliações realizadas aos 3, 7 e 11 dias foram consideradas nesta avaliação.

6.4 Escore de condição corporal;

A adição de ALG não afetou o escore de condição corporal dos animais ($P = 0,715$). Os resultados observados sugerem que apesar do aumento da densidade energética da dieta, o consumo de energia não foi influenciado, provavelmente por que os animais reduziram o consumo de pastagem. Vale destacar que a quantidade de energia fornecida pela adição de uma quantidade pequena de suplemento (24,6 g de MS ou 15,0 g de extrato etéreo por dia) pode ser insuficiente para causar efeitos significativos sobre o metabolismo energético. Hees et al. (2013), estudando o efeito da suplementação com ω -3 (38 g de ácidos graxos poli-insaturados por animal/dia) sobre o perfil metabólico de éguas não prenhas ($n = 21$) também não encontraram nenhum efeito sobre o escore de condição corporal.

Figura 9 - Diâmetro do folículo dominante de éguas alimentadas com algas ricas em ácido docosahexaenóico. Média $\pm$ EPM. ^{a-c}Teste de médias diferença mínima significativa de Fisher (LDS) à 5% de probabilidade

6.5 Intervalo entre o parto e a primeira ovulação.

A suplementação com ω -3 não afetou ($P = 0,573$) o intervalo entre o parto e a primeira ovulação pós parto. Canibal et al. (2008), estudando a suplementação dietética com ácidos graxos poli-insaturados (óleo de arroz) também não encontraram qualquer efeito sobre a manifestação de estro e o diâmetro folicular de Pôneis. Este resultado é condizente com a ausência de efeito de ALG sobre escore de condição corporal e os diâmetros endometriais e do folículo ovulatório, observadas no presente estudo. Conforme observado por HENEKE et al. (1984), éguas com baixo escore de condição corporal (< 5) apresentam um maior intervalo entre o parto e a ovulação do que àquelas com maior escore corporal (> 5). O intervalo médio observado foi de 12,5 dias, muito similar ao intervalo de 12,7 (8 à 20) encontrado por Lemes et al. (2017b) e 12,6 dias encontrados por Gündüz, Kaşıkçı e Kaya (2008) no grupo controle do seu estudo.

7 CONCLUSÃO

A suplementação com microalgas ricas em DHA na dieta de éguas, apesar de reduzir o diâmetro do mesométrio e aumentar a ecogenicidade uterina, não afeta a recuperação uterina pós-parto, nem reduz o intervalo entre o parto e a primeira ovulação.

REFERÊNCIAS

ALONSO, M. A. Seleção, manejo e fatores que influenciam as taxas de prenhez em éguas receptoras de embriões. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 36, n. 2, p. 207-214, 2008.

- AMBROSE, D. J.; KASTELIC, J. P. Dietary fatty acids in dairy cow fertility. **Advances in Dairy Technology**, v. 15, n. 8, p. 35-47, 2003.
- ARROTT, C.; MACPHERSON, M.; BLANCHARD, T.; VARNER, D.; THOMPSON, J.; SIMPSON, B.; BRUEMMER, J.; VOGELSANG, S.; FERNANDEZ, M.; FLEET, T.; BURNS, P. Biodegradable estradiol microspheres do not affect uterine involution or characteristics of postpartum estrus in mares. **Theriogenology**, v. 42, n. 2, p. 371-384, 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 17th ed. Arlington, VA, EUA, 2000.
- BELL, R. J.; BRISTOL, F. Fertility and Pregnancy Loss after Delay of Foal Oestrus with progesterone and Oestradiol. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. S35, p. 667-668, 1987.
- BERME, R. M.; LEVY, M. N. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1034 p.
- BLANCHARD, T. L.; VARNER, D. D.; BRINSKO, S. P.; MEYERS, S. A.; JOHNSON, L. Effects of postparturient uterine lavage on uterine involution in the mare. **Theriogenology**, v. 32, p. 527-535, 1989.
- BLANCHARD, T. L.; VARNER, D.D. Uterine involution and postpartum breeding. In: McKINNON, A.O., VOSS, J.L. (Eds.) **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 622-625, 1993.
- BOLLWEIN, H.; STOLLA, R.; ROHR, S.; WELTER, H.; WEBER, F.; EINSPANIER, R. Relationships between uterine blood flow, estrogens and nitric oxide in cyclic mares. **Theriogenology**, v. 58, p. 575-578, 2002.
- BRUEMMER, J. E.; BRADY, H. A.; BLANCHARD, T. L. Uterine involution, day and variance of first postpartum ovulation in mares treated with progesterone and estradiol-17beta for 1 or 2 days postpartum. **Theriogenology**, v. 57, n. 2, p. 989-995, 2002.

- CALDAS, M. C. S.; OLIVEIRA, F. R. A. P.; SILVA, A. A. M. R. Chronobiological characterization of the first estrous cycle in Brasileiro de Hipismo mares during the postpartum period. **Theriogenology**, v. 42, n. 5, p. 803-813, 1994.
- CALDER, P. C. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? **Nutrition Research**, v. 21, n. 1-2, p. 309-341, 2001.
- CANIBAL, M. C. H. B.; NEVES, A. P.; CASTRO, F. S.; GREGORY, J. W.; LARENTIS, G. R.; TREIN, C. R.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C. Effect of a fatty acid supplement on the estrus cycle and pregnancy rates of Brazilian Pony mares. **Pferdeheilkunde**, v. 24, n. 1, p. 23-26, 2008.
- CANESIN, H. S. **Caracterização da hemodinâmica uterina de éguas durante o ciclo estral**. 2013. 108 p. Dissertação (Mestre em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.
- CARVALHO, G. R.; FONSECA, A. F.; SILVA FILHO, J. M.; RUAS, J. R. M.; BORGES, A. M. Evaluation of the foal heat for the embryo transfer. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1445-1450, 2001.
- CHRISTIANSEN, E. N. LUND, J. S.; RØRTVEIT, T.; RUSTAN, A. C. Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in rat liver. **Biochimica et Biophysica Acta, Netherlands**, v. 1082, n. 1, p. 57-62, 1991.
- CINTRA, A. G. **Alimentação equina: nutrição, saúde e bem-estar**. Rio de Janeiro: Roca, 2016, 354 p.
- CLARKE, S. D. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 4, p. 1129-1132, 2001.
- CORREA, A. A. D.; CORREA, J. H. R. **Bioquímica animal**. 2.ed. Lisboa: Fundação Calouste Guibenkian, 1985. 1249p.

- DREWS, B.; MILOJEVIC, V.; GILLER, K.; ULBRICH, S. E. Fatty acid profile of blood plasma and oviduct and uterine fluid during early and late luteal phase in the horse. **Theriogenology**, v. 114, p. 258-265, 2018.
- FERREIRA, J. C.; GASTAL, E. L.; GINTHER, O. J. Uterine blood flow and perfusion in mares with uterine cysts: effect of the size of the cystic area and age. **Reproduction** v. 135, n. 4, p. 541-550, 2008.
- FRANK, N.; SOJKA, J. E.; LATOUR, M. A. Effect of withholding feed on concentration and composition of plasma very low density lipoprotein and serum nonesterified fatty acids in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 7, p. 1018-1021, 2002.
- FRAPE, D. **Nutrição & Alimentação de Equinos**. 3. ed. São Paulo: Rocca, 2008. 602 p.
- GARG, M. L.; SEBOKOVA, E.; THOMSON, A. B.; CLANDININ, M. T. Delta 6- desaturase activity in the liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or n-3 fatty acids. **Biochemistry Journal**, v. 249, n. 2, p. 351-356, 1988.
- GAZIANO, M.; MANSON, J. E.; RIDKER, P. M. Primary and secondary prevention of coronary heart disease. In: LIBBY, P. et al. (Ed.). **Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine**: v. 8, 2007, cap. 45, p. 1057-1084.
- GEOR, R. J.; HARRIS, P. A.; COENEN, M. **Equine applied and clinical nutrition**. 2013. 679 p.
- GINTHER, O. J. **Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects**. 2nd ed. Cross Plains, WI: Equiservices; 1992.
- GLATZEL, P. S.; BELZ, J. P. Fertility in mares after disturbed or undisturbed puerperal periods - significance of clinical, microbiological and hormonal examinations. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v. 108, n. 10, p. 367-372, 1995.

- GOBESSO, A. A. O.; LORENZO, C. L. F.; PREZOTTO, L. D.; RENNO, F. P. Efeitos do processamento da alfafa e da adição de óleo de soja sobre a digestibilidade total da dieta de eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 4, p. 713-717, 2009.
- GOBESSO, A. A. O.; MOREIRA, A. M. F. O. ; TAMAS, W. T. ; RIBEIRO, R. M.; PREZOTTO, L. D.; GONZAGA, I. V. F.; ETCHICHURY, M.; BRANDI, R. A. Digestibilidade aparente total e concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol em equinos alimentados com fontes de óleo vegetal. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, p. 254-263, 2011.
- GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. **The Pharmacological Basis of Therapeutics** p 661. Macmillan Publishing Company, New York, 1985.
- GREGORY, R. M.; CARDONA, J. C. A.; OSPINA, H. P.; RAMIREZ, M. H.; MATTOS, R. C.; JOBIM, M. I. M. Ácidos graxos poliinsaturados e seus efeitos no desempenho reprodutivo da vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 6, p. 153-156, 2009.
- GRIFFIN, P. G.; GINTHER, O. J. Uterine morphology and function in postpartum mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 11, n. 6, p. 330-339, 1991.
- GRIMM, H.; MAYER, K.; MAYSER, P.; EIGENBRODT, E. Regulatory potential of n3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. The **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. S1, p. 59-67, 2002.
- GÜNDÜZ, M. C.; KAŞIKÇI, G.; KAYA, H. H. The effect of oxytocin and PGF2alpha on the uterine involution and pregnancy rates in postpartum Arabian mares. **Animal Reproduction Science**, v. 103, n. 2-4, p. 257-263, 2008.
- GYGAX, A. P.; GANJAM, V. K.; KENNEY, R. M. Clinical, microbiological and histological changes associated with uterine involution in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p. 571-578, 1979.
- HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 4, p. 371-372, 1983.

- HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L. Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. **Theriogenology**, v. 21, n. 6, p. 897-909, 1984.
- HESS T. M.; REXFORD, J.; HANSEN, D. K.; AHRENS, N. S.; HARRIS, M.; ENGLE, T.; ROSS, T.; ALLEN, K. G. Effects of u-3 (n-3) fatty acid supplementation on insulin sensitivity in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 3, n. 6, p. 446-453, 2013.
- HESS, T. M.; ROSS-JONES, T. Omega-3 fatty acid supplementation in horses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, n. 12, p. 677-683, 2014.
- HODGE, L. B.; RUDE, B. J.; DINH, T. N.; LEMLEY, C. O. Effect of ω -3 fatty acid supplementation to gestating and lactating mares: on milk igg, mare and foal blood concentrations of igG, insulin and glucose, placental efficiency, and fatty acid composition of milk and serum from mares and foals. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 51, p. 70–78, 2017.
- HUNKA, M. M.; DA SILVA, E. R. R.; KUTSCHENKO, M.; NOGUEIRA, E. T.; MANSO, H. E. C. C. C.; MANSO FILHO, H. C. Effects of L-arginine supplementation on lactating mares and the development of foals. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, n. 1352, p. 1-10, 2016.
- JACOBS, R. D.; EALY, A. D.; PENNINGTON, P. M.; PUKAZHENTHI, B.; WARREN, L. K.; WAGNER, A. L.; JOHNSON, A. K.; HESS, T. M.; KNIGHT, J. W.; SPLAN, R. K. Dietary supplementation of algae-derived omega-3 fatty acids influences endometrial and conceptus transcript profiles in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 62, p. 66-75, 2018.
- KATILA, T.; REILAS, T. The post partum mare. **Pferdeheilkunde**, v. 17, n. 6, p. 623-626, 2001.
- KATILA, T.; KOSKINEN, E.; OIJALA, M.; PARVIAINEN, P. Evaluation of the post-partum mare in relation to foal heat breeding .2. Uterine swabbing and biopsies.

Journal of Veterinary Medicine Series A-Physiology Pathology Clinical Medicine, v. 35, n. 5, p. 331-339, 1988.

KATILA, T. Effects of hormone treatments, season, age and type of mares on ovulation, twinning and pregnancy rates of mares inseminated with fresh and frozen semen. **Pferdeheilkunde**, v. 19, n. 6, p. 619-624, 2003.

KIRKER-HEAD, C. A., CHANDNA, V. K., AGARWAL, R. K., MORRIS, E. A., TIDWELL, A., O'CALLAGHAN, M. W., RAND, W., KUMAR, M. S. Concentrations of substance P and prostaglandin E2 in synovial fluid of normal and abnormal joints in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 6, p. 714-718, 2000.

LANGLOIS, B.; BLOUIN, C. **Effect of a horse's month of birth on its future performances**. In: Proceedings of the 47th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 1996.

LAWRENCE, L. M. Nutrition and fuel utilization in athletic horse. **Veterinary Clinical North America: Equine Practcing.**, v. 6, n. 4, p. 393-418, 1990.

LEMES, K. M.; SILVA, L. A.; ALONSO, M. A.; CELEGHINI, E. C. C.; PUGLIESI, G.; CARVALHO, H. F.; AFFONSO, F. J.; SILVA, D. F.; LEITE, T. G.; ARRUDA, R. P. Follicular dynamics, ovarian vascularity and luteal development in mares with early or late postpartum ovulation. **Theriogenology**, v. 96, 0. 23-30, 2017a.

LEMES, K. M.; SILVA, L. A.; ALONSO, M. A.; CELEGHINI, E. C. C.; PUGLIESI, G.; CARVALHO, H. F.; AFFONSO, F. J.; SILVA, D. F.; LEITE, T. G.; ARRUDA, R. P. Uterine vascular perfusion and involution during the postpartum period in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 51, p. 61-69, 2017b.

LEVINSON, P.; IOSIPHIDIS, A.; SARITELLI A, HERBERT, P.; STEINER, M. Effects of 3 fatty acids in essential hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 3, n. 10, p. 754-760, 1990.

LUCY, M. C.; COLLIER, R. J.; KITCHELL, M. L.; DIBNER, J. J.; HAUSER, S. D.; KRIVI, G. G. Immunohistochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor

- populations in the bovine ovary. **Biology of Reproduction**, v. 48, n. 6, p. 1219-1227, 1993.
- MASANOBU, H.; HIDEOTO, T. Utilization in healthy subjects consuming diacylglycerol oil diet: dietary and whole body fat oxidation lipids. **Lipids**, v. 43, n. 6, p. 517-525, 2008.
- MATTOS, R.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. **Reviews of Reproduction**, v. 5, p. 38–45, 2000
- MERKT, H.; GÜNZEL, A. R. A survey of early pregnancy losses in west german thoroughbred mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 11, n. 4, p. 256-258, 1979.
- MORGADO, E.; GALZERANO, L. Utilização de óleo em dietas para equinos. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 7, n. 10, p. 1-14, 2006.
- NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 245-262, 2000.
- NEURINGER, M.; ANDERSON, G. J.; CONNOR, W. E. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. **Annual Review of Nutrition**, v. 8, p. 517–541, 1998.
- O'CONNOR, C. I.; LAWRENCE, L. M.; ST. LAWRENCE, A. C.; JANICKI, K. M.; WARREN, L. K.; HAYES, S. The effect of dietary fish oil supplementation on exercising horses. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 10, p. 2978–2984, 2004.
- OLIVEIRA, K.; SANTOS, V. P.; COSTA, C.; FAUSTINO, M. G.; SÁ, J. C.; HEINRICHS, R.; MEIRELLES, P. R. L. Parâmetros sanguíneos de cavalos alimentados com concentrados lipídicos submetidos a treinos aeróbicos montados. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v. 14, n. 1, p. 67-76, 2013.
- PALMER, E.; DRIANCOURT, M. A. Some interactions of season of foaling, photoperiod and ovarian activity in the equine **Livestock Production Science**, v.10, n. 2, p. 197-210, 1983.

- PHAN, C. T.; TSO, P. Intestinal lipid absorption and transport. **Frontiers in Bioscience**, v.6, p. D299- D319, 2001.
- POTTER, G. D.; WEBB, S. P.; EVANS, J. W.; WEBB, G. W. Digestible energy-requirements for work and maintenance of horses fed conventional and fat-supplemented diets. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 214-218, 1990.
- RIBEIRO, R. M.; PASTORI, W. T.; FAGUNDES, M. H. R.; PREZOTTO, L. D.; GOBESSO, A. A. O. Inclusion of different fat sources and mineral oil in equine diet. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p. 1989-1994, 2009.
- RINK, B. E.; KUHL, J.; ESTEVES, C. L.; FRENCH, H. M.; WATSON, E.; AURICH, C.; DONADEU, F. X. Reproductive stage and sex steroid hormone levels influence the expression of mesenchymal stromal cell (MSC) markers in the equine endometrium. **Theriogenology**, v. 116, p. 34-40, 2018.
- ROCHA, A. L. A.; ZIMMER JR., O.; MATTOS, R.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C. Características puerperais, taxas de concepção e morte embrionária em éguas Puro Sangue de Corrida cobertas no cio do potro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 24, n. 2, p. 65-78, 1996.
- ROSS-JONES, T.; HESS, T.; REXFORD, J.; AHRENS, N.; ENGLE, T.; HANSEN, K. Effects of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation on equine synovial fluid fatty acid composition and prostaglandin E₂. **Journal of Equine Veterinary Science**, 34, n. 6, p. 779-783, 2014.
- SALTIEL, A., GUTIERREZ, A. Cervical endometrial cytology and physiological aspects of postpartum mares. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 35, p. 305-309, 1987.
- SARMAZ, K.; GOKER, A.; MICILI, S. C.; ERGUR, B. U.; KUSCU, N. K. Immunohistochemical and ultrastructural analysis of the effect of omega-3 on embryonic implantation in an experimental mouse model. **Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.55, n. 3, p. 351-356, 2016.

- SERTICH, P. L.; HINRICHS, K.; KENNEY, R. M. Histological aspects of uterine involution in the post parturient, ovariectomised, embryo recipient mare: a model for the study of involution. **Equine Veterinary Journal**, v. 21, n. S8, p. 56-58, 1989.
- SERTICH, P. L.; WATSON, E. D. Plasma-concentrations of 13,14-dihydro-15-ketoprostaglandin-f2-alpha in mares during uterine involution. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, v. 201, v. 3, p. 434-437, 1992.
- STAPLES, C. R.; BURKE, J. M.; THATCHER, W. W. Optimizing energy nutrition for reproducing dairy cows: Influence of supplement fats on reproductive tissues and performance of lactating cow. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 3, p. 856–871, 1998.
- TRUJILLO, E. P.; BROUGHTON, K. S. Ingestion of n-3 polyunsaturated fatty acids and ovulation in rats. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 105, p. 197-203, 1995.
- UNDERSANDER, D.; MERTENS, D. R.; THEIX, N. **Forage Analysis**. Omaha: National Forage Testing Association, 1992. 139 p.
- VAN NIEKERK, F. E.; VAN NIEKERK, C. H. The effect of dietary protein on reproduction in the mare. VII. Embryonic development, early embryonic death, foetal losses and their relationship with serum progestagen. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 69, n. 4, p. 150-155, 1998.
- VANDEPLASSCHE, M.; BOUTERS, R.; SPINCEMAILLE, J.; BONTE, P.; CORYN, M. Observations on involution and puerperal endometritis in mares. **Irish Veterinary Journal**, v. 37, p. 126–132, 1983.
- WANG, H.; DEY, S. K. Lipid signaling in embryo implantation. **Prostaglandins Other Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling**, v. 77, n. 1-4, p. 84–102, 2005.
- WATSON, T. D.; BUMS, L.; PACKARD, C. J. Effects of pregnancy and lactation on plasma lipid and lipoprotein concentrations, lipoprotein composition and post-heparin lipase activities in Shetland pony mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, n. 2, p. 563-568, 1993.

WIDDOWSON, E. M.; DICKERSON, J. W: **Composition of the body**. In.: Geigy Scientific Tables, ed. C Letner. West Caldwell, NJ: Ciba-Geigy, pp 217-225, 1981.