MARIANA ABREU REDOAN

Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre/Doutor em Ciências.

Departamento:

Reprodução Animal-VRA

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira

De acordo:_____

Orientador

São Paulo
2019

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

VERSÃO CORRIGIDA

MARIANA ABREU REDOAN

Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos

São Paulo

2019

MARIANA ABREU REDOAN

Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos

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

Departamento:

Reprodução Animal-VRA

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira

São Paulo

2019

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. 3829
FMVZ

Redoan, Mariana Abreu
Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos / Mariana Abreu Redoan. – 2019.
67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2019.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira.

1. Neonato. 2. Progesterona. 3. Suplementação. 4. Hormônios. 5. Gestação. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos ", protocolada sob o CEUA nº 9874130317 (ID 003335), sob a responsabilidade de **Cláudio Alvarenga de Oliveira** *e equipe; Ana Carolina Correa Porto ; Mariana Abreu Redoan* - 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 15/03/2017.

We certify that the proposal "Effect of progestagen supplementation in pregnant mares in the thyroid and steroid hormones of neonates", utilizing 60 Equines (males and females), protocol number CEUA 9874130317 (ID 003335), under the responsibility of **Cláudio Alvarenga de Oliveira** *and team; Ana Carolina Correa Porto ; Mariana Abreu Redoan* - 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 03/15/2017.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 07/2017 a 06/2019 Área: Reprodução Animal

Origem:	Animais de proprietários						
Espécie:	Equídeos	sexo:	Machos e Fêmeas	Idade:	0 a 14 anos	N:	60
Linhagem:	Mangalarga Marchador			Peso:	50 a 480 kg		

Local do experimento: Coleta de material :Haras Winners Factory em São Roque,SP. Análise do material: Laboratório de Dosagem Hormonal da Universidade de São Paulo.

São Paulo, 04 de agosto de 2019

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

São Paulo, 29 de maio de 2019
CEUA N 9874130317

Ilmo(a). Sr(a).
Responsável: Cláudio Alvarenga De Oliveira
Área: Reprodução Animal

Título da proposta: "Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos ".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ (ID 004726)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Alteração do cadastro (versão de 28/maio/2019) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "A proposta inicial do projeto seria dosar as concentrações de progesterona e sulfato de estrona das éguas prenhes e T3,T4 e TSH dos potros neonatos. Porém, devido a novos trabalhos lançados que questionam a influência da suplementação hormonal no sistema imune, pretendemos usar as amostras já coletadas para dosagens adicionais. A nova proposta é realizar ensaios para averiguar também as concentrações de cortisol e progesterona dos neonatos. Portanto, solicitamos também a alteração do título do projeto para : "Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos."".

Comentário da CEUA: "Pesquisador solicita alteração no título devido readequação da pesquisa".

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: REDOAN, Mariana Abreu

Título: **Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução 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

Aos meus pais, sempre o maior agradecimento. Obrigada por sempre acreditarem em mim e entenderem minha ausência nos últimos anos. O apoio de vocês é fundamental. Amo vocês demais!

Ao Gui, por todo apoio quando realmente preciso e pelo suporte técnico de sempre.

Ao professor Claudio Alvarenga, por ter aberto as portas do mestrado para mim e por ter acreditado na minha capacidade. Muito obrigada!

Aos meus amigos, em especial a Bruna, a Gabi e o Carlos, por estarem sempre comigo, seja longe ou perto.

Aos meus familiares, em especial minha madrinha, pelo apoio de sempre.

À Ana Carolina Porto, por ter dividido seu projeto comigo e pela confiança. Obrigada!

A todos os integrantes do LDH, em especial à Dra. Priscila Viau, pelos conselhos e ajuda quando precisei. Muito obrigada mesmo!

À Gisela, por ter me feito entender um pouco de estatística e pela ajuda com os dados. Eternamente grata!

À Bárbara, por ter me ajudado tanto (e com tudo) no meu início em São Paulo. Nunca vou esquecer!

À Guta, por ter me ajudado tanto com a dissertação e por ter entendido minha necessidade de ausência. Obrigada!

À Harumi, por sempre me ajudar com as pendências. Muito obrigada!

À professora Cláudia, por sempre estar disposta a ajudar e por ter aberto as portas do seu grupo para mim. Eternamente grata!

À Fê, pela boa vontade em me ajudar com a estatística e por solucionar minhas dúvidas.

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

Pelo auxílio financeiro concedido através do processo nº 2011/23120-6 Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

RESUMO

REDOAN, M.A. **Efeito da suplementação hormonal com progestágenos em éguas prenhes sobre os hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos.** 2019.67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

O nosso trabalho teve como objetivo avaliar as concentrações dos hormônios tireoidianos e esteroides dos neonatos no pós-parto imediato (d0) de éguas suplementadas com diferentes progestágenos e estabelecer correlação entre a concentração de progesterona da mãe com a do neonato. Para isso foram utilizadas 27 éguas da raça Mangalarga Marchador e seus respectivos potros. Os animais foram divididos em 5 grupos experimentais: grupo 1 (controle, sem suplementação hormonal), grupo 2 (éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação), grupo 3 (éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação), grupo 4 (éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação) e grupo 5 (éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação). Foi realizada coleta de sangue dos potros e das éguas imediatamente após o parto para a mensuração hormonal utilizando kits comerciais. Os hormônios mensurados nos neonatos foram T3 total, T4 livre, TSH, progesterona e cortisol. Nas éguas foi mensurada a concentração de progesterona. Os grupos de neonatos não apresentaram diferença na concentração de T3 total, T4 livre, TSH e progesterona no d0. Não foi encontrada diferença na concentração de progesterona das éguas dos diferentes grupos analisados no d0. Os neonatos dos grupos 4 apresentaram maior concentração de cortisol no d0 e os do grupo 5 apresentaram menor concentração de cortisol no d0. Nenhum neonato apresentou alteração clínica. Assim, a suplementação hormonal com progesterona de longa ação a partir dos 280 dias de gestação levou ao aumento na concentração de cortisol do neonato enquanto que a suplementação com altrenogest a partir dos 280 dias de gestação causou a diminuição nos níveis de cortisol no d0.

Palavras-chave: neonato, progesterona, suplementação, hormônios, gestação

ABSTRACT

REDOAN, M.A. **Effects on progestogen hormone supplementation over pregnant mares considering newborn's thyroid and steroid hormones.**2019.67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Our essay aimed to evaluate neonatal foal's thyroid and steroid hormone levels in the oncoming postpartum (d0) of mares supplemented with different progestogens and to establish a interconnection between the progesterone levels of the mother and the neonate. For this, 27 Mangalarga Marchador mares and their respective foals were surveyed. The animals were shared to 5 experimental groups: group 1 (control, without hormonal supplementation), group 2 (acyclic recipient mares supplemented until 120 days of pregnancy with long-acting progesterone), group 3 (mares supplemented with short-acting progesterone from the 280th day of pregnancy), group 4 (mares supplemented with long-acting progesterone from the 280th day of pregnancy) and group 5 (mares supplemented with synthetic altrenogest progestogen from the 280th day of pregnancy). Blood samples were collected from neonates and mares immediately after calving for hormonal measurement using commercial kits. The hormones measured in the newborns were total T3, free T4, TSH, progesterone and cortisol. In mares was measured the progesterone levels. Newborn groups didn't display any difference among total T3, free T4, TSH and progesterone levels in d0. Any difference was found in progesterone levels of mares of different groups analyzed in d0. Neonates from groups 2 and 4 had higher cortisol levels at d0 and those from group 5 had lower cortisol levels at d0. Neither neonate showed clinical alteration. Thus, long-acting progesterone hormone supplementation up to 120 days of pregnancy and from 280 days of pregnancy led to an increase in the cortisol levels of the newborn, while altrenogest supplementation from 280 days of pregnancy led to a reduction in cortisol levels in d0.

Keywords: neonate, progesterone, supplementation, hormones, pregnancy

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias ± erro padrão da concentração de TSH (ng/mL) no d0 entre os grupos 37

Tabela 2 - Médias ± erro padrão da concentração de T_3 total (ng/mL) dos neonatos no d0 38

Tabela 3 - Médias ± erro padrão da concentração de T_4 livre (µg/dL) dos neonatos no d0 39

Tabela 4 - Médias ± erro padrão da concentração de P4 (ng/mL) dos neonatos no d0 40

Tabela 5 - Médias ± erro padrão da concentração de P4 (ng/mL) das éguas no D0 41

Tabela 6 - Médias ± erro padrão da concentração de cortisol (µg/dL) dos neonatos no d0 43

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Média e erro padrão das concentrações de TSH (ng/mL) dos neonatos no d0 38

Gráfico 2 - Média e erro padrão das concentrações de T_3 total (ng/mL) dos neonatos no d0 39

Gráfico 3 - Média e erro padrão das concentrações de T_4 livre (µg/dL) dos neonatos no d0 40

Gráfico 4 - Média e erro padrão das concentrações de P4 (ng/mL) dos neonatos no d0 41

Gráfico 5 - Média e erro padrão das concentrações de P4 (ng/mL) das éguas no D0 42

Gráfico 6 - Diferenças das médias de P4 (ng/mL) da mãe entre o grupo controle e os demais grupos no d0, considerando intervalo de confiança de 95%.....43

Gráfico 7 - Diferenças das médias de cortisol (µg/dL) dos neonatos no d0 considerando intervalo de confiança de 95%.....44

Gráfico 8 - Diferenças das médias de cortisol (µg/dL) entre o grupo controle e os demais grupos no d0, considerando intervalo de confiança de 95%.....45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
ANOVA	Análise de Variância
d0	momento pós-parto imediato
DIT	diiodotirosina
dL	decilitro
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
IL-2	interleucina 2
IL-6	interleucina 6
IL-8	interleucina 8
IL-10	interleucina 10
IL-12	interleucina 12
IM	intramuscular
IFN-γ	interferon-gama
iNOS	óxido nítrico sintase induzida
kg	quilograma
LA	longa ação
LDH	Laboratório de Dosagens Hormonais
mL	mililitro
µg	micrograma
mg	miligrama
MHC	complexo principal de histocompatibilidade
MIT	monoiodotirosina
ng	nanograma
P4	progesterona
P5	pregnenolona
$P450_{scc}$	enzima clivadora da cadeia lateral do colesterol
$P450_{c17}$	enzima 17α-hidroxilase
RIE	radioimunoensaio
RP	receptor de progesterona
RPM	rotações por minuto
rT3	T3 reverso
T_3	triiodotirosina

T_4	tiroxina
TE	transferência de embrião
TNF-α	fator de necrose tumoral alfa
TBG	globulina ligadora de tiroxina
TRH	hormônio liberador de tireotrofina
TSH	tireotrofina; hormônio estimulador da tireoide
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

α	alfa
γ	gama
±	mais ou menos
<	menor
>	maior
ºC	graus Celsius
%	porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16
2 REVISÃO DE LITERATURA 17
2.1 ENDOCRINOLOGIA DA ÉGUA GESTANTE 17
2.1.1 RELAÇÃO ENTRE PROGESTERONA E SISTEMA IMUNE 19
2.2 ENDOCRINOLOGIA DO FETO E NEONATO 21
2.2.1 CORTISOL 21
2.2.2 T_3 TOTAL, T_4 LIVRE E TSH 24
2.3 USO DOS PROGESTÁGENOS EM ÉGUAS 27
2.3.1 PREPARAÇÃO DE RECEPTORAS ACÍCLICAS 27
2.3.2 PERDA GESTACIONAL PRECOCE 28
2.3.3 PLACENTITE 30
2.4 TIPOS DE PROGESTÁGENOS 31
2.4.1 PROGESTERONA 31
2.4.2 ALTRENOGEST 32
3 HIPÓTESE 33
4 OBJETIVOS 33
5 MATERIAIS E MÉTODOS 34
5.1 ANIMAIS 34
5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 34
5.3 COLETA DE SANGUE 35
5.3.1 ÉGUAS 35
5.3.2 POTROS 35
5.4 ANÁLISE HORMONAL 35
5.4.1 DOSAGENS DE PROGESTERONA DAS ÉGUAS (D0) 36
5.4.2 DOSAGENS DE T_3 E T_4 DOS POTROS (D0) 36
5.4.3 DOSAGEM DE TSH DOS POTROS (D0) 36
5.4.4 DOSAGEM DE PROGESTERONA E CORTISOL DOS NEONATOS (D0) 36
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 36
6 RESULTADOS 37
6.1 TSH NEONATO 37
6.2 T_3 TOTAL NEONATO 38
6.3 T_4 LIVRE NEONATO 39
6.4 PROGESTERONA NEONATO 40

6.5 P4 MÃE 41
6.6 CORTISOL NEONATO 43
7 DISCUSSÃO 45
7.1 T_3 TOTAL, T_4 LIVRE E TSH 45
7.2 PROGESTERONA NEONATOS 46
7.3 PROGESTERONA DAS MÃES 47
7.4 CORTISOL NEONATOS 48
8 CONCLUSÃO 50
REFERÊNCIAS 51
APÊNDICES 65

1 INTRODUÇÃO

As éguas, mais do que qualquer outra espécie, recebem um ou mais progestágenos exógenos durante a gestação inteira ou parte dela como forma de amenizar o medo dos proprietários e Veterinários de que uma falha na produção de progesterona endógena possa causar perda embrionária ou aborto (ALLEN, 2001). O alto investimento econômico de uma prenhez por transferência de embrião e o grande valor do potro vivo faz com que centrais de reprodução suplementem todas as éguas; porém um método racional que selecione quais éguas realmente precisam ser suplementadas ainda é ausente (DAELS, 2006; DELUCA et al., 2011). Além do custo extra que a medicação gera mensalmente, há ainda o manejo adicional envolvendo a administração do progestágeno de escolha.

A suplementação maciça do plantel, entretanto, não vem ocasionando melhoras na eficiência reprodutiva dos animais. Em estudo prospectivo, Rose et al. (2018) evidenciaram que o aumento das intervenções terapêuticas na reprodução equina não levou à mudanças nas taxas de perda gestacional precoce e porcentagem de potros vivos durante os últimos 12 anos. O maior período de perda também continua igual, entre os dias 15-42 de gestação. Tais informações nos fazem refletir se as perdas que ocorrem são mesmo decorrentes de uma falta de progesterona endógena e se o uso indiscriminado de hormônios pode trazer algum problema para a espécie.

Em humanos já foi comprovada a ligação dos progestágenos naturais e sintéticos aos receptores de glicocorticoides e, devido a ampla distribuição destes pelo corpo, os efeitos não são limitados ao trato reprodutivo (LI et al., 2006; TOMASICCHIO et al., 2013; UGOR et al., 2017; SHAH et al., 2018). Os compostos também se ligam aos receptores de progesterona encontrados em diversos tipos de tecidos e células, incluindo células do sistema imune, mas a maioria das suas funções sobre este são mediadas pela interação com os receptores de glicocorticoides (HALL; KLEIN, 2017). Já foi comprovado, em mulheres, que a suplementação suprime a transcrição de genes, como IL-2, IL-6, IL-8 e IFNγ, e a proliferação das células T após apresentação de antígenos, impactando a susceptibilidade a patógenos (BAMBERGER et al., 1999; KOUBOVEC et al., 2004; HUIJBREGTS et al., 2013).

Estudos sobre as possíveis consequências do uso de hormônios sintéticos em equinos ainda são bastante escassos, com a recente descoberta do efeito

imunomodulador do altrenogest quando administrado em éguas vazias (FEDORKA et al., 2019). A preocupação com os efeitos no potro ainda não é uma realidade, o que é evidenciado com a pouca pesquisa existente sobre o tema, mesmo já tendo sido comprovado que o progestágeno sintético altrenogest é capaz de atravessar barreira fetoplacentária e atingir o feto em altas concentrações, causando problemas de adaptação dos neonatos à vida extrauterina (NEUHAUSER et al., 2008, 2009; PALM et al., 2010).

Diante do exposto, este trabalho irá auxiliar no esclarecimento do assunto por meio da concentração hormonal dos neonatos no pós-parto, direcionando futuros estudos na área.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ENDOCRINOLOGIA DA ÉGUA GESTANTE

As espécies domésticas requerem a presença de progesterona (P4) para que haja estabelecimento e manutenção da gestação e, em equinos, tal hormônio é essencial para a síntese do histotrofo, mobilidade do concepto, fixação do embrião na base do corno uterino e orientação no útero, além da quiescência uterina (KASTELIC; ADAMS; GINTHER, 1987; ALLEN, 2000; CANISSO et al., 2013; AURICH; BUDIK, 2015).

O embrião equino chega ao útero no sexto dia pós ovulação, sinalizando sua presença à mãe e gerando o reconhecimento materno da gestação (WILSHER, 2019). Assim, não há liberação dos pulsos de prostaglandina pelo endométrio e a função do corpo lúteo persiste além dos dias 14-16 do diestro, que é o período de luteólise caso não ocorra prenhez (ALLEN, 2001; WILSHER, 2019). Mesmo persistindo no ovário, o corpo lúteo primário tem sua produção de progesterona diminuída nos 20 dias subsequentes; do pico de 12-20 ng/mL por volta dos dias cinco à dez pós ovulação para valores como 3-5 ng/mL aos 35 dias de prenhez (ALLEN, 2001). Além da progesterona, 5α-pregnano,3,20-diona (5α-DHP) e 3β-hidroxi-5α-pregano-20-ona também são detectáveis na circulação (HOLTAN et al., 1991; AURICH; BUDIK, 2015). Esse valor irá subir novamente devido a produção da gonadotrofina coriônica equina (eCG) pelos cálices endometriais, levando a maturação, luteinização e ovulação dos

folículos com subsequente aumento das concentrações plasmáticas de progesterona, alcançando 25-30 ng /mL ao redor dos 100-120 dias de gestação (ALLEN, 2001).

Assim, entre os dias 70 e 150 de gestação na égua, a concentração plasmática periférica de progesterona e progestágenos relacionados representam uma mistura de progesterona, secretada pelos corpos lúteos primário e secundário, e progestágenos da placenta, secretados pelo alantocórion em desenvolvimento. Com o desaparecimento do eCG da circulação materna entre os dias 120-150, os níveis de progesterona começam a cair novamente para 4-6 ng/mL devido ao fim do estímulo aos corpos lúteos secundários (PASHEN; ALLEN, 1979; ALLEN, 2001). Desde o dia 180 de prenhez até aproximadamente dez dias pré-parto a progesterona não é detectável na circulação materna (<1ng/mL) (LEBLANC; MACPHERSON; SHEERIN, 2004).

Os tecidos uteroplacentários formam parte da rede esteroidogênica fetoplacentária que produz progestágenos e estrógenos durante a segunda metade da gestação (PASHEN, 1984; LEBLANC; MACPHERSON; SHEERIN, 2004). Essa unidade esteroidogênica envolve o endométrio, a placenta e outros tecidos fetais como adrenal, gônadas e fígado. A enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol ($P450_{scc}$), conversora do colesterol para pregnenolona (P5), é detectada na zona glomerulosa e reticular da adrenal do feto desde o dia gestacional 150, possibilitando a síntese dos progestágenos (HOLTAN et al., 1991; FOWDEN; SILVER, 1995). A presença da enzima $P450_{scc}$, somada ao fato da gonadectomia fetal não provocar alteração na concentração de progestágenos (PASHEN; ALLEN, 1979), leva os pesquisadores a acreditarem que a P5 é produzida pela adrenal (ALLEN et al., 2002).

Quantitativamente, os progestágenos mais importantes no terço final da prenhez são 5α-DHP e seus metabólitos (CHAVATTE et al., 1997; OUSEY et al., 2003). Como a placenta é o principal órgão produtor destes e está em contato direto com o tecido alvo, o endométrio, os progestágenos mensurados no sangue periférico representam os metabólitos, com concentrações bem inferiores as detectadas no ambiente uterino (ALLEN, 2001).

Nas últimas quatro a seis semanas de gestação a concentração de progestágenos da mãe, exceto a progesterona, aumenta novamente (PASHEN; ALLEN, 1979; ALLEN, 2001). A absorção uteroplacentária de P5 da circulação fetal também aumenta neste período, em paralelo ao desenvolvimento funcional e estrutural da adrenal do feto (OUSEY et al., 2003; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY,

2012). A maturação da glândula, somada à baixa expressão da enzima chave para conversão P5-cortisol, a $P450_{c17}$ (17α-hidroxilase), leva ao aumento da P5 e consequente elevação dos níveis de progestágenos (HOLTAN et al., 1991; OUSEY et al., 2003; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Acredita-se que o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal possa ter um papel no controle do tempo gestacional das éguas a partir da produção de P5 pela adrenal (CHAVATTE et al., 1997; OUSEY, 2004; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012).

Aproximadamente nos últimos cinco dias de prenhez, quando ocorre expressão suficiente de $P450_{c17}$, há mudança no padrão de secreção hormonal com aumento do cortisol e diminuição dos progestágenos (FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Antes disso, a concentração de progestágenos alcança valores de 15-30 ng/mL nas últimas 24-48 horas que antecedem o parto (PASHEN; ALLEN, 1979; ALLEN, 2001).

Essa mudança na produção de esteroides pela adrenal resulta na perda do bloqueio da contratilidade uterina pelos progestágenos, facilitando o início do parto (FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012).

2.1.1 Relação entre progesterona e sistema imune

Além dos seus efeitos no útero, a progesterona medeia as interações entre sistema imune e endócrino, visando propiciar um ambiente imunologicamente favorável ao feto (SZEKERES-BARTHO; HALASZ; PALKOVICS, 2009). A reação do sistema imune materno a qualquer estímulo não autólogo é o mesmo que ocorre com o concepto alogênico (trofoblasto) (DRUCKMANN; DRUCKMANN, 2005). O que distingue o trofoblasto dos outros tecidos, entretanto, é a sua capacidade de eliminar as respostas abortogênicas dos linfócitos B e T, induzindo uma imunomodulação que o protege do ataque imune materno. A presença da progesterona e sua interação com os seus receptores aparenta ser de extrema importância para tal estratégia de defesa, induzindo a prevalência da resposta Th2 sobre Th1 (MIYAURA; IWATA; ALERTS, 2002; DRUCKMANN; DRUCKMANN, 2005). Ainda não está claro o mecanismo molecular da ação direta da progesterona sobre a diferenciação dos linfócitos T mas acredita-se que um dos mecanismos funcione via estímulo à produção de IL-10, responsável por inibir a produção de IL-12, MHC II e moléculas co-estimuladoras (MIYAURA; IWATA; ALERTS, 2002).

Os processos regulados pela progesterona com a participação das células do sistema imune acontecem ao redor da região da sua síntese, como a placenta, com a concentração do hormônio sendo maior nesses locais do que no soro sanguíneo da mãe (POLIKARPOVA et al., 2019). Apesar de muitos estudos terem demonstrado o efeito anti-inflamatório da progesterona no contexto da reprodução, há pouco entendimento sobre as suas ações celulares e moleculares que geram imunomodulação (GODDARD et al., 2013).

Tanto a progesterona quanto o estrógeno controlam a produção de fatores de crescimento e citocinas do útero, com a progesterona promovendo um efeito inibitório sobre a produção de TNF- α e iNOS (HUNT et al., 1997). Em situações em que há uma redução fisiológica da concentração de P4, como antes da menstruação em humanos, há um grande influxo de células inflamatórias (macrófagos, neutrófilos e células T) para o endométrio, assemelhando-se à resposta inflamatória (GODDARD et al., 2013).

Em éguas, estudos evidenciaram a capacidade da progesterona de diminuir o número de linfócitos endometriais bem como o *clearance* do útero. Sob a sua prevalência no ambiente uterino foi observada maior proliferação de bactérias mesmo havendo acúmulo de leucócitos, sugerindo um atraso na mobilização das células de defesa, tal como ocorre em outras espécies (EVANS et al., 1986; HANSEN, 1998). A ocorrência de *downregulation* na atividade dos linfócitos frente a antígenos foi comprovada por Maeda et al. (2012).

Outras ações do hormônio incluem modulação da produção de anticorpos, redução da síntese de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos em resposta a bactérias e supressão da expressão de algumas citocinas no endotélio, como IL-6 e IL-8, com potencial efeito negativo no trânsito das células imunes para os tecidos (BEAGLEY; GOCKEL, 2003; SZEKERES-BARTHO; HALASZ; PALKOVICS, 2009; GODDARD et al., 2013).

Em humanos, a progesterona e seus metabólitos se ligam tanto aos seus próprios receptores quanto aos receptores de glicocorticoides, com a maioria das suas ações no sistema imune sendo mediadas pela interação com os receptores de glicocorticoides (SHAH et al., 2018). Entretanto, ainda há muitas informações conflitantes sobre os efeitos da progesterona nos diferentes tipos de células do sistema imune bem como qual é o papel dos receptores pelos quais esse hormônio exerce suas atividades (POLIKARPOVA et al., 2019).

Em equinos, a progesterona precisa se ligar a seus receptores específicos para exercer sua influência em tecidos alvos (WILSHER, 2019). A exposição contínua do endométrio à progesterona endógena faz com que os epitélios glandular e luminal não expressem mais receptores de progesterona (RP), apesar destes persistirem no estroma e miométrio (SPENCER et al., 2004; WILSHER; GOWER; ALLEN, 2011; WILSHER, 2019). Essa *downregulation* da expressão de RP no epitélio é um pré-requisito para a secreção de proteínas pelas glândulas endometriais, que continuam sendo estimuladas pela P4 indiretamente, via RP do estroma. Assim, na égua gestante, além de promover a quiescência miometrial e fechamento da cérvix, a P4 promove indiretamente uma série de mudanças que culminam com a secreção de vários fatores de crescimento endometriais essenciais para o desenvolvimento e crescimento das membranas do feto e placenta (WILSHER, 2019). A proteína do histotrofo encontrada em maior quantidade na superfície da cápsula do embrião equino, uterocalina, também é progesterona dependente (STEWART; CHARLESTON; CROSSETT, 1995; CROSSETT; ALLEN; STEWART, 1996; AURICH; BUDIK, 2015; WILSHER, 2019).

2.2 ENDOCRINOLOGIA DO FETO E NEONATO

A transição da vida intrauterina para a extrauterina requer preparações que se iniciam no fim da gestação e envolve mudanças maturacionais de estrutura e função dos tecidos chave responsáveis para sobrevivência pós-natal imediata (SILVER, 1990; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012).

2.2.1 Cortisol

O eixo hipofisário-adrenal é essencial para que haja parto normal de um potro saudável e, uma vez que este evento se aproxima, há aumento do tamanho e da porcentagem da adrenal em relação ao peso do feto (SILVER, 1990; FOWDEN; SILVER, 1995). A habilidade da glândula adrenal secretar cortisol só é adquirida no fim da gestação, sendo diretamente relacionada a viabilidade fetal (FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Assim, com essa maturação final tardia da glândula (se comparada a outras espécies) só há produção de cortisol nos últimos 5-7 dias pré-parto (LEBLANC, 2004; LEBLANC; MACPHERSON; SHEERIN, 2004).

Antes dos 290 dias de prenhez o córtex da adrenal do feto parece ser irresponsivo à administração exógena do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), funcionando apenas em nível basal e produzindo P5, já que ainda não há a enzima $P450_{c17}$ (SILVER et al., 1984; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). As enzimas limitantes da via esteroidogênica da adrenal para a produção de cortisol são a $P450_{scc}$, responsável por converter colesterol em pregnenolona (P5), a 3β-hidroxiesteroide desidrogenase (3β-HSD), conversora da P5 em P4, e $P450_{c17}$, que auxilia na transição P4-cortisol (FOWDEN; SILVER, 1995). Apesar de serem encontradas na adrenal desde antes do terço final da gestação, essas enzimas só se tornam abundantes após o desenvolvimento do córtex e, principalmente, após o aumento de espessura da zona fasciculada (FOWDEN; SILVER, 1995).

Após os 300 dias de gestação (25-5 dias pré-parto), possivelmente devido ao aumento da exposição da glândula ao ACTH causado por mudanças no padrão e na bioatividade da liberação de ACTH pela adenohipófise, o córtex da adrenal cresce e se desenvolve morfologicamente (COMLIN; SILVER, 1971; CUDD et al., 1995; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Somente nos 5 dias pré-parto, com o aumento da expressão da enzima $P450_{c17}$, há elevação nas concentrações de cortisol fetal (FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Ainda não se conhece qual o estímulo causador do aumento da expressão da $P450_{c17}$ na adrenal, podendo estar relacionado à remoção de algum inibidor, exposição prolongada ao ACTH bioativo ou ao próprio cortisol. Assim como todos hormônios esteroides, o cortisol é lipofílico e transportado no plasma ligado à globulina ligadora do cortisol e à albumina (<5%) (HART; BARTON, 2011).

Não é bem estabelecido também o que desencadeia a produção de cortisol fetal a nível celular e molecular, com consequente maturação dos órgãos e parto. Entretanto, caso o aumento de cortisol ocorra antes ou em níveis excessivos, pode levar ao retardo do crescimento fetal (LESTER, 2005; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Como a duração da gestação varia entre 320-365 dias é difícil determinar o dia do parto e a sua indução antes dessa janela de amadurecimento gera potros não viáveis (LEBLANC; MACPHERSON; SHEERIN, 2004).

Com o aumento da atividade adrenocortical no pré-parto, é normal encontrar altas concentrações de cortisol e ACTH plasmáticos nos neonatos em suas primeiras horas de vida, com a responsividade da adrenal ao ACTH sendo máxima ao nascimento e diminuindo no período neonatal (SILVER et al., 1984; LESTER, 2005;

FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Em potros maduros, a concentração de cortisol aumenta nas duas primeiras horas de vida e cai para valores basais nas 24 horas seguintes (SILVER, 1990; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Já o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) só se eleva no dia do parto, diminuindo para níveis basais em até oito horas após o nascimento (FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). Em prematuros nota-se que a concentração plasmática de ACTH é maior do que a normal e continua a aumentar no pós parto, já que a concentração de cortisol que há nesses indivíduos não é suficiente para exercer um feedback negativo na adenohipófise (SILVER et al., 1984; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012).

Além de refletir maturidade, tais concentrações podem variar em resposta a afecções (LESTER, 2005). Potros que passaram por estresse oriundo de doença, como sepse, apresentam concentrações maiores de cortisol total, com este valor sendo mais elevado naqueles indivíduos que não sobreviveram (PANZANI et al., 2009; HART; BARTON, 2011). Já os potros nascidos prematuramente têm menor concentração de cortisol (< 3 µg/dL) nas primeiras duas horas pós parto comparado com potros maduros (12-14 µg/dL) (ROSSDALE; OUSEY; COTTRILL, 1991).

Em trabalho recente avaliando potros nascidos de éguas com placentite, Muller et al. (2019) encontraram menor concentração de cortisol no pós parto imediato dos animais de alto risco e os que não sobreviveram, indicando falta de ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal. Os prematuros gerados antes do aumento do cortisol apresentam hipoadrenocorticismo, apesar de apresentarem tamanho condizente com o período gestacional. Entretanto, os potros prematuros que são pequenos para a idade gestacional podem ter atividade adrenocortical normal ou aumentada (OUSEY et al., 2004).

A elevação do cortisol pré-parto se associa a eventos maturacionais como aumento das concentrações de enzimas essenciais para a gliconeogênese, sistema renina-angiotensina e secreção de adrenalina, desenvolvimento pulmonar e intestinal, respostas ao estresse, ações anti-inflamatórias e supressão imune (SILVER et al., 1984; FOWDEN; MUNDY; OUSEY, 1991; OUSEY, 2010).

Concomitante ao aumento do cortisol na última semana de gestação há também mudança na relação neutrófilo: linfócito de 1:1 para 4:1 e um dramático aumento nos hormônios da tireoide (JEFFCOTT; ROSSDALE; LEADON, 1982; LEBLANC; MACPHERSON; SHEERIN, 2004).

2.2.2 T_3, T_4 e TSH

Localizada dorsalmente aos terceiros e sextos anéis da traqueia, a glândula tireoide dos equinos é composta por dois lobos unidos por um estreito istmo, se originando de uma protuberância do assoalho da faringe no início do desenvolvimento embrionário (FRANK; SOJKA; MESSER, 2002; FORHEAD; FOWDEN, 2014). O seu epitélio contém folículos que são revestidos por células especiais, os tireócitos, secretores da glicoproteína tireoglobulina cuja base é o aminoácido tirosina que será precursora dos hormônios tireoidianos. Ao ser irrigada pelo sangue arterial, a tireoglobulina recebe iodo e uma ligação covalente é formada pela porção de tirosina e a molécula de iodo, servindo como base para a produção de diiodotirosina (DIT) e monoiodotirosina (MIT) que se ligam para formar tanto a tiroxina (T_4) quanto a triiodotironina (T_3) (SCHMALTZ, 2012).

No estágio fetal, o iodo é transportado ativamente da circulação materna pela placenta, permitindo assim a síntese hormonal. A transferência dos hormônios tireoidianos da mãe para o feto varia entre as espécies e, em ovelhas, que assim como os equinos possuem placenta do tipo epiteliocorial, parece não haver tal transporte (FORHEAD; FOWDEN, 2014).

O desenvolvimento da glândula pode ser dividido em duas etapas, com a primeira envolvendo a própria embriogênese e a do eixo hipotalâmico-hipofisário-tireoidiano, e a segunda a capacidade de regular e produzir hormônios para a circulação fetal (FORHEAD; FOWDEN, 2014; POLAK, 2014).

A secreção de T_4 e T_3 e de baixas quantidades de T_3 reverso (rT_3), é estimulada pela tireotrofina (hormônio estimulador da tireoide-TSH) liberada pela adenohipófise, sendo esta regulada pelo hormônio liberador de tireotrofina (TRH) do hipotálamo (BREUHAUS, 2011). Mais de 99% do T_3 e T_4 é transportado ligado à proteínas, principalmente à globulina ligadora de tiroxina (TBG), além da albumina e transtirretina, todas produzidas pelo fígado (OUSEY, 2010; SCHMALTZ, 2012). Apesar de só as frações livres serem metabolicamente ativas, a ligação com as proteínas ajuda a manter uma reserva de hormônios prontos para serem disponibilizados e previne os hormônios circulantes de serem rapidamente excretados pelos rins, que só excreta T_3 e T_4 livres (BREUHAUS, 2011).

A maioria dos hormônios tireoidianos são secretados na forma de T_4 sendo a meia vida deste maior (seis dias) do que a de T_3 (um dia), com a baixa afinidade do

T_3 às proteínas refletindo em maior concentração livre no sangue (FRANK; SOJKA; MESSER, 2002). Na vida fetal, T_4 é revertida em T_3 reverso gerando níveis indetectáveis de T_3 na circulação, concomitante a altas concentrações de T_4 e rT_3.

Uma vez dentro da célula alvo, a maioria da tiroxina sofre desiodação, ou seja, T_4 é convertida em T_3, com este se ligando aos receptores dos hormônios tireoidianos e ativando a transcrição genética (SCHMALTZ, 2012). O processo de conversão é regulado por três enzimas deiodinase (tipo I, II e III), expressas em diferentes tecidos, particularmente no fígado, rins, cérebro e placenta (FISHER; POLK, 1989; OUSEY, 2010). Além disso, *in utero*, o T_4 é metabolizado em formas biológicas inativas sulfatadas, podendo haver reversão do processo (WU et al., 1992; FORHEAD; FOWDEN, 2014).

O feto cresce em um ambiente termoneutro constante e a tireoide supre os requerimentos do metabolismo basal; todavia não é requerida para aumentar sua taxa de secreção em resposta à mudanças agudas na taxa de metabolismo (LIGGINS, 1994). Em geral, as concentrações dos hormônios tireoidianos são menores durante a gestação se comparadas ao pós parto, já que o metabolismo é menor e a termorregulação é controlada pela mãe (OUSEY, 2010).

Para a produção de calor, T_3 é cerca de três vezes mais potente do que a T_4, com rT_3 inerte. Ao nascimento a exposição a um ambiente mais frio ativa o mecanismo que favorece a produção de T_3 em detrimento ao rT_3, com a concentração de T_3 aumentando nas primeiras horas pós-parto e diminuindo para os níveis de T_4 posteriormente (IRVINE, 1984; SILVER et al., 1991; OUSEY, 2010). As concentrações de T_4 são mais altas durante a gestação e assim permanecem no pós-parto (SILVER et al., 1991).

Dentre as espécies domésticas, os equinos possuem uma das maiores concentrações de hormônios tireoidianos circulantes, com o nível ao nascimento sendo de 10-20 vezes maior que dos adultos (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004). O aumento de T_3 que ocorre no pré-parto é concomitante ao de cortisol, já que este estimula a desiodação da T_4 no fígado a partir da mudança da enzima deoidinase tipo III para I (WU et al., 1978; LIGGINS, 1994; FOWDEN; FORHEAD, 2009; OUSEY, 2010). Junto com o cortisol, T_3 parece ser crítico para maturação do pulmão e ambos são requeridos para que a epinefrina e cAMP induzam a absorção do líquido pulmonar, agindo sinergicamente via mecanismos de síntese

proteica (BARKER et al., 1991; RAMMINGER et al., 2002; FORHEAD; FOWDEN, 2014).

A nutrição da mãe é um dos principais fatores que pode influenciar na concentração dos hormônios tireoidianos do neonato e, em adultos, esta também pode ser alterada por doenças, medicamentos e hormônios que alteram a ligação as proteínas carreadoras (MESSER et al., 1998; BREUHAUS, 2011). Em neonatos a dificuldade de quantificar os hormônios é ainda maior já que a afinidade de ligação deles às proteínas carreadoras é altíssima e os níveis hormonais oscilam bastante ao longo das primeiras horas pós-parto (IRVINE, 1984).

Há ação direta dos hormônios tireoidianos sobre o metabolismo fetal, especialmente no consumo de oxigênio (O_2) e glicose (FORHEAD; FOWDEN, 2014). Em ovinos, a infusão de T_3 na circulação fetal aumentou o consumo de oxigênio juntamente com a capacidade cardíaca e o fluxo sanguíneo do cordão umbilical (LORIJN; LONGO, 1980; LORIJN; NELSON; LONGO, 1980).

Dentre as diversas funções fisiológicas envolvidas com a presença dos hormônios tireoidianos, podemos salientar:

i. síntese e liberação de surfactantes (OLVER; SCHNEEBERGER; WALTERS, 1981; WILSON; OLVER; WALTERS, 2007; HILLMAN; KALLAOUR; JOBE, 2012);
ii. regulação da expressão da enzima conversora de angiotensina no endotélio pulmonar (FORHEAD; FOWDEN, 2014);
iii. maturação das células do miocárdio (THORNBURG et al., 2011);
iv. gliconeogênese (FOWDEN; FORHEAD, 2009);
v. aumento da capacidade termogênica do tecido marrom (HILLMAN; KALLAOUR; JOBE, 2012; FORHEAD; FOWDEN, 2014);
vi. mielinização dos neurônios (IRVINE, 1984).

Nos trabalhos em que há associação entre viabilidade do neonato e concentração hormonal os autores encontraram uma relação clara entre menores concentrações de T3 e prematuridade, além da correlação direta entre cortisol e T3 (SILVER et al., 1991). Os potros considerados maduros, apresentando ao nascimento concentração de cortisol dentro da normalidade, foram os que exibiram o aumento de T3 mais rápido no pós-parto. Já a concentração de T4 não apresentou diferença entre os neonatos maduros, dismaturos e prematuros (SILVER et al., 1991).

O momento durante o qual o hipotireoidismo ocorre vai determinar os sinais clínicos no potro, sendo incoordenação, reflexo de sucção fraco, hipotermia e desordens musculoesqueléticas os principais (IRVINE, 1984). Dentre as alterações musculoesqueléticas prognatismo, deformidades flexurais nos membros torácicos e pélvicos, ruptura do tendão extensor digital comum, ossificação anormal/ retardatária dos ossos do carpo e do tarso, deformidades angulares e articulações frouxas são as mais encontradas (ALLEN et al., 1995). Potros que passaram por tireoidectomia parcial *in utero* nasceram com pelagem imatura, fracos, incapazes de se manter em pé e apresentando atraso na maturação esquelética (ALLEN et al., 1998). Com isto os efeitos de hipotireoidismo em neonatos são bem mais severos do que em adultos já que as ações dos hormônios tireoidianos são cruciais para o desenvolvimento dos sistemas nervoso e esquelético (FRANK; SOJKA; MESSER, 2002).

2.3 USO DOS PROGESTÁGENOS EM ÉGUAS

Os progestágenos são muito utilizados na reprodução equina e, dentre as diversas finalidades, podemos citar como as mais importantes a manipulação do ciclo estral, suplementação do terço inicial da prenhez para evitar uma perda gestacional e como parte do tratamento da placentite.

2.3.1 Preparação de receptoras acíclicas

Os progestágenos geralmente são usados para controlar o ciclo estral durante o período de transição do anestro para a estação de monta (e vice versa), para adiantar a primeira ovulação do ano e para sincronizar receptoras não ciclantes (PINTO, 2011). Esta sincronização consiste em monitorar os ovários regularmente via ultrassom e administrar hormônios para mimetizar o ciclo fisiológico (BOTELHO et al., 2015). Usualmente éguas não cíclicas recebem estrógenos e, após observação de edema endometrial, progesterona natural de longa ação ou altrenogest são aplicados para que haja progesterona em concentração suficiente (>2,5ng/mL) no momento da TE (MCKINNON et al., 1988; ROCHA FILHO et al., 2004; BOTELHO et al., 2015; GRECO et al., 2016; SILVA et al., 2016). É necessário que o trato reprodutivo tenha exposição prévia aos estrógenos para que haja indução dos receptores de progesterona (NISWENDER et al., 2000). Assim, os tratamentos hormonais permitem

sincronizar éguas receptoras com as doadoras de embrião, maximizando o uso das receptoras e diminuindo o número de exames ultrassonográficos (OLIVEIRA et al., 2018).

Devido a sua praticidade de aplicação, sendo necessária apenas uma aplicação de 1500 mg por semana ou 3000 mg a cada quinze dias, a progesterona de longa ação que contem 300 mg/mL é a mais utilizada no país (GRECO; DELL'AQUA JR; ALVARENGA, 2009). Em estudo retrospectivo, Rocha Filho et al. (2004) compararam as taxas de prenhez de receptoras cíclicas e não cíclicas, preparadas com progesterona de longa e curta ação, durante o período de transição em três diferentes estações de monta. Segundo os resultados obtidos, as taxas de prenhez e de perda embrionária foram semelhantes nos dois grupos, independentemente do tipo de progesterona usada. O trabalho de Greco et al. (2016) corrobora com o achado, mostrando que receptoras cíclicas e acíclicas tratadas com progesterona de longa ação apresentam taxas satisfatórias de prenhez, semelhantes aquelas obtidas para o ciclo natural.

Na prática, independente do protocolo hormonal utilizado para se obter a sincronização do estro, a administração do progestágeno perdura desde o momento do diagnóstico até os 120 dias de prenhez já que entre os dias 40 e 120 de gestação é certo que o alantocórion sintetiza os hormônios capazes de manter a gestação, tal como a 5α-dihidroprogesterona (HOLTAN; NETT; ESTERGREEN, 1975; SILVA et al., 2014). Já foi comprovado, todavia, que a presença de corpo lúteo suplementar no dia gestacional 70 permite que a suplementação seja interrompida (SILVA et al., 2014).

2.3.2 Perda gestacional precoce

As perdas gestacionais precoces são aquelas que ocorrem entre a fertilização e os dias 40 a 60 de gestação, sendo as maiores taxas detectadas em éguas com mais de 18 anos (VANDERWALL, 2008). Esta incidência de perda é de 5 a 10%, com a grande maioria (77%) ocorrendo até o 35º dia de prenhez (VANDERWALL, 2008; ROSE et al., 2018b). Em estudo retrospectivo onde foram analisadas criações intensivas de equinos em diferentes estações, Rose et al. (2018) encontraram que somente 83% de todas as prenhezes diagnosticadas no dia 15 irão resultar em um potro vivo.

Crescimento e desenvolvimento insuficiente do concepto são as principais causas de perdas precoces (GINTHER et al., 1985; ADAMS et al., 1987; BERGFELT; WOODS; GINTHER, 1992; WILLMANN et al., 2011a), que podem ser divididas em:

i. influências externas que causam impacto no desenvolvimento inicial, como nutrição, medicamentos administrados e exposição aos patógenos (ROSE et al., 2018a);
ii. causas inerentes ao embrião, como problemas genéticos (ROSE et al., 2018a);
iii. causas inerentes à égua ("fatores intrínsecos") como problemas no endométrio e anormalidades oocitárias (ROSE et al., 2018a).

Concentrações reduzidas de progesterona são associadas com perda embrionária precoce e podem envolver luteólise induzida por endometrite, falha do concepto em bloquear luteólise ou insuficiência luteal primária (GINTHER et al., 1985; ADAMS et al., 1987; BERGFELT; WOODS; GINTHER, 1992).

A insuficiência luteal primária é o único fator que ainda gera controvérsia quanto à ocorrência, mas que é tido como verdade. Há uma tendência natural em se acreditar que a grande causadora da perda embrionária é a falta de progesterona já que esse déficit pode ser corrigido farmacologicamente. Contudo não há evidência que a funcionalidade do corpo lúteo seja responsável pela perda (STOUT, 2014).

Em estudos mais antigos, como o de Irvine et al. (1990), a concentração de progesterona da grande maioria das éguas que não se mantiveram prenhez (82%) até os 42 dias pós inseminação não caiu até que a perda embrionária de fato ocorresse (BERGFELT; WOODS; GINTHER, 1992). Somente uma das éguas teve queda de progesterona anterior a perda embrionária, sugerindo que a falha luteal não foi a causadora das demais perdas (IRVINE et al., 1990).

Por outro lado, há o relato de Canisso et al. (2013) sobre uma égua prenhe que sofreu regressão do corpo lúteo, com vesícula embrionária pequena para o período gestacional e concentração de progesterona menor do que a necessária para se manter a gestação. A prenhez foi suplementada com altrenogest e acabou resultando em um potro saudável.

Ao analisarem perdas naturais de prenhez, Betteridge et al. (2018) encontraram que metade das éguas (5/11) apresentaram baixa concentração de progesterona no momento da perda ou antes que ela de fato ocorresse. Entre os casos relatados, uma

vesícula embrionária havia apresentado crescimento insuficiente e uma das éguas que perderam foi diagnosticada com endometrite.

A suplementação com progestágenos pode evitar a perda embrionária precoce se a égua mostrar sinais de retorno ao cio mesmo com a presença de um concepto aparentemente normal no útero, se tem histórico de perdas associadas com a lise do corpo lúteo primário, está com endotoxemia ou passou por estresse agudo severo que pode comprometer a manutenção do corpo lúteo (STOUT, 2014). Progestágenos também podem salvar gestações comprometidas experimentalmente por luteólise induzida por prostaglandinas (KASTELIC; ADAMS; GINTHER, 1987; BETTERIDGE et al., 2012), permitem a gestação em éguas em que a funcionalidade do corpo lúteo foi anulada por tratamento com prostaglandina após ovulação recente (LEISINGER et al., 2016) e pode manter o desenvolvimento inicial de embriões transferidos em éguas receptoras ovariectomizadas (HINRICHS; SERTICH; KENNEY, 1986).

Ainda assim, há controvérsias sobre o quanto a perda embrionária precoce pode ser diminuída ao se utilizar progestágenos (BETTERIDGE et al., 2018).

2.3.3 Placentite

A placentite ascendente ocorre quando a bactéria migra pelo trato reprodutivo desde a vagina, passando pela cérvix, e causa infecção na região de estrela cervical do corioalantoide (MACPHERSON, 2005; CUMMINS et al., 2008). Essa condição é vista no período final da gestação, principalmente entre o oitavo e décimo mês (CUMMINS et al., 2008).

Segundo Leblanc (2004), a placentite é associada ao aumento das citocinas no tecido fetal ou placentário, aumento de prostaglandinas nos fluidos fetais, parto prematuro e maturação acelerada do feto. O seu tratamento consiste em controlar a infecção bacteriana da placenta e do feto, manter a quiescência miometrial e bloquear a produção de citocinas pró inflamatórias, visando prolongar a gestação para obter um feto desenvolvido e maduro (LEBLANC, 2010; CANISSO, 2015). Devido a uma maturação precoce da glândula, o estresse fetal causado pela afecção leva ao nascimento de neonatos prematuros que tem baixo peso mas função adrenocortical normal (ROSSDALE; OUSEY; COTTRILL, 1991; ALLEN et al., 2002; FOWDEN; FORHEAD; OUSEY, 2012). A ativação prematura do eixo hipotalâmico-hipofisário-

adrenal pôde ser comprovada com a alta concentração de cortisol mensurada nos fluidos fetais (MULLER et al., 2019).

O objetivo de associar progestágenos ao tratamento da placentite é contrabalancear o potencial de contração uterina induzida pela inflamação, com *downregulation* dos receptores de ocitocina e prostaglandina (LEBLANC, 2010; TROEDSSON; MACPHERSON, 2011). Sem os receptores a formação de junções do tipo *gap* podem ser inibidas a contratilidade uterina evitada (GARFIELD; KANNAN; DANIEL, 1980; TROEDSSON; MACPHERSON, 2011).

A estratégia de se associar progestágenos se mostrou eficaz em estudo conduzido por Bailey et al. (2010) utilizando o dobro da dose comprovadamente eficaz para controlar o ciclo estral (0.044mg/kg). Em tal estudo, éguas do grupo tratamento tiveram maior tempo de gestação se comparadas ao grupo controle.

Apesar de não haver diferença estatística, Muller et al. (2019), encontraram que a média de gestação das éguas tratadas com antibiótico e altrenogest juntos é 13 dias menor do que nos grupos em que não se utilizou o progestágeno.

2.4 TIPOS DE PROGESTÁGENOS

O termo progestágeno se refere ao grupo de derivados esteroides de 21 carbonos (C21), naturais ou sintéticos, que assim como a progesterona se liga aos receptores de progesterona e, assim, exerce efeitos pró-gestacionais (PINTO, 2011). Estes hormônios esteroides são produzidos por uma variedade de tecidos, incluindo ovários, útero, placenta e glândulas adrenais (OUSEY, 2004).

2.4.1 Progesterona

Seja ela em sua forma natural ou sintética, a progesterona é a maior responsável pela quiescência miometrial e por levar a gestação a termo (OUSEY, 2006). A quiescência é possível por um aumento do potencial do repouso e prevenção de ligações elétricas entre as células miometriais, além da diminuição da oferta de cálcio extracelular (PARKINGTON, 1983; BATRA, 1986; NISWENDER et al., 2000). Outros mecanismos que favorecem a quiescência são o bloqueio da ligação do estrógeno aos receptores α-adrenérgicos, responsáveis por induzir contrações, e a

inibição das formação de junções do tipo *gap* (GARFIELD; KANNAN; DANIEL, 1980; BOTTARI et al., 1983; NISWENDER et al., 2000).

A progesterona injetável, progesterona natural preparada como solução oleosa, é formulada para liberar a alta dose (300mg/mL) em taxa controlada por 7-10 dias, alcançando concentrações séricas ≥2ng/mL (PINTO, 2011).

O fato do nível plasmático de progestágenos estar aumentado em potros prematuros, dismaturos e em condições clínicas desfavoráveis à sobrevida sugerem a interferência desses hormônios no desenvolvimento do sistema imunitário do potro neonato (ROSSDALE et al., 1995).

Em humanos já foi demonstrado que a suplementação com progesterona leva a uma diminuição das respostas pró-inflamatórias e citotóxicas das células T, com tais efeitos sendo obtidos via alteração da memória das células T-antígenos e regulação da migração leucocitária (SHAH et al., 2018).

2.4.2 Altrenogest

O altrenogest é um progestágeno sintético andrógeno e anabólico derivado do esteroide 19-nortesterona (HODGSON et al., 2005; MACHNIK et al., 2007; PINTO, 2011). É um dos poucos progestágenos sintéticos capazes de manter a prenhez (dose de 0,044mg/kg/dia) em éguas ovariectomizadas ou cíclicas que receberam injeções de prostaglandina F2 alfa (MCKINNON et al., 1993; MCKINNON, 2000). Seu efeito pró gestacional se dá pela interação com os receptores de progesterona e uma ligação com outros receptores esteroides também é provável (MACHNIK et al., 2007). Comprovadamente é um agonista dos receptores de progesterona mais potente do que a própria P4 (MCROBB et al., 2008; FEDORKA et al., 2019).

No trabalho pioneiro sobre a eficácia do altrenogest foi demonstrado que não há efeito do tratamento sobre os eventos do parto, viabilidade e crescimento do neonato, com a administração do progestágeno sendo interrompida no dia gestacional 320 (SHOEMAKER; SHIDELER, 1989).

Willmann et al. (2011b) encontraram influência positiva da suplementação de éguas velhas sob o crescimento do feto, além de identificarem proteína dos receptores de progesterona no embrião equino de 11 dias o que pode indicar ação direta dos progestágenos sobre o concepto. Também foi demonstrando que o altrenogest

antecipa a *downregulation* dos receptores de progesterona que ocorre no diestro (WAELCHLI; BETTERIDGE, 1996; BUDIK et al., 2008; WILLMANN et al., 2011a).

Fedorka et al. (2019) conduziram o único estudo até o momento sobre efeito imunomodulador da suplementação com altrenogest em éguas vazias, avaliando a função linfocitária, expressão de citocinas in vitro, alterações sistêmicas e locais e a habilidade do hormônio se ligar aos receptores de glicocorticoides. Observou-se efeito local e sistêmico nos animais suplementados, com alteração nas concentrações de citocinas inflamatórias, em especial IFN-γ. O progestágeno não foi capaz, entretanto, de ativar os receptores de glicocorticoides.

Em trabalho com metodologia semelhante à nossa, Palm et al. (2010) iniciaram as aplicações de altrenogest (Regumate, 0.088 mg/kg) nas éguas prenhes no dia 280 de gestação, mensurando posteriormente as concentrações do hormônio no plasma da mãe e do neonato e nos líquidos alantoidiano e amniótico. Foi encontrada uma menor concentração de altrenogest no plasma das mães em relação aos neonatos, com valor significantemente maior do que a do líquido amniótico. Tal trabalho foi de grande importância por comprovar a capacidade que a progestina tem de ultrapassar a placenta e atingir o feto (PALM et al., 2010). Porém, há poucas informações dos efeitos do composto sobre a viabilidade dos potros nascidos das éguas suplementadas, além da ausência de estudos sobre a sua segurança (NEUHA USER et al., 2009).

3 HIPÓTESE

A suplementação de éguas prenhes com progestágenos afeta os níveis hormonais do neonato.

4 OBJETIVOS

- Avaliar os níveis hormonais dos neonatos no pós-parto imediato de éguas submetidas a diferentes protocolos de suplementação com progestágenos.
- Estabelecer correlação entre as concentrações de progesterona da mãe com os níveis hormonais de progesterona do neonato.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi aprovado e desenvolvido de acordo com as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob o número 9874130317.

5.1 ANIMAIS

As 27 éguas prenhes e seus respectivos potros do estudo são da raça Mangalarga Marchador, residentes do haras Winners Factory localizado no município de São Roque/SP. Os animais foram mantidos em piquetes de coast-cross onde também receberam ração balanceada duas vezes ao dia e água ad libitum. As éguas foram vacinadas contra a rinopneumonite equina (Herpes Horse, Laboratórios Vencofarma do Brasil) nos 5º, 7º e 9º mês de gestação. No nono mês receberam vacina contra tétano, encefalomielite e influenza (Lexington, Laboratórios Vencofarma do Brasil), de acordo com as recomendações do fabricante.

Os animais foram usados exclusivamente para o experimento. Todas as éguas foram inseminadas com o mesmo garanhão durante a estação de monta 2014/15 e submetidas ao mesmo manejo. A prenhez foi acompanhada e os partos assistidos.

5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os cinco grupos experimentais foram:

GRUPO 1 (Controle) - éguas não suplementadas com hormônios (n=9): éguas prenhes que não foram submetidas a suplementação com hormônios exógenos.

GRUPO 2 - Receptoras não ciclantes suplementadas (“ciclo artificial’’) (n=4): Receptoras não ciclantes receberam cipionato de estradiol 10 mg, por via intramuscular profunda (IM) (ECP; Pharmacia and Upjohn Co., Kalamazoo, Michigan, USA) por três dias após a ovulação da doadora de embrião. No quarto dia foi realizada administração de 1500 mg (IM) de progesterona natural longa ação P4 (P4 LA 150; Botupharma, Botucatu, Brasil). Uma vez que o embrião foi recuperado no oitavo dia após a ovulação da doadora, foi realizada outra aplicação de P4-LA na receptora e a transferência de embrião. Quando houve confirmação da gestação, foi realizada a aplicação de P4-LA a cada 7 dias até os 120 dias de gestação.

GRUPO 3 - Suplementação hormonal (P4-CA) - a partir de 280 dias de gestação (n=5): Éguas gestantes receberam 225 mg IM de progesterona natural de curta ação (P4-CA Botupharma, Botucatu, Brasil) uma vez ao dia a partir dos 280 dias de gestação até o nascimento do potro.

GRUPO 4 - Suplementação hormonal (P4 - LA) - a partir de 280 dias de gestação (n=5): Éguas gestantes receberam 1500 mg IM de progesterona natural de longa ação (P4-LA Botupharma, Botucatu, Brasil) uma vez por semana a partir dos 280 dias de gestação até o nascimento do potro.

GRUPO 5 - Suplementação hormonal com altrenogest - a partir de 280 dias de gestação (n=4): Éguas gestantes receberam 300 mg IM de altrenogest (Altrengest, Botupharma, Botucatu, Brasil) uma vez por semana partir dos 280 dias de gestação até o nascimento do potro.

5.3 COLETA DE SANGUE

5.3.1 Éguas

Para realização das dosagens de hormônio sérico, a coleta de sangue foi realizada por meio de punção da veia jugular em tubos BD Vacutainer® heparinizados, imediatamente após o parto (d0). O sangue foi centrifugado após a coleta a 3000 rpm por 5 minutos sendo o plasma removido e armazenado a –20ºC até a realização da análise hormonal.

5.3.2 Potros

Para as análises hormonais, amostras de sangue foram coletadas dos neonatos imediatamente após o parto. A colheita de sangue foi realizada por meio de punção da veia jugular em tubos BD Vacutainer® heparinizados. O sangue foi centrifugado imediatamente após colheita a 3000 rpm durante 5 minutos, sendo o plasma removido e armazenado a –20ºC até a realização da análise hormonal

5.4 ANÁLISE HORMONAL

5.4.1 Dosagens de progesterona das éguas (d0)

As concentrações de progesterona foram determinadas utilizando técnica de Radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, previamente validado para uso em equinos (FAY & DOUGLAS, 1987). Foram utilizados kits diagnósticos comerciais (Beckman Coulter, Immunotech/USA). Os ensaios foram realizados no Laboratório de Dosagem Hormonal–FMVZ-USP, seguindo o protocolo do fabricante.

5.4.2 Dosagens de T_3 e T_4 dos potros (d0)

As concentrações de T_3 e T_4 foram determinadas através da técnica de Radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, previamente validado para uso em equinos (ANDERSON, 1988). Foram utilizados kits diagnósticos comerciais DPC (Coat-A-Count - Diagnostic Products Corporation/USA). Os ensaios foram realizados no LDH–FMVZ-USP, seguindo o protocolo do fabricante.

5.4.3 Dosagem de TSH dos potros (d0)

As dosagens de TSH dos potros foram realizadas utilizando o método enzimaimunoensaio (ELISA), seguindo o protocolo indicado pelo Kit ELISA Ultrassensível para hormônio estimulante da tireoide (TSH) em cavalos.

5.4.4 Dosagem de progesterona e cortisol dos neonatos (d0)

As concentrações de progesterona foram determinadas por meio da técnica de Radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, previamente validado para uso em equinos (FAY & DOUGLAS,1987), utilizando kit comercial (Beckman Coulter, Immunotech/ USA).

As concentrações de cortisol foram determinadas por radioimunoensaio utilizando kit comercial DPC (Coat-A-Count - Diagnostic Products Corporation/USA).

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados pelo Minitab®19 (Minitab, LLC, 2019).

Inicialmente a normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk, mais confiável para este tipo de avaliação (RAZALI; YAP, 2011). Para os dados que não apresentaram distribuição normal (T_4 livre e TSH) foram testadas transformações, como a transformação logarítmica e o inverso da raiz. Neste caso foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para se comparar as médias.

No caso dos dados paramétricos (P4 mãe e neonato, T_3 total e cortisol), foi realizada uma análise de variância (ANOVA) para avaliar a diferença de média de cada hormônio entre os grupos, com nível de significância adotado (P) de 5%. Assim, nos casos em que a ANOVA detectou interação significativa entre os grupos ($p<0,05$), o teste Tukey *a posteriori* foi aplicado. Para maior entendimento das diferenças dos grupos tratamento em relação ao controle, foi realizado também o teste de Dunnett, adotando um intervalo de confiança de 95%.

A correlação de Pearson foi utilizada para o cálculo da relação entre as variáveis progesterona da mãe e progesterona do neonato.

6 RESULTADOS

6.1 TSH neonato

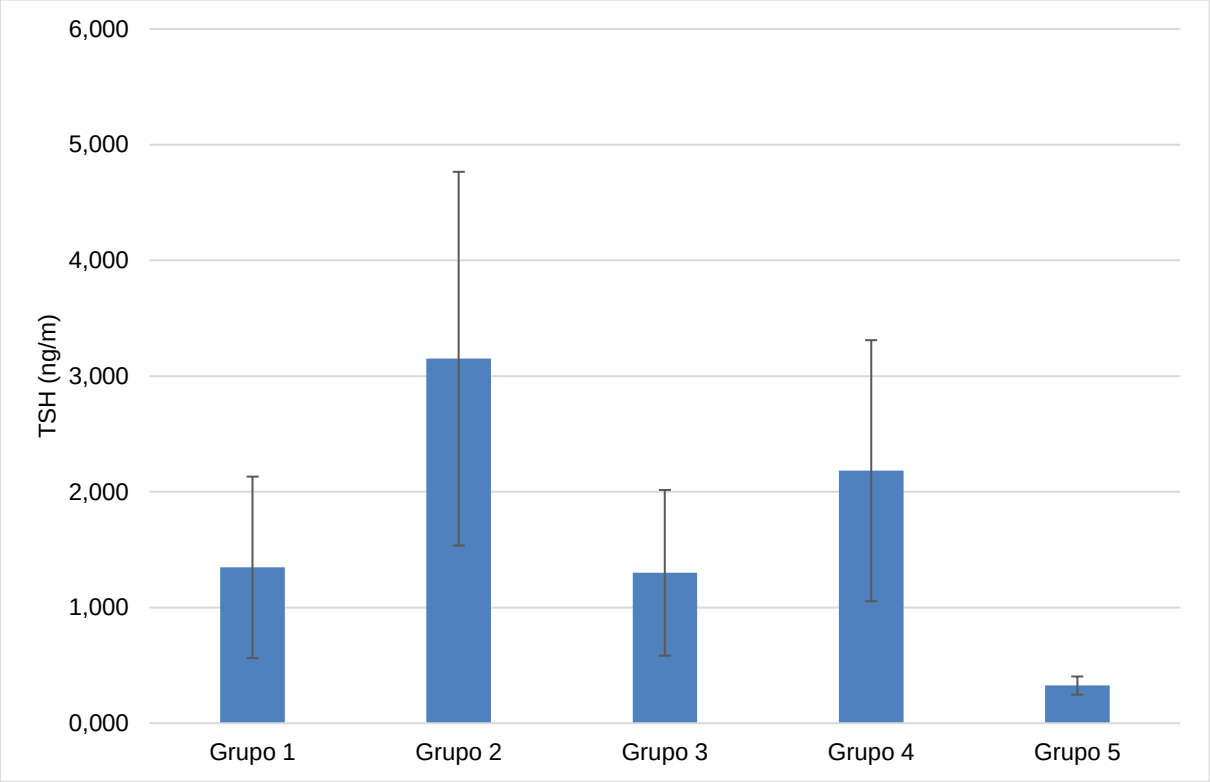
Ao se realizar o teste de Kruskal-Wallis, não foi encontrada diferença entre os grupos quanto à concentração de TSH dos neonatos ($p>0,05$) no d0 (Tabela 1, Gráfico 1).

Tabela 1 - Médias ± erro padrão da concentração de TSH (ng/mL) no d0 entre os grupos

Grupos	Média ± erro padrão
1	1,347 ± 0,784
2	3,151 ± 1,615
3	1,300 ± 0,716
4	2,182 ± 1,128
5	0,326 ± 0,079

Fonte: REDOAN (2019).

Gráfico 1 - Média e erro padrão das concentrações de TSH (ng/mL) dos grupos de neonatos no d0



Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1: controle, sem suplementação hormonal, grupo 2: éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3: éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4: éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5: éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

6.2 T_3 total neonato

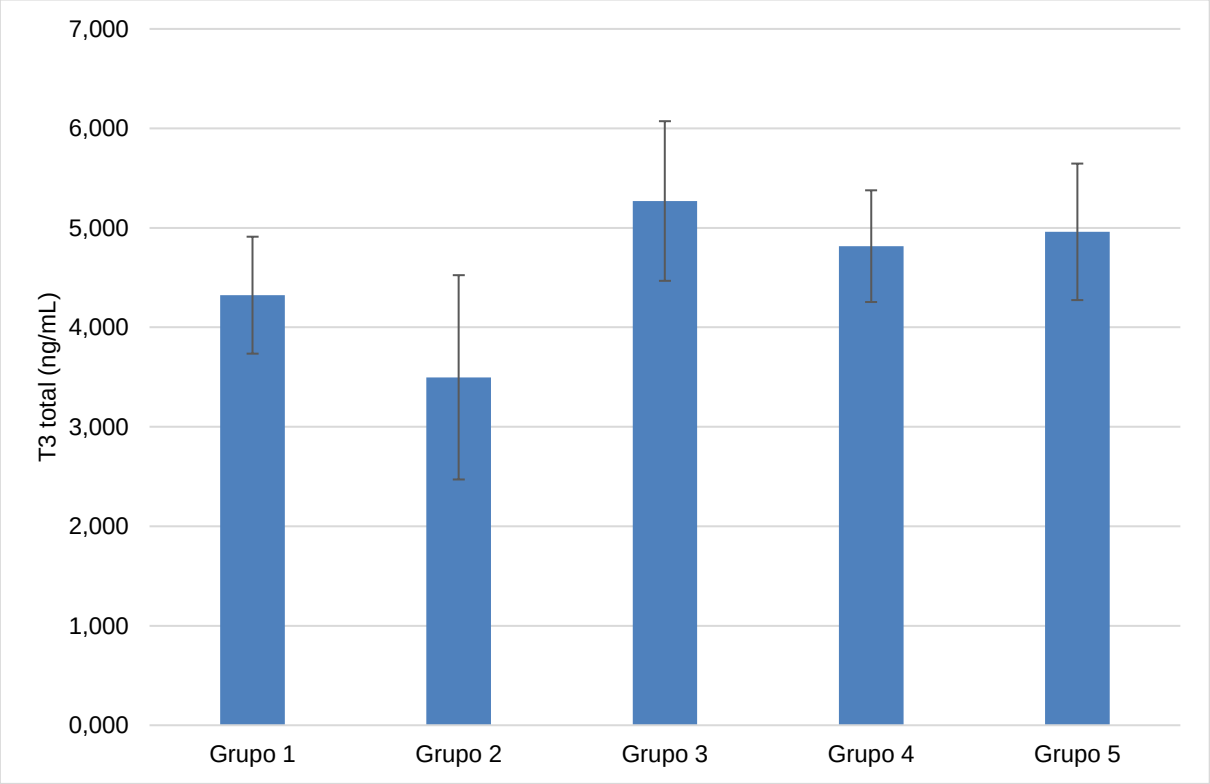
Ao se realizar a ANOVA, não foi encontrada diferença entre os grupos quanto à concentração de T_3 total dos neonatos imediatamente após o parto (p=0,464) (Tabela 2, Gráfico 2).

Tabela 2 - Médias ± erro padrão da concentração de T_3 total (ng/mL) dos neonatos no d0

Grupos	Média ± erro padrão
1	4,323 ± 0,588
2	3,498 ± 1,027
3	5,272 ± 0,802
4	4,816 ± 0,561
5	4,960 ± 0,686

Fonte: REDOAN (2019).

Gráfico 2 - Média e erro padrão das concentrações de T_3 total (ng/mL) dos neonatos no d0



Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1: controle, sem suplementação hormonal, grupo 2: éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3: éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4: éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5: éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

6.3 T_4 livre neonato

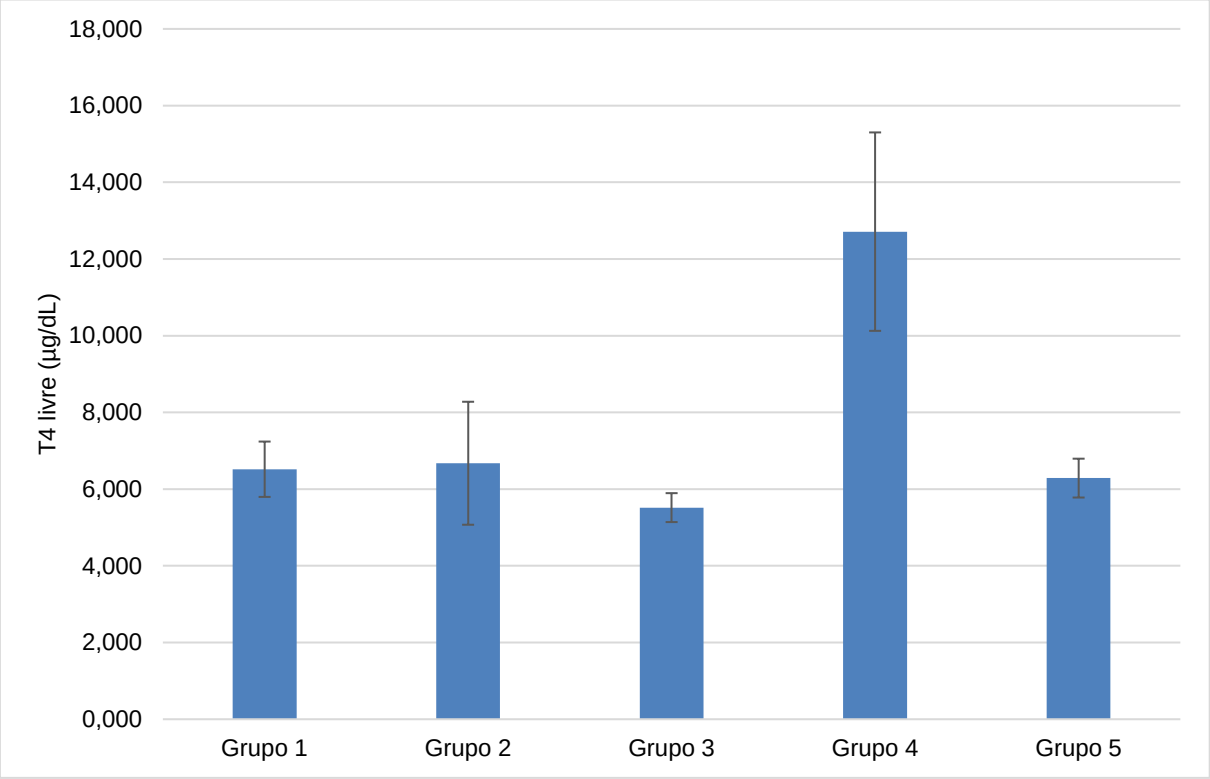
Ao se realizar o teste de Kruskal-Wallis, não foi encontrada diferença entre os grupos quanto à concentração de T_4 dos neonatos imediatamente após o parto ($p>0,05$) (Tabela 3, Gráfico 3).

Tabela 3 - Médias ± erro padrão da concentração de T_4 livre (µg/dL) dos neonatos no d0

Grupos	Média ± erro padrão
1	6,519 ± 0,722
2	6,675 ± 1,603
3	5,518 ± 0,377
4	12,714 ± 2,587
5	6,288 ± 0,506

Fonte: REDOAN (2019).

Gráfico 3 - Média e erro padrão das concentrações de T_4 livre (µg/dL) dos neonatos no d0



Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1: controle, sem suplementação hormonal, grupo 2: éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3: éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4: éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5: éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

6.4 Progesterona neonato

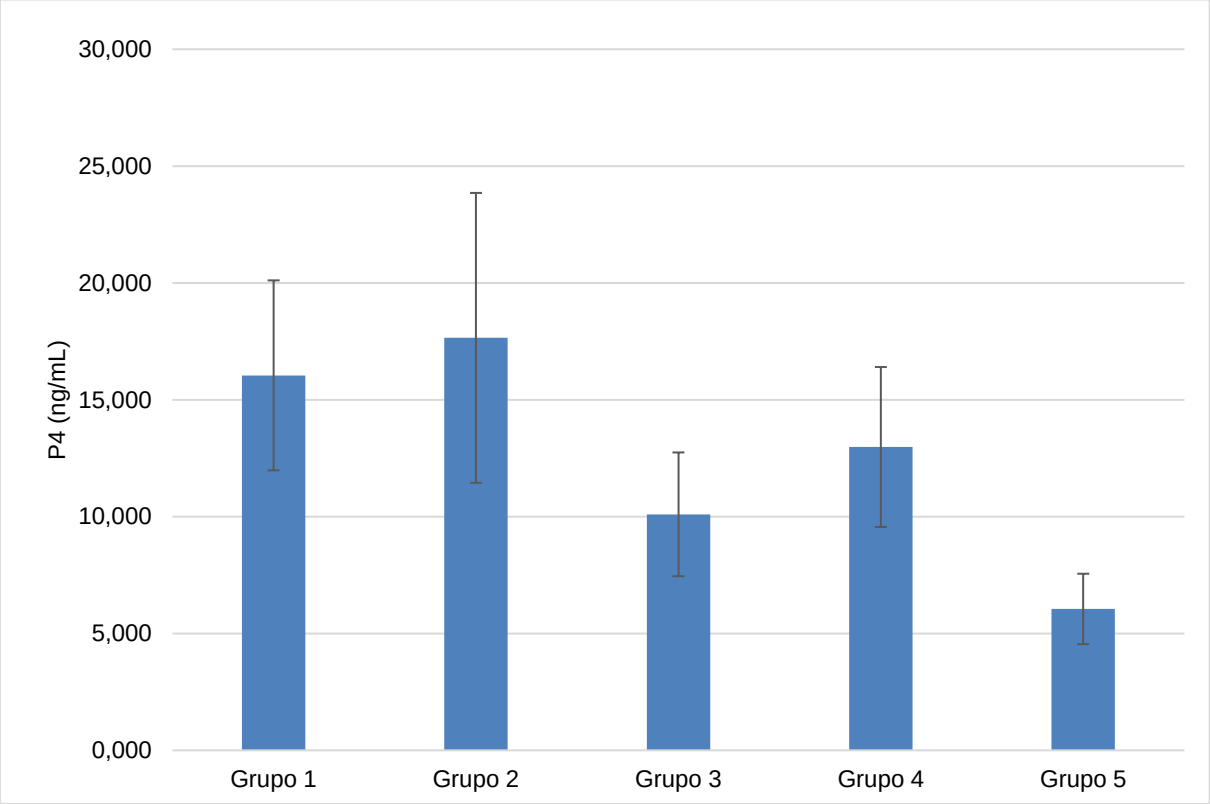
Ao compararmos as médias entre os grupos utilizando ANOVA, vimos que não houve diferença estatística entre os grupos nos valores de progesterona dos neonatos (p=0,711) no d0 (Tabela 4, Gráfico 4).

Tabela 4 - Médias ± erro padrão da concentração de P4 (ng/mL) dos neonatos no d0

Grupos	Média ± erro padrão
1	16,044 ±4,065
2	17,650±6,202
3	10,100±2,468
4	12,980±3,422
5	6,050±1,506

Fonte: REDOAN (2019).

Gráfico 4 - Média e erro padrão das concentrações de P4 (ng/mL) dos neonatos no d0



Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1: controle, sem suplementação hormonal, grupo 2: éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3: éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4: éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5: éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

6.5 P4 mãe

Em um primeiro momento a ANOVA foi capaz de identificar diferença entre os grupos quanto a concentração de progesterona das éguas imediatamente após o parto (p=0,00582) (Tabela 5, Gráfico 5).

O teste Tukey *a posteriori* foi então aplicado, porém não detectou diferença entre os grupos (p>0,05) no d0.

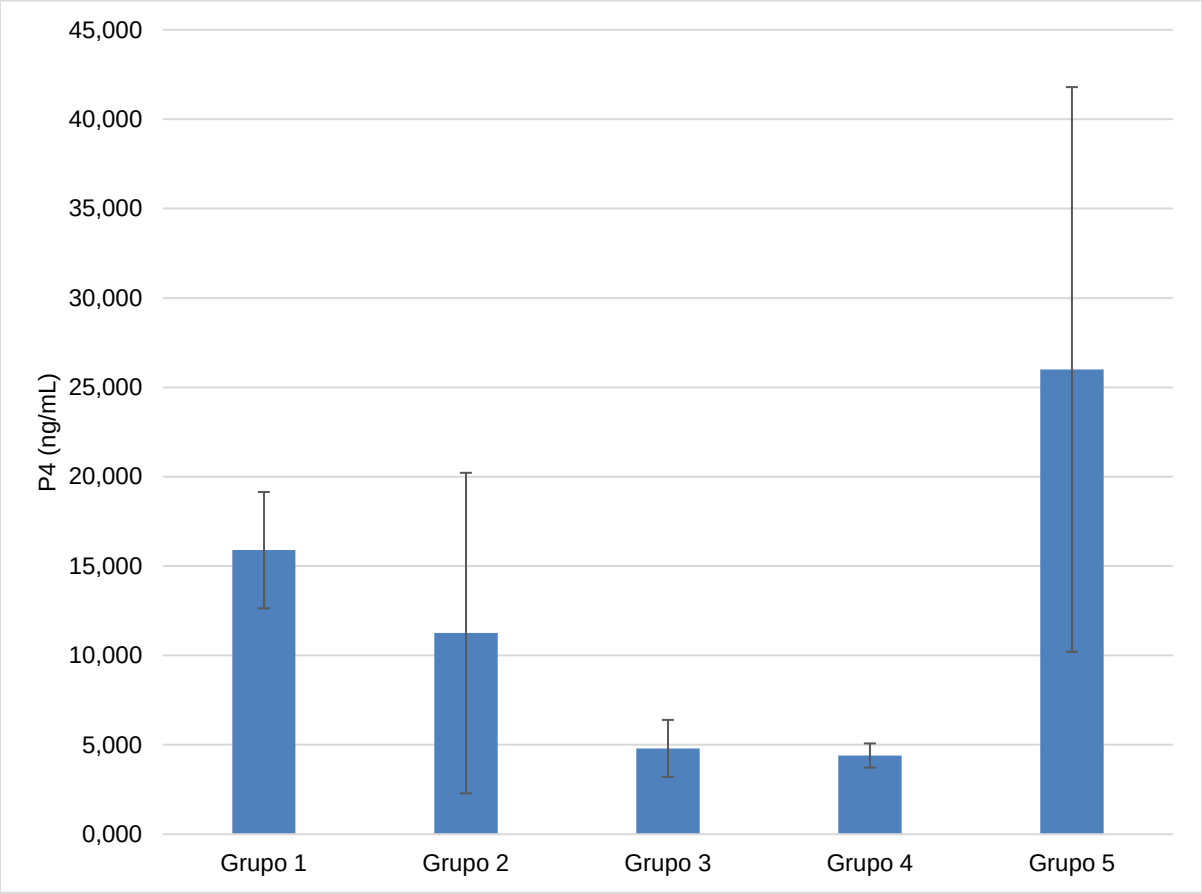
Tabela 5 - Médias ± erro padrão da concentração de P4 (ng/mL) das éguas no D0 dos diferentes grupos

Grupos	Média ± erro padrão
1	15,889 ± 3,254
2	11,250 ± 8,966

3	4,800 ± 1,594
4	4,400 ± 0,678
5	26,000 ± 15,796

Fonte: REDOAN (2019).

Gráfico 5 - Média e erro padrão das concentrações de P4 (ng/mL) das éguas no d0

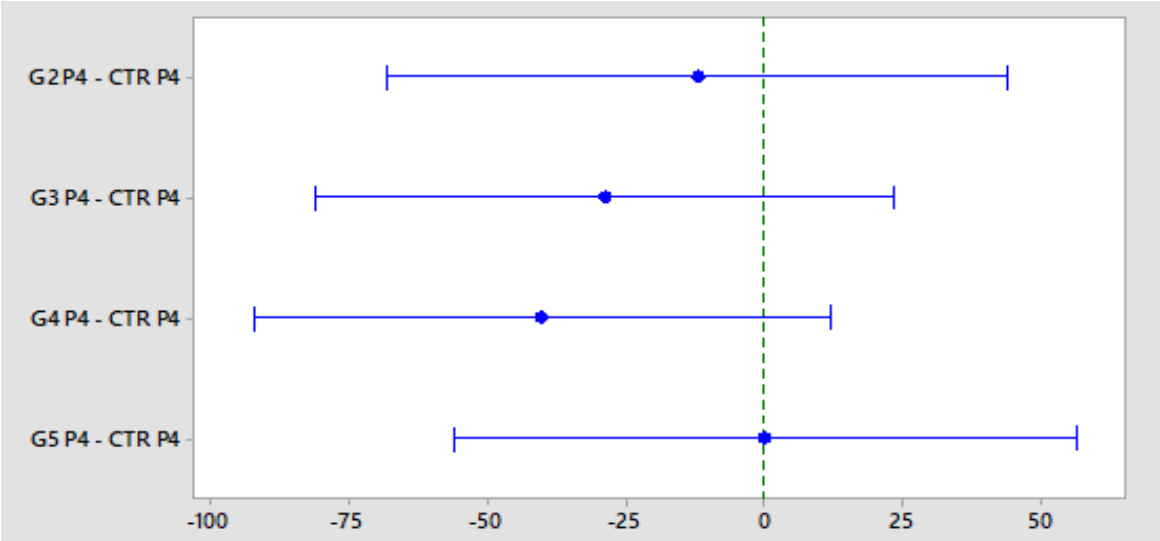


Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1: controle, sem suplementação hormonal, grupo 2: éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3: éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4: éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5: éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

Optamos pelo uso do teste de Dunnett que não encontrou diferença entre os grupos em relação ao controle ($p>0,05$) no d0 (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Diferenças das médias de P4 (ng/mL) entre o grupo controle e os demais grupos no d0, considerando intervalo de confiança de 95%



Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1 (CTR): controle, sem suplementação hormonal, grupo 2 (G2): éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3 (G3): éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4 (G4): éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5 (G5): éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

Ao usarmos a correlação de Pearson vimos que não existiu correlação entre a concentração de P4 da mãe e a concentração de P4 do neonato no d0 (coeficiente de correlação: 0,208).

6.6 Cortisol neonato

A ANOVA detectou diferença entre as concentrações de cortisol dos neonatos (p=0.000828) no d0 (Gráfico 7, Tabela 6).

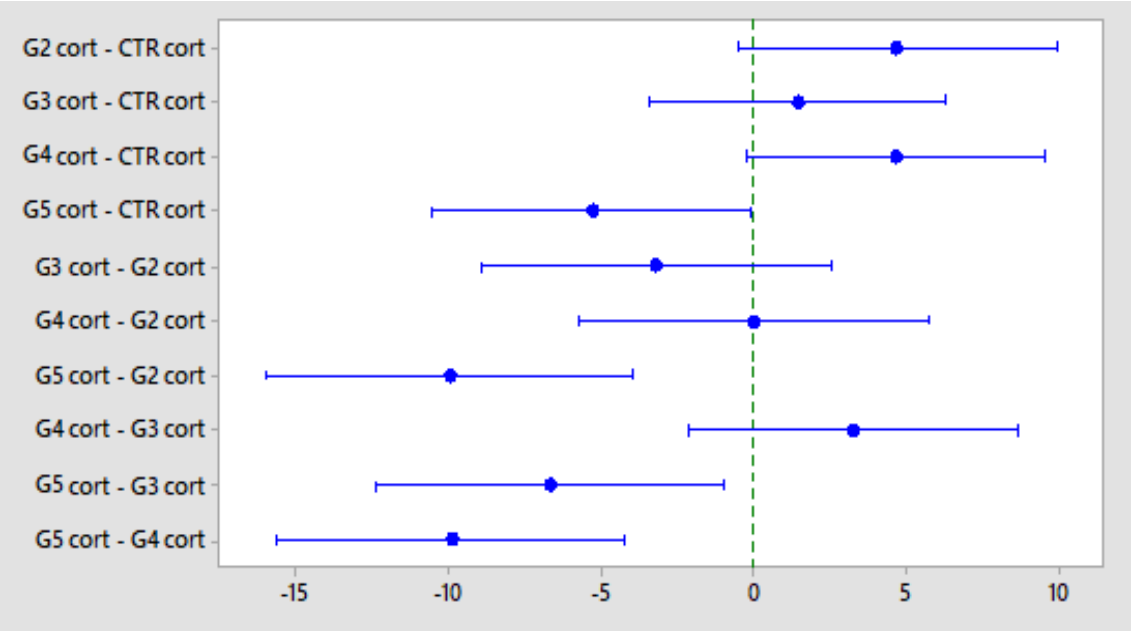
Tabela 6 - Médias ± erro padrão da concentração de cortisol (µg/dL) dos neonatos no d0

Grupos	Média ± erro padrão
1	5,889 ±,0,773
2	11,150 ± 1,087
3	7,898 ± 2,499
4	11,100 ± 0,758
5	1,168 ± 0,268

Fonte: REDOAN (2019).

O teste Tukey *a posteriori* diferenciou o grupo G5 dos demais (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Diferenças das médias de cortisol (µg/dL) dos neonatos no d0 considerando intervalo de confiança de 95%

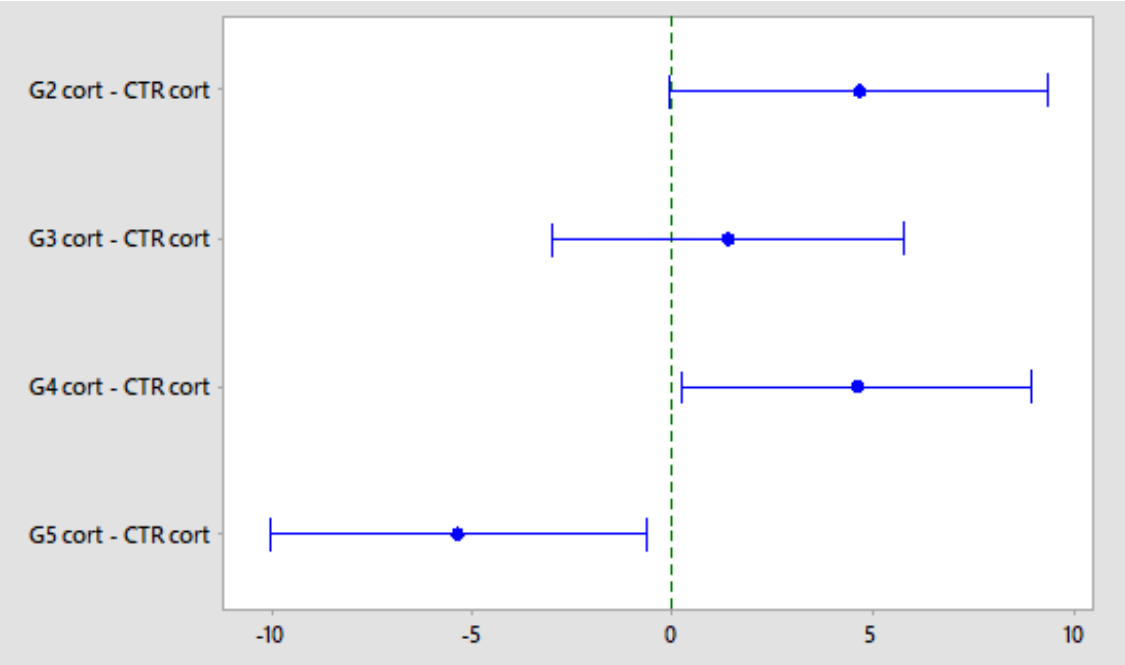


Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1 (G1, CTR): controle, sem suplementação hormonal, grupo 2 (G2): éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3 (G3): éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4 (G4): éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5 (G5): éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

Na sequência, aplicamos o teste de Dunnet (teste de escolha) e, nesse caso, o G4 e G5 mostraram-se diferentes do controle. O G4 apresentou concentração de cortisol acima do grupo controle enquanto o G5 teve concentração abaixo do grupo controle (Gráfico 8).

Gráfico 8 - Diferenças das médias de cortisol (µg/dL) entre o grupo controle e os demais grupos no d0, considerando intervalo de confiança de 95%



Fonte: REDOAN (2019).

Grupo 1 (CTR, G1): controle, sem suplementação hormonal, grupo 2 (G2): éguas receptoras acíclicas suplementadas até os 120 dias de prenhez com progesterona de longa ação, grupo 3 (G3): éguas suplementadas com progesterona de curta ação a partir do dia 280 de gestação, grupo 4 (G4): éguas suplementadas com progesterona de longa ação a partir do dia 280 de gestação e grupo 5 (G5): éguas suplementadas com progestágeno sintético altrenogest a partir do dia 280 de gestação.

7 DISCUSSÃO

Uma vez que poucos trabalhos avaliam o efeito da suplementação com progestágenos em equinos (JACKSON; SQUIRES; NETT, 1986; SHOEMAKER; SHIDELER, 1989; OUSEY et al., 2002; NEUHAUSER et al., 2008, 2009; PALM et al., 2010; FEDORKA et al., 2019; MULLER et al., 2019), nosso estudo avaliou a concentração (no pós-parto imediato) de alguns hormônios importantes para o desenvolvimento do neonato.

7.1 T_3 total, T_4 livre e TSH

Os hormônios tireoidianos desempenham importante função controlando o desenvolvimento fetal; alterações nos seus níveis no período intrauterino desencadeiam mudanças permanentes na estrutura e função dos tecidos e órgãos (FORHEAD; FOWDEN, 2014). Além de não apresentarem características físicas

sugestivas de desordens da tireoide, os neonatos dos diferentes grupos do nosso trabalho não mostraram diferença entre as concentrações de T_3 total, T_4 livre e TSH.

A investigação de disfunções da tireoide em equinos, assim como em outras espécies, tem muitas dificuldades devido aos efeitos multissistêmicos e não específicos dos hormônios tireoidianos (MESSER et al., 1998). Ao compararem níveis dos hormônios tireoidianos de éguas e neonatos de diferentes propriedades em relação aos valores de referência, Messer et al. (1998) encontraram uma alta porcentagem dos animais apresentando valores de T_3, T_4 e TSH inferiores a faixa de normalidade, apesar de nenhum deles apresentarem sinais típicos de disfunção da glândula. Os valores na literatura existentes para os hormônios tireoidianos são bastante divergentes, dificultando conclusões baseadas somente nos valores de referência (BREUHAUS, 2002) (Apêndice 1 e 2). Desta forma, no presente trabalho, não encontramos diferença nos níveis hormonais da tireoide e nas características físicas dos neonatos das éguas que receberam suplementação de progesterona, apesar das concentrações de T4 livre serem inferiores à literatura. Acreditamos que tal diferença tenha sido causada pelo kit de diagnóstico usado, assim como já foi comprovado ocorrer em cães, com o tipo de análise influenciando o resultado. O mesmo material pode apresentar diferentes concentrações dependendo de ensaio diagnóstico usado, passíveis de diferenças devido a erros de calibração, diluição das amostras com os reagentes antes da mensuração e ligação do hormônio ao próprio tubo, proteína ou outros ingredientes do reagente (SCHACHTER et al., 2004).

Há poucos trabalhos que mensuram o TSH em neonatos equinos (BERG et al., 2007; BREUHAUS, 2014) (Apêndice 3). Eles mostram que a concentração do hormônio é a mesma para potros e cavalos adultos mas há diferença entre os prematuros e doentes em relação aos normais, com o primeiro grupo apresentando menor concentração de TSH (BERG et al., 2007; BREUHAUS, 2014). Uma provável explicação para o fato, já que em potros a concentração dos hormônios tireoidianos é maior, é um diferente funcionamento entre o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal dos adultos e neonatos (BREUHAUS, 2014). No presente trabalho não houve diferença no TSH ao se comparar os grupos, corroborando os resultados anteriores da não influência da suplementação com progestágenos na glândula tireoide.

7.2 Progesterona neonatos

Quanto a concentração de progesterona dos neonatos, também não houve influência do uso de hormônios na mãe. A literatura reporta que as concentrações dos progestágenos são altas ao nascimento, diminuem ao longo do primeiro dia pós-parto e se tornam indetectáveis no segundo dia em potros saudáveis (HOLTAN et al., 1991; CHAVATTE et al., 1997). Porém, em doentes, as concentrações são mais altas ao nascimento e permanecem nos dias subsequentes, sendo as maiores concentrações encontradas em animais com comprometimentos mais severos (HOUGHTON et al., 1991; ROSSDALE et al., 1995). Esses fatos nos levaram a mensurar a correlação entre os valores de progestágenos dos neonatos com cada suplementação, porém tal correlação não foi detectada.

No trabalho em que foi encontrado altrenogest no plasma das éguas suplementadas e seus respectivos neonatos foi utilizada cromatografia líquida associada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) para a mensuração, ao contrário do nosso em que se utilizou kit comercial (Palm et al., 2010). Já foi demonstrado que o altrenogest não apresenta reação cruzada com os anticorpos dos imunoensaios, o que fortalece a nossa hipótese de que o composto pode não ter sido identificado devido ao método de diagnóstico usado (WYNN et al., 2018).

Mesmo podendo ter atingindo o feto, o progestágeno não levou a alterações comportamentais em nenhum dos neonatos do nosso estudo. Um dos quadros esperados, caso houvesse uma maior concentração de progesterona nos nascidos das éguas suplementadas, era uma menor resposta aos estímulos externos devido aos já comprovados efeitos sedativos dos derivados da progesterona, capazes de cruzar a barreira hematoencefálica e atingir o sistema nervoso central (MADIGAN et al., 2012).

7.3 Progesterona das mães

Quanto a concentração de progesterona das éguas no pós-parto, em um primeiro momento a ANOVA detectou uma diferença entre os grupos, diferença essa não detectada com os testes Tukey e Dunnett. Acreditamos que a grande variação dos dados, somada ao baixo tamanho amostral, pode ter levado a esse resultado inicial, requerendo um estudo englobando um número maior de éguas para confirmar ou refutar tal diferença.

Optamos pelo uso teste de Dunnett por ele ser mais rigoroso em mostrar as diferenças existentes entre os grupos tratamento e controle. Assim, não houve diferença na concentração de progesterona das éguas entre os grupos no d0.

Corroborando com o nosso achado há os trabalhos de Jackson et al. (1986) e Willmann et al. (2011) que não encontraram diferença na concentração de progesterona endógena após uso do altrenogest utilizando RIE e quimioluminescência, respectivamente. Ousey et al. (2002), entretanto, encontraram diferença na concentração de progestágenos após aplicação de progesterona e altrenogest, sendo as mensurações feitas por radioimunoensaio e cromatografia gasosa no terço final da gestação, respectivamente. Assim, mais uma vez acreditamos que para o altrenogest o tipo de análise hormonal usada no presente trabalho (RIE) pode ter influenciado o resultado já que os imunoensaios não são capazes de mensurar o composto. Como os efeitos imunomodulatórios do altrenogest em éguas vazias já foram comprovados, acreditamos que o assunto requer maiores estudos para que a suposição de que ocorra o mesmo em éguas prenhes seja comprovada.

7.4 Cortisol neonatos

O presente trabalho encontrou uma menor concentração de cortisol no grupo altrenogest (grupo 5) e maior no grupo progesterona longa ação (grupo 4). Em trabalho com metodologia semelhante, Palm et.al (NEUHAUSER et al., 2009) tiveram as maiores concentrações plasmáticas de cortisol no grupo suplementado com altrenogest, não havendo mais diferença entre os grupos a partir dos 15 minutos de vida. Os autores acreditam que a maior concentração de cortisol do grupo suplementado com altrenogest tem relação com o estresse do parto já que, em tal grupo, o segundo estágio do parto tendeu a ser maior que o do grupo controle (NEUHAUSER et al., 2008, 2009; PALM et al., 2010). No nosso caso, não tivemos um parto prolongado que justificasse o aumento do cortisol no grupo 4.

É válido ressaltar que utilizamos altrenogest em sua forma injetável (Altrengest®), de longa ação, enquanto que no trabalho citado acima optou-se pela forma oral do composto (Regumate®), de uso diário. Há diferença na farmacocinética do composto perante a via de administração, o que pode afetar diretamente o efeito do produto nas concentrações de cortisol do neonato (MACHNIK et al., 2007;

MCCONAGHY et al., 2016). Na administração intramuscular a taxa de absorção do produto é menor, permanecendo na circulação sanguínea por um período de tempo maior do que se fornecido via oral.

Apesar de não avaliarmos a resposta imune no presente trabalho, sabemos da relação existente entre cortisol e sistema imune. Ainda há inúmeros estudos que tentam entender a regulação do sistema imune pelos glicocorticoides, principalmente pelo fato destes hormônios agirem de múltiplas formas (CAIN; CIDLOWSKI, 2017). A ligação dos glicocorticoides aos seus receptores citoplasmáticos leva a ativação ou repressão da transcrição genômica, além de exercer efeitos não genômicos. Foi observado também que os receptores de glicocorticoides são expressos por praticamente todas as células nucleadas, com os seus efeitos funcionais variando de acordo com o tipo de célula. Porém, a inibição da produção de citocinas é tida como fenômeno mais relevante do efeito imunossupressor dos glicocorticoides (RICCARDI; BRUSCOLI; MIGLIORATI, 2002). Portanto acreditamos que a variação nas concentrações de cortisol pode, de alguma forma, modular o sistema imune dos neonatos que apresentaram concentração aumentada ou diminuída (grupos 4 e 5, respectivamente).

Os glicocorticoides são capazes de atenuar os sinais emitidos na fase de alarme da inflamação, suprimindo a produção de mediadores inflamatórios como interleucinas, IFNγ e TNF (CAIN; CIDLOWSKI, 2017). Ao agirem diretamente nos leucócitos a partir dos seus receptores, também inibem a síntese de citocinas pró-inflamatórias. Suas ações nos macrófagos dos tecidos inflamados para inibir a geração de eicosanoides como prostaglandinas e leucotrienos, promotores da permeabilidade e dilatação dos vasos, já foram evidenciadas. Um dos efeitos mais conhecidos quando há liberação aguda de cortisol é a neutrofilia, alcançada por uma maior liberação de células polimorfonucleadas pela medula óssea e inibição da migração de neutrófilos para locais de inflamação (FRANCHIMONT, 2004). Diante do exposto, acreditamos que a variação na concentração de cortisol pode influenciar a resposta inflamatória do neonato e diminuir a sua capacidade de lidar com os insultos da vida extrauterina.

Acreditamos que a suplementação com altrenogest e progesterona natural tem relação com as variações de cortisol encontradas nos neonatos dos grupos suplementados (grupos 4 e 5). Porém, mais estudos precisam ser realizados para elucidar esta influência.

8 CONCLUSÁO

Não houve diferenças nas concentrações de T_3 total, T_4 livre, TSH e progesterona dos neonatos e nas concentrações de progesterona das éguas dos diferentes grupos. Porém encontramos maior concentração de cortisol nos neonatos do grupo suplementado com progesterona de longa ação e menor concentração de cortisol no grupo suplementado com altrenogest.

REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P.; KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Effect of uterine inflammation and ultrasonically detected uterine pathology on fertility in the mare. **Journals of Reproduction and Fertility**, v. 35, p. 445–454, 1987.

ALLEN, A. L.; DOIGE, C. E.; HAAS, S. D.; CARD, C. E.; FRETZ, P. B.; ALLEN, E. T. Concentrations of Triiodothyronine and Thyroxine in Equine Fetal Serum during Gestation. **Biology of Reproduction**, v. 1, p. 49–52, 1995.

ALLEN, A. L.; FRETZ, P. B.; CARDT, C. E.; DOIGE, C. E. The effects of partial thyroidectomy on the development of the equine fetus. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, n. 1, p. 53–59, 1998.

ALLEN, W. R. The Physiology of Early Pregnancy in the Mare I**n: Proceedings of 46th Annual Convention American Society Equine Practitioners**, San Antonio. pp. 338-354,2000.

ALLEN, W. R. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. **Reproduction of Domestical Animals**, v. 131, n. 36, p. 121–131, 2001.

ALLEN, W. R.; WILSHER, S.; STEWART, F.; OUSEY, J.; FOWDEN, A. The influence of maternal size on placental , fetal and postnatal growth in the horse . II . Endocrinology of pregnancy. **Journal of Endocrinology**, v. 172, p. 237–246, 2002.

AURICH, C.; BUDIK, S. Early pregnancy in the horse revisited – does exception prove the rule? **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 50, 2015. Disponível em: <http://www.jasbsci.com/content/6/1/50>.

BAILEY, C. S.; MACPHERSON, M. L.; POZOR, M. A.; TROEDSSON, M. H. T.; BENSON, S. Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole , pentoxifylline and altrenogest in experimentally induced equine placentitis. **Theriogenology**, v. 74, p. 402–412,2010.Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.023>.

BARKER, P. M.; WALTERS, D. V.; MARKIEWICZ, M.; STRANG, L. B. Development of the lung liquid reabsorptive mechanism in fetal sheep: synergism of triiodothyronine and hydrocortisone. **Journal of Physiology**, v. 433, p. 435–449, 1991.

BATRA, S. Effect of estrogen and progesterone treatment on calcium uptake by the myometrium and smooth muscle of the lower urinary tract. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 127,

p. 37–42, 1986.

BEAGLEY, K. W.; GOCKEL, C. M. Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 38, p. 13–22, 2003.

BERG, E. L.; MCNAMARA, D. L.; KEISLER, D. H.; BERG, E. L.; MCNAMARA, D. L.; KEISLER, D. H. Endocrine profiles of periparturient mares and their foals. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1660–1668, 2007.

BERGFELT, D. R.; WOODS, J. A.; GINTHER, O. J. Role of the embryonic loss in mares. **Journals of Reproduction and Fertility**, v. 95, p. 339–347, 1992.

BETTERIDGE, K. J.; RAESIDE, J. I.; WAELCHLI, R. O.; CHRISTIE, H. L.; HAYES, M. A. Patterns of conceptus development and of progesterone concentrations in maternal blood preceding spontaneous early pregnancy failure in mares. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 30, n. 8, p. 1066–1076, 2018.

BETTERIDGE, K. J.; WAELCHLI, R. O.; CHRISTIE, H. L.; RAESIDE, J. I.; QUINN, B. A.; HAYES, M. A. Relationship between the timing of prostaglandin-induced luteolysis and effects on the conceptus during early pregnancy in mares. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, p. 411–424, 2012.

BOTELHO, J. H. V.; PESSOA, G. O.; ROCHA, L. G. P.; YESTE, M. Hormone supplementation protocol using estradiol benzoate and long-acting progesterone is efficient in maintaining pregnancy of anovulatory recipient mares during autumn transitional phase. **Animal Reproduction Science**, v. 153, p. 39–43, 2015.

BOTTARI, S. P.; VOKAER, A.; KAIVEZ, E.; LESCRAINER, J. P.; AUQUELIN, G. P. Differential regulation of alpha-adrenergic receptor subclasses by gonadal steroids in human myometrium. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 57, p. 937–941, 1983.

BREUHAUS, B. A. Thyroid-Stimulating Hormone in Adult Euthyroid and Hypothyroid Horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 106–115, 2002.

BREUHAUS, B. A. Disorders of the Equine Thyroid Gland. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 27, p. 115–128, 2011.

BREUHAUS, B. A. Thyroid Function and Dysfunction in Term and Premature Equine Neonates. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, p. 1301–1309, 2014.

BUDIK, S.; WALTER, I.; TSCHULENK, W.; HELMREICH, M.; DEICHSEL, K.; PITTNER, F.; AURICH, C. Significance of aquaporins and sodium potassium ATPase subunits for expansion of the early equine conceptus. **Reproduction**, v. 135, p. 497–508, 2008.

CAIN, D. W.; CIDLOWSKI, J. A. Immune regulation by glucocorticoids. **Nature**, v. 17, p. 233–247, 2017.

CANISSO, I., BALL,B.A., SQUIRES, E.L., TROEDSSON, M. H. T. Comprehensive Review on Equine Placentitis. **In: AAEP PROCEEDINGS**, V. 61, 2015.

CANISSO, I. F.; GALLACHER, K.; GILBERT, M. A.; KORN, A.; SCHWEIZER, C. M.; BEDFORD-GUAUS, S. J.; GILBERT, R. O. Preovulatory progestagen treatment in mares fails to delay ovulation. **Equine Veterinary Journal**, v. 197, n. 2, p. 324–328, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.12.028>.

CHAVATTE, P.; HOLTAN, D.; OUSEY, J. C.; ROSSDALE, P. D. Biosynthesis and possible biological roles of progestagens during equine pregnancy and in the newborn foal. **Equine Veterinary Journal**, v. 24, p. 89–95, 1997.

COMLIN, R. S.; SILVER, M. Catecholamine secretion by the adrenal medulla of the foetal and newborn foal. **Journal of Physiology**, v. 216, p. 659–682, 1971.

CROSSETT, B.; ALLEN, W. R.; STEWART, F. A 19 kDa protein secreted by the endometrium of the mare is a novel member of the lipocalin family. **Biochemical Journal**, v. 320, p. 137–143, 1996.

CUDD, T. A.; LE BLANC, M.; SILVER, M.; NORMAN, W.; MADISON, J.; KELLER-WOOD, M.; WOOD, C. E. Ontogeny and ultradian rhythms in adrenocorticotropin and cortisol in the late gestation fetal horse. **Journal of Endocrinology**, v. 144, p. 271–283, 1995.

CUMMINS, C.; CARRINGTON, S.; FITZPATRICK, E.; DUGGAN, V. Ascending placentitis in the mare : A review. **Irish Veterinary Journal**, v. 61, n. 5, p. 307–313, 2008.

DAELS, P. F. PROGESTERONE THERAPY AND PREGNANCY LOSS. In: PROCEEDINGS OF THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, **Anais**...2006.

DELUCA, C. A.; MCCUE, P. M.; PATTEN, M. L.; SQUIRES, E. L. Effect of a Nonsurgical Embryo Transfer Procedure and / or Altrenogest Therapy on Endogenous Progesterone Concentration in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, p. 57–62, 2011.

DRUCKMANN, R.; DRUCKMANN, M. Progesterone and the immunology of pregnancy. **The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 97, p. 389–396, 2005.

EVANS, M. J.; HAMER, J. M.; ASBURY, A. C.; GASON, L. .; GRAHAM, C. S.; IRVINE, C. H. G. CLEARANCE OF BACTERIA AND NON-ANTIGENIC MARKERS FOLLOWING INTRA-UTERINE INOCULATION INTO MAIDEN MARES: EFFECT OF STEROID HORMONE ENVIRONMENT. **Theriogenology**, v. 26, n. 1, p. 37–50, 1986.

FEDORKA, C. E.; ADAMS, A. A.; BALL, B. A.; WALKER, O. F.; CONLEY, A. J.; CORBIN, C. J.; LU, K. G.; HANNEMAN, J. M.; TROEDSSON, M. H. T. Alteration of the mare ' s immune system by the synthetic progestin , altrenogest. **American Journal of Reproductive Immunology**, p. 1–11, 2019.

FISHER, D. A.; POLK, D. H. Development of the thyroid. **Bailli`ere's Clin Endocrinol Metab**, v. 3, p. 627–657, 1989.

FORHEAD, A. J.; FOWDEN, A. L. Thyroid hormones in fetal growth and prepartum maturation. **Journal of Endocrinology**, v. 221, p. R87–R103, 2014.

FOWDEN, A. L.; FORHEAD, A. J. Hormones as epigenetic signals in developmental programming. **Experimental Physiology**, v. 94, n. 6, p. 607–625, 2009.

FOWDEN, A. L.; FORHEAD, A. J.; OUSEY, J. C. Endocrine adaptations in the foal over the perinatal period. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, n. 41, p. 130–139, 2012.

FOWDEN, A. L.; MUNDY, L.; OUSEY, J. C. Tissue glycogen and glucose 6-phosphatase levels in fetal and newborn foals. **Journals of Reproduction and Fertility**, v. 44, p. 537–542, 1991.

FOWDEN, A. L.; SILVER, M. Comparative Development of the Pituitary-Adrenal Axis in the Fetal Foal and Lamb. **Reproduction of Domestical Animals**, v. 30, p. 170–177, 1995.

FRANCHIMONT, D. Overview of the Actions of Glucocorticoids on the Immune Response. **In: Anals New York Academy of Sciences**, 2004.

FRANK, N.; SOJKA, J.; MESSER, N. . Equine thyroid dysfunction. **The Veterinary Clinics**, v. 18, p. 305–319, 2002.

GALON, J.; FRANCHMONT, D.; HIROI, N.; A. Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. **FASEB Journal**, v. 16, p. 61–71, 2002.

GARFIELD, R. E.; KANNAN, M. S.; DANIEL, E. E. Gap junction formation in myometrium: control by estrogens , progesterone , and prostaglandins. **American Journal of Physiology**, v. 238, p. C81-89, 1980.

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

GODDARD, L. M.; TON, A. N.; ORG, T.; MIKKOLA, H. K. A.; IRUELA-ARISPE, M. L. Selective suppression of endothelial cytokine production by progesterone receptor. **Vascular Pharmacology**, v. 59, p. 36–43, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vph.2013.06.001>.

GRECO, G. M.; DELL'AQUA JR, J. A.; ALVARENGA, M. A. PREGNANCY AND PREGNANCY LOSS RATES OF ACYCLIC RECIPIENT MARES TREATED WITH TWO DIFFERENT LONG-ACTING PROGESTERONE CONCENTRATIONS. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 22, n. 1, p. 246, 2009.

GRECO, G. M.; FIORATTI, E. G.; SEGABINAZZI, L. G.; DELL, J. A.; JR, A.; CRESPILHO, A. M.; CASTRO-CHAVES, M. M. B.; ANTONIO, M. Novel Long-Acting Progesterone Protocols Used to Successfully Synchronize Donor and Recipient Mares With Satisfactory Pregnancy and Pregnancy Loss Rates. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 39, p. 58–61, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2015.07.012>.

HALL, O. J.; KLEIN, S. L. Progesterone-based compounds affect immune responses and susceptibility to infections at diverse mucosal sites. **Mucosal Immunology**, v. 10, n. 5, p. 1097–1107, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/mi.2017.35>.

HANSEN, P. J. Regulation of uterine immune function by progesterone — lessons from the sheep. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 40, p. 63–79, 1998.

HART, K. A.; BARTON, M. H. Adrenocortical Insufficiency in Horses and Foals. **Veterinary Clinics**, v. 27, p. 19–34, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.005>.

HILLMAN, N. H.; KALLAOUR, S. G.; JOBE, A. Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life. **Clinics in Perinatology**, v. 39, p. 769–783, 2012.

HINRICHS, K.; SERTICH, P. L.; KENNEY, R. M. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v. 26, n. 4, p. 455–460, 1986.

HODGSON, D.; HOWE, S.; JEFFCOTT, L.; REID, S.; MELLOR, D.; HIGGINS, A. Effect of prolonged use of altrenogest on behaviour in mares. **The Veterinary Clinics**, v. 169, p. 322–325, 2005.

HOLTAN, D. W.; HOUGHTON, E.; SILVER, M.; FOWDEN, A. L.; OUSEY, J.; ROSSDALE, P. D. Plasma progestagens in the mare, fetus and newborn foal. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, p. 517–528, 1991.

HOLTAN, D. W.; NETT, T. M.; ESTERGREEN, V. L. Plasma progesterone in pregnant mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 23, p. 419–424, 1975.

HOUGHTON, E.; HOLTAN, D.; GRAINGER, L.; VOLLER, B. E.; ROSSDALE, P. D.; OUSEY, J. C. Plasma progestagen concentrations in the normal and dysmature newborn foal. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, n. 1, p. 609–617, 1991.

HUNT, J. S.; MILLER, L.; ROBY, K. F.; HUANG, J.; PLATT, J. S.; DEBROT, B. L. Female steroid hormones regulate production of pro-inflammatory molecules in uterine leukocytes. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 35, p. 87–99, 1997.

IRVINE, C. H. . Hypothyroidism in the foal. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 302–306, 1984.

IRVINE, C. H. G.; SUTTON, P.; TURNER, J. E.; MENNICK, P. E. Changes in plasma progesterone concen¬ trations from Days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing pregnancy. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, p. 104–106, 1990.

JACKSON, S. A.; SQUIRES, E. L.; NETT, T. M. The effect of exogenous progestins on endogenous progesterone secretion in pregnant mares. **Theriogenology**, v. 25, n. 2, p. 275–279, 1986.

JEFFCOTT, L. B.; ROSSDALE, P. D.; LEADON, D. P. Haematological changes in the neonatal period of normal and induced premature foals. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32, p. 537–544, 1982.

KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; GINTHER, O. J. Role of progesterone in mobility, fixation, orientation, and survival of the equine embryonic vesicle. **Theriogenology**, v. 27, n. 4, p. 655–663, 1987.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. Perinatal Review. In: **Equine Neonatology, Medicine and Surgery**. [s.l: s.n.]p. 15–43.

LEBLANC, M. M. Ascending placentitis in the mare: does treatment really help? In: Proceedings of the 10 Congresso Nazionala Multisala SIVE., **Anais**...Ithaca: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), 2004.

LEBLANC, M. M. Ascending Placentitis in the Mare : An Update. **Reproduction in Domestical Animals**, v. 45, n. 2, p. 28–34, 2010.

LEBLANC, M. M.; MACPHERSON, M.; SHEERIN, P. Ascending Placentitis: What We Know About Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. In: 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, **Anais**...International Veterinary Information Service, 2004.

LEISINGER, C. A.; DAVOLLI, G. M.; FOSTER, B. A.; WHISNANT, S.; PACCOMONTI, D. L.; PINTO, C. R. F. In vivo embryo production during induced aluteal cycles in the mare. **Theriogenology**, v. 8, p. 333, 2016.

LESTER, G. D. Maturity of the Neonatal Foal. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 21, p. 333–355, 2005.

LI, L. B.; LEUNG, D. Y. M.; HALL, C. F.; GOLEVA, E. Divergent expression and function of glucocorticoid receptor β in human monocytes and T cells. **J Leukoc Biol**, v. 79, n. 4, p. 818–827, 2006.

LIGGINS, G. C. The Role of Cortisol in Preparing the Fetus for Birth. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 6, p. 141–150, 1994.

LORIJN, R. H. W.; LONGO, L. D. Clinical and physiological implications of increased fetal oxygen consumption. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 136, p. 451–457, 1980.

LORIJN, R. H. W.; NELSON, J. C.; LONGO, L. D. Induced fetal hyperthyroidism: cardiac output and oxygen consumption. **American Journal of Physiology**, n. 239, p. H302–H307, 1980.

MACHNIK, M.; HEGGER, I.; KIETZMANN, M.; THEVIS, M.; GUDDAT, S.; SCHA, W. Pharmacokinetics of altrenogest in horses. **J. Vet. Pharmacol. Therap.**, v. 30, p. 86–90, 2007.

MACPHERSON, M. L. Treatment strategies for mares with placentitis. **Theriogenology**, v. 64, p. 528–534, 2005.

MADIGAN, J. E.; HAGGETT, E. F.; PICKLES, K. J.; CONLEY, A.; STANLEY, S.; MOELLER, B.; TOTH, B.; ALEMAN, M. Allopregnanolone infusion induced neurobehavioural alterations in a neonatal foal : Is this a clue to the pathogenesis of neonatal maladjustment syndrome ? **Equine Veterinary Education**, v. 44, n. 41, p. 109–112, 2012.

MAEDA, Y.; OHTSUKA, H.; TOMIOKA, M.; TANABE, T.; NAMBO, Y. Effect of Progesterone on the in vitro Response of Peripheral Blood Mononuclear Cells Stimulated by Escherichia coli in Mares. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 74, n. 5, p. 629–632, 2012.

MCCONAGHY, F. F.; GREEN, L. A.; COLGAN, S.; MORRIS, L. H. Studies of the pharmacokinetic profile, in vivo efficacy and safety of injectable altrenogest for the suppression of oestrus in mares. **Australian Veterinary Journal**, v. 94, n. 7, p. 248–255, 2016.

MCKINNON, A. O. et. a. The inability of some synthetic progestagens to maintain pregnancy in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 32, n. 1, p. 83–85, 2000.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; CARNEVALE, E. M.; HERMENET, M. J. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipientand as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, v. 29, p. 1055–1063, 1988.

MCKINNON, A. O.; TARRIDA DEL MARMOL FIGUEROA, S.; NOBELIUS, A. M.; HYLAND, J. H.; VASEY, J. R. Failure of hydroxyprogesterone caproate to maintain pregnancy in ovariectomised mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 25, p. 158–160, 1993.

MCROBB, L.; HANDELSMAN, D. J.; KAZLAUSKAS, R.; WILKINSON, S.; MCLEOD, M. D.; HEATHER, A. K. Structure – activity relationships of synthetic progestins in a yeast-based in vitro androgen bioassay. **Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 110, p. 39–47, 2008.

MESSER, N. T.; RIDDLE, W. T.; TRAUB-DARGATZ, J. L.; DARGATZ, D. A.; REFSAL, K. J.; THOMPSON, D. L. Thyroid Hormone Levels in Thoroughbred Mares and Their Foals at Parturition. **In: AAEP PROCEEDINGS**, 1998.

MIYAURA, H.; IWATA, M.; ALERTS, E. Direct and Indirect Inhibition of Th1 Development by Progesterone and Glucocorticoids. **The Journal of Immunology**, v. 168, p. 1087–1094, 2002.

MULLER, V.; CURCIO, B. R.; TORIBIO, R. E.; FEIJ, L. S.; BORBA, L. A.; CANISSO, I. F.; NOGUEIRA, C. E. W. Cortisol , progesterone , 17 a e OH e progesterone , and pregnenolone in foals born from mare ' s hormone-treated for experimentally induced ascending placentitis. **Theriogenology**, v. 123, p. 139–144, 2019.

NEUHAUSER, S.; PALM, F. .; AMBUEHL, F.; AURICH, C. Effects of Altrenogest Treatment of Mares in Late Pregnancy on Parturition and on Neonatal Viability of their Foals. **Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes**, v. 116, p. 423–428, 2008.

NEUHAUSER, S.; PALM, F.; AMBUEHL, F.; MÖSTL, E.; SCHWENDENWEIN, I.; AURICH, C. Effect of altrenogest-treatment of mares in late gestation on adrenocortical function , blood count and plasma electrolytes in their foals. **Equine Veterinary Education**, v. 41, n. 6, p. 572–577, 2009.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; INTUSH, E. W. M. C. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. **Physiological reviews**, v. 80, n. 1, p. 1–30, 2000.

OLIVEIRA, I. V; CANISSO, I. F.; SEGABINAZZI, L. G.; DELL, C. P. F.; ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O.; DELL, J. A.; JR, A. Synchronization of cyclic and acyclic embryo recipient mares with donor mares. **Animal Reproduction Science**, v. 190, n. December 2017, p. 1–9, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.016>.

OLVER, R. E.; SCHNEEBERGER, E. E.; WALTERS, D. V. Epithelial solute permeability, ion transport and tight junction morphology in the developing lung of the fetal lamb. **Journal of Physiology**, v. 315, p. 398–412, 1981.

OUSEY, J. C. Peripartal Endocrinology in the Mare and Foetus. **Reproduction of Domestical Animals**, v. 39, p. 222–231, 2004.

OUSEY, J. C. Hormone Profiles and Treatments in the Late Pregnant Mare. **Veterinary Clinics of NA: Equine Practice**, v. 22, p. 727–747, 2006.

OUSEY, J. C. Endocrinological adaptation. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. (Ed.). **Equine Reproduction**. 2nd. ed. [s.l: s.n.]p. 69–83.

OUSEY, J. C.; FORHEAD, A. J.; ROSSDALE, P. D.; GRAINGER, L.; HOUGHTON, E.; FOWDEN, A. L.; STABLES, B. C.; STREET, H.; KINGDOM, U.; LABORATORIES, H. F.; ROAD, N.; KINGDOM, U. Ontogeny of Uteroplacental Progestagen Production in Pregnant Mares During the Second Half of Gestation. **Biology of Reproduction**, v. 69, p. 540–548, 2003.

OUSEY, J. C.; ROSSDALE, P. D.; FOWDEN, a L.; PALMER, L.; TURNBULL, C.; ALLEN, W. R. Effects of manipulating intrauterine growth on post natal adrenocortical development and other parameters of maturity in neonatal foals. **Equine veterinary journal**, v. 36, n. 7, p. 616–621, 2004.

OUSEY, J. C.; ROSSDALE, P. D.; PALMER, L.; HOUGHTON, E. Effects of progesterone administration to mares during late gestation. **Theriogenology**, v. 58, p. 793–795, 2002.

PALM, F. M.; SCHENK, I.; NEUHAUSER, S.; SCHUBERT, D.; MACHNIK, M.; SCHÄNZER, W.; AURICH, C. Concentrations of altrenogest in plasma of mares and foals and in allantoic and amniotic fluid at parturition. **Theriogenology**, v. 74, p. 229–235, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.006>.

PANZANI, S.; VILLANI, M.; MCGLADDERY, A.; MAGRI, M.; KINDAHL, H. Concentrations of 15-ketodihydro-PGF2a, cortisol, and progesterone in the plasma of healthy and pathologic newborn foals. **Theriogenology**, v. 72, p. 1032–1040, 2009.

PARKINGTON, H. C. Electrical properties of the costo-uterine muscle of the guinea-pig. **J. Physiol.**, v. 335, p. 15–27, 1983.

PASHEN, R.; ALLEN, W. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p. 499–509, 1979.

PASHEN, R. L. Maternal and foetal endocrinology during late pregnancy and parturition in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 233–238, 1984.

PINTO, C. R. F. Progestagens and Progesterone. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES,

E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. (Ed.). **Equine Reproduction**. 2. ed. ed. [s.l.] Wiley Blackwell, 2011. p. 1811–1819.

POLAK, M. Human Fetal Thyroid Function. In: **Pediatric Thyroidology**. [s.l: s.n.]26p. 17–25.

POLIKARPOVA, A. V; LEVINA, I. S.; SIGAI, N. V; ZAVARZIN, I. V; MOROZOV, I. A.; RUBTSOV, P. M. Immunomodulatory effects of progesterone and selective ligands of membrane progesterone receptors. **Steroids**, v. 145, p. 5–18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.02.009>.

RAMMINGER, S. J.; INGLIS, S. K.; OLVER, R. E.; WILSON, S. M. Hormonal modulation of Na(C) transport in rat fetal distal lung epithelial cells. **Journal of Physiology**, v. 544, p. 567–577, 2002.

RAZALI, N. M.; YAP, B. W. Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. **Journal of Statistical Modeling and Analytics**, v. 2, n. 1, p. 21–33, 2011.

RICCARDI, C.; BRUSCOLI, S.; MIGLIORATI, G. MOLECULAR MECHANISMS OF IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF GLUCOCORTICOIDS. **Pharmacological Research**, v. 45, n. 5, p. 361–368, 2002.

ROCHA FILHO, A. N.; PESSÔA, M. A.; GIOSO, M. M.; ALVARENGA, M. A. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Animal Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 91–95, 2004.

ROSE, B. V.; FIRTH, M.; MORRIS, B.; ROACH, J. M.; WATHES, D. C.; VERHEYEN, K. L. P. Descriptive study of current therapeutic practices , clinical reproductive findings and incidence of pregnancy loss in intensively managed thoroughbred mares. **Animal Reproduction Science**, v. 188, p. 74–84, 2018a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.11.011>.

ROSE, B. V; CHANG, Y. M.; WATHES, D. C.; VERHEYEN, K. L. P.; MESTRE, A. M. De. Factors That Modify the Risk of Early Pregnancy Loss and Early Conceptus Growth in Thoroughbreds. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 66, p. 179, 2018b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2018.05.071>.

ROSSDALE, P. .; OUSEY, J. .; COTTRILL, C. . Effects of placental pathology on maternal plasma progestagen and mammary secretion calcium concentrations and on neonatal adrenocortical function in the horse. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, p. 579–590, 1991.

ROSSDALE, P. D.; OUSEY, J. C.; MCGLADDERY, A.; PRANDI, S.; HOLDSTOCK, N.; GRAINGER, L.; HOUGHTON, E. A retrospective study of increased plasma progestogen concentrations in compromised neonatal foals. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 7, p. 567–575, 1995.

SCHACHTER, S.; NELSON, R. W.; SCOTT-MONCRIEFF, C.; FERGUSON, D. C.; MONTGOMERY, T.; FELDMAN, E. C.; NEAL, L.; KASS, P. H. Comparison of Serum-Free Thyroxine Concentrations Determined by Standard Equilibrium Dialysis, Modified Equilibrium Dialysis, and 5 Radioimmunoassays in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, p. 259–264, 2004.

SCHMALTZ, C. Thyroid Hormones in the Neonate An Overview of Physiology and Clinical Correlation. **Advances in Neonatal Care**, v. 12, n. 4, p. 217–222, 2012.

SHAH, N. M.; IMAMI, N.; JOHNSON, M. R.; JOHNSON, M. R. Progesterone Modulation of Pregnancy-related immune responses. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1–19, 2018.

SHOEMAKER, C. F.; SHIDELER, R. K. SAFETY OF ALTRENOGEST IN PREGNANT MARES AND ON HEALTH AND DEVELOPMENT OF OFFSPRING. **Equine Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 69–72, 1989.

SILVA, E. S. M.; FRADE, S. C. F.; IGNÁCIO, F. S.; PANTOJA, J. C. F.; PUOLI FILHO, J. N. P.; MEIRA, C. Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of pregnancy in non-cyclic recipient mares. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 122–128, 2014.

SILVA, E. S. M.; ROSER, J. F.; GOMES, A. R. C.; FRITSCH, S. C.; PANTOJA, J. C. F.; OLIVEIRA-FILHO, J. P.; MEIRA, C. Comparison of different regimens of estradiol benzoate treatments followed by long-acting progesterone to prepare noncycling mares as embryo recipients. **Theriogenology**, v. 86, p. 1749–1756, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.05.041>.

SILVER, M. PRENATAL MATURATION , THE TIMING OF BIRTH AND HOW IT MAY BE REGULATED IN DOMESTIC ANIMALS. **Experimental Physiology**, v. 75, p. 285–307, 1990.

SILVER, M.; FOWDEN, A. L.; KONOX, J.; OUSEY, J.; CASH, R.; ROSSDALE, P. D. Relationship between circulating tri-idothyronine and cortisol in the perinatal period in the foal. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, p. 619–626, 1991.

SILVER, M.; OUSEY, J. C.; DUDAN, F. E.; FOWDEN, A. L.; KNOX, J.; CASH, R. S. G.; ROSSDALE, P. D.; STREET, D.; CB, C.; STABLES, B. C.; STREET, H. Studies on equine prematurity 2 : Post natal adrenocortical activity in relation to plasma adrenocorticotrophic hormone and catecholamine levels in term and premature foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 278–286, 1984.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; BAZER, F. W. Progesterone and Placental Hormone Actions on the Uterus : Insights from Domestic Animals. **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 2–10, 2004.

STEWART, F.; CHARLESTON, B.; CROSSETT, B. A novel uterine protein that associates with the blastocyst capsule in equids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 105, p. 65–70, 1995.

STOUT, T. HOW TO MANAGE EARLY EMBRYONIC DEATH. **In: Proceeding of the Belgian Equine Practitioners Society**,2014.

SZEKERES-BARTHO, J.; HALASZ, M.; PALKOVICS, T. Progesterone in pregnancy ; receptor – ligand interaction and signaling pathways. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 83, p. 60–64, 2009.

THORNBURG, K.; JONKER, S.; O'TIERNEY, P.; CHATTERGOON, N.; LOUEY, S.; FABER, J.; GIRAUD, G. Regulation of the cardiomyocyte population in the developing heart. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 106, p. 289–299, 2011.

TOMASICCHIO, M.; AVENANT, C.; DU TOIT, A.; RAY, R. M.; HAPGOOD, J. P. The progestin-only contraceptive medroxyprogesterone acetate, but not norethisterone acetate, enhances HIV-1 Vpr-mediated apoptosis in human CD4+ T cells through the glucocorticoid receptor. **Plos One**, v. 8, n. 5, p. 62895, 2013.

TROEDSSON, M. H. T.; MACPHERSON, M. L. Placentitis. In: **Equine Reproduction**. [s.l: s.n.]p. 2359–2367.

UGOR, E.; PRENEK, L.; PAP, R.; BERTA, G.; ERNSZT, D.; NAJBAUER, J. Glucocorticoid hormone treatment enhances the cytokine production of regulatory T cells by upregulation of Foxp3 expression. **Immunobiology**, v. 223, n. 4–5, p. 422–431, 2017.

VANDERWALL, D. K. Early Embryonic Loss in the Mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 11, p. 691–702, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2008.10.001>.

WAELCHLI, R. O.; BETTERIDGE, K. J. Osmolarity of equine blastocyst fluid from day 11 to day 25 of pregnancy. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 8, p. 981–988, 1996.

WILLMANN, C.; BUDIK, S.; WALTER, I.; AURICH, C. Influences of treatment of early pregnant mares with the progestin altrenogest on embryonic development and gene expression in the endometrium and conceptus. **Theriogenology**, p. 1–13, 2011a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.01.018>.

WILLMANN, C.; SCHULER, G.; HOFFMANN, B.; PARVIZI, N.; AURICH, C. Effects of age and altrenogest treatment on conceptus development and secretion of LH, progesterone and eCG in early-pregnant mares. **Theriogenology**, v. 75, n. 3, p. 421–428, 2011b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.05.009>.

WILSHER, S. The uterus and early pregnancy failure in the mare. **Equine Veterinary Education**, v. 31, n. 4, p. 214–224, 2019.

WILSHER, S.; GOWER, S.; ALLEN, W. R. Immunohistochemical localisation of progesterone and oestrogen receptors at the placental interface in mares during early pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 200–208, 2011.

WILSON, S. M.; OLVER, R. E.; WALTERS, D. V. Developmental regulation of luminal lung liquid and electrolyte transport. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 159, p. 247–255, 2007.

WU, S.-Y.; KLEIN, A. H.; CHOPRA, I. J.; FISHER, D. A. Alterations in Tissue Thyroxine-5'-Monodeiodinating Activity in Perinatal Period. **Endocrionology**, v. 103, n. 1, p. 1–5, 1978.

WU, S.; POLK, D.; WONG, S.; REVICZKY, A.; VU, R.; FISHER, D. A. Thyroxine sulphate is a major thyroid hormone metabolite and a potential intermediate in the monodeiodination pathways in fetal sheep. **Endocrionology**, v. 131, p. 1751–1756, 1992.

WYNN,M.A.A., ESTELLER-VICO,A.,LEGACKI, E.L., CONLEY,A. J., LOUX, S.C., STANLEY, S.D., CURRY JR., S.D., SQUIRES, E.L., TROEDSSON, M.H., BALL, B.A. A comparison of progesterone assays for determination of peripheral pregnane concentrations in the late pregnant mare.**Theriogenology**, v. 106., 127-133, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Concentrações hormonais dos neonatos

Apêndice 1 - Concentrações de T4 dos neonatos equinos mensuradas no pós-parto com dados obtidos na literatura

T4 Livre / T4 Total	Estado neonato	Método	Observação	Referência
331-389 ng/mL T4 total	Saudável	RIA	Sangue cordão umbilical	1
300 ng/mL T4 livre	Saudável	RIA	...	2
250 ng/mL T4 livre	Prematuro	RIA	...	2
0,031 ng/mL T4 livre	Saudável	ELISA	...	3
0,019 ng/mL	Prematuro	ELISA	...	3
374 ng/mL	Saudável	RIA	10 minutos pós-parto	4
169 ng/mL T4 total	Saudável	RIA	24-36 horas pós-parto	5

(1): OUSEY, J.C. Foal: Adaptation to Parturition. In: MCKINNON,A.O., SQUIRES, E.L., VAALA,W.E., VARNER, D.D.Equine Reproduction. 2nd. Ed. Wiley-Blackwell, 2011,p. 69-83.

(2): SILVER, M., FOWDEN, A.L., KNOX, J., OUSEY, J., CASH, R., ROSSDALE,P.D. Relationship between circulating tri-iodothyronine and cortisol in the perinatal period in the foal. J. Reprod. Fertil., n.44,p. 619–26, 1991.

(3): MULLER,V., BORBA,L..A., FEIJÓ, L.S., MORAES, B.S.S. , SANTOS, A.C., CURCIO,B.R., NOGUEIRA,C.E.W. Avaliação dos hormônios tireoidianos em relação à maturidade em potros no pós-parto imediato.Rev. Acad. Ciênc. Anim. N. 15, supl.1,p.37-38, 2017.

(4): PANZANI,S., COMIN,A., GALEATI, G.,ROMANO,G., VILLANI,M., FAUSTINI,M., VERONESI,M.C. How type of parturition and health status influence hormonal and metabolic profiles in newborn foals. Theriogenology,n.77, p.1167-1177,2012.

(5): BREUHAUS,B.A. Thyroid function and dysfunction in term and premature equine neonates. J. Vet. Intern. Med., v.28,p.1301-1309,2014.

Apêndice 2: Concentrações de T3 dos neonatos equinos mensuradas no pós-parto com dados obtidos da literatura.

T3 Livre / T3 Total	Estado neonato	Método	Observação	Referência
5,2-7,8 ng/mL T3 total	Saudável	RIA	Sangue cordão umbilical	1
8,4 ng/mL T3 total	Saudável	ELISA	...	2
5,2 ng/mL T3 total	Prematuro	ELISA	...	2
7.6 ng/mL T3	Saudável	RIA	...	3

5,3 ng/mL T3 total	Saudável	RIA	24-36 horas pós-parto	4

(1): OUSEY, J.C. Foal: Adaptation to Parturition. In: MCKINNON,A.O., SQUIRES, E.L., VAALA,W.E., VARNER, D.D.Equine Reproduction. 2nd. Ed. Wiley-Blackwell, 2011,p. 69-83.

(2): MULLER,V., BORBA,L.A., FEIJÓ, L.S., MORAES, B.S.S. , SANTOS, A.C., CURCIO,B.R., NOGUEIRA,C.E.W. Avaliação dos hormônios tireoidianos em relação à maturidade em potros no pós-parto imediato. Rev. Acad. Ciênc. Anim. N. 15, supl.1,p.37-38, 2017.

(3): PANZANI,S., COMIN,A., GALEATI, G.,ROMANO,G., VILLANI,M., FAUSTINI,M., VERONESI,M.C. How type of parturition and health status influence hormonal and metabolic profiles in newborn foals. Theriogenology,n.77, p.1167-1177,2012.

(4): BREUHAUS,B.A. Thyroid function and dysfunction in term and premature equine neonates. J. Vet. Intern. Med., v.28,p.1301-1309,2014.

Apêndice 3 - Concentrações de TSH dos neonatos equinos mensuradas no pós-parto

TSH	Estado neonato	Método	Observação	Referência
0,24 ng/mL	Saudável	RIA	24-36 horas pós-parto	1

(1): BREUHAUS,B.A. Thyroid function and dysfunction in term and premature equine neonates. J. Vet. Intern. Med., v.28,p.1301-1309,2014.

Apêndice 4 - Concentrações de cortisol dos neonatos equinos mensuradas no pós-parto

Cortisol	Estado do neonato	Método	Observação	Referência
>80 ng/mL	Saudável	Não especificado	...	1
163 ng/mL	Saudável	RIA	...	2
67 ng/mL	Doente	RIA	...	2
63 ng/mL	Saudável	RIA	Pós-parto imediato	3
139 ng/mL	Saudável	RIA	01 hora pós-parto	3
17,2 ng/mL	Prematuro	RIA	Pós-parto imediato	3
29,5 ng/mL	Prematuro	RIA	01 hora pós-parto	3
17 ng/mL	Saudável	RIA	12 horas pós-parto	4
44 ng/ml	Doente	RIA	12 horas pós-parto	4
34 ng/mL	Saudável	RIA	Égua suplementada com altrenogest	5
15,6 ng/mL	Saudável	RIA	Égua não suplementada	5

(1): OUSEY, J.C. Foal: Adaptation to Parturition. In: MCKINNON,A.O., SQUIRES, E.L., VAALA,W.E., VARNER, D.D.Equine Reproduction. 2nd. Ed. Wiley-Blackwell, 2011,p. 69-83.

(2): MULLER,V., BORBA,L.A.,FEIJÓ, L.S., MORAES, B.S.S. , SANTOS, A.C., CURCIO,B.R., NOGUEIRA,C.E.W. Avaliação dos hormônios tireoidianos em relação à maturidade em potros no pós-parto imediato. Rev. Acad. Ciênc. Anim. N. 15, supl.1,p.37-38, 2017.

(3): SILVER, M., FOWDEN, A.L., KNOX, J., OUSEY, J., CASH, R., ROSSDALE,P.D. Relationship between circulating tri-iodothyronine and cortisol in the perinatal period in the foal. J. Reprod. Fertil., n.44,p. 619–26, 1991.

(4): PANZANI,S., VILLANI,M., MCGLADDERY,A.,MAGRI,M.,KINDAHL,H., GALEATI, G.,MARTINO,P.A.,VERONESI,M.C. Concentrations of 15-ketodihydro-$PGF_{2\alpha}$, cortisol, and progesterone in the plasma of health and pathologic newborn foals. Theriogenology,n.72, p.1032-1040,2009.

(5): NEUHAUSER,S., PALM,F.,AMBUEHL,F., MOSTL,E., SCHWENDENWEIN,I., AURICH,C. Effect of altrenogest-treatment of mares in late gestation on adrenocortical function, blood count and plasma electrolytes in their foals. Equine vet. J.,n.41,supl.6, p. 572-577, 2009.