

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

MARCOS AURÉLIO DIAS MEIRELES

**EFEITOS DA GESTAÇÃO SOBRE O PERFIL HEMATOLÓGICO, BIOQUÍMICO E
METABÓLICO DE ÉGUAS DA RAÇA PÔNEI BRASILEIRO**

Campos dos Goytacazes

Fevereiro de 2020

MARCOS AURÉLIO DIAS MEIRELES

**EFEITO DA GESTAÇÃO SOBRE PERFIL HEMATOLÓGICO, BIOQUÍMICO E
METABÓLICO EM ÉGUAS DA RAÇA PÔNEI BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração Sanidade Animal.

ORIENTADORA Prof^a. Paula Alessandra Di Filippo

Campos dos Goytacazes

Fevereiro de 2020

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

M514

Meireles, Marcos Aurélio Dias.

Efeitos da gestação sobre o perfil hematológico, bioquímico e metabólico de éguas da raça Pônei Brasileiro / Marcos Aurélio Dias Meireles. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2020.

85 f. : il.

Bibliografia: 77 - 82.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2020.

Orientadora: Paula Alessandra Di Filippo.

1. cavalo. 2. hemograma. 3. prenhez. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 636

MARCOS AURÉLIO DIAS MEIRELES

**EFEITO DA GESTAÇÃO SOBRE PERFIL HEMATOLÓGICO, BIOQUÍMICO E
METABÓLICO EM ÉGUAS DA RAÇA PÔNEI BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração Sanidade Animal.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Profº. José Dantas Ribeiro Filho (Doutor, Ciência Animal) – UFV.

Profª. Micheline Ozana da Silva (Doutora, Medicina Veterinária) – UFV.

Profº. Antônio Peixoto Albernaz (Doutor, Produção Animal) – UENF.

**Profa. Paula Alessandra Di Filippo (Doutora, Cirurgia Veterinária) – UENF.
(Orientadora)**

Aos

Meus pais, Manoel e Maura, que sempre acreditaram em meus sonhos.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, sem o qual não teria forças para trilhar o caminho da pós-graduação;

Aos meus pais, Manoel Ferreira Meireles e Maura Pereira Dias Meireles, sem os quais eu não seria nada nesta vida, e ainda aos meus irmãos Viviane, Fabiana e Luis Fernando, pelo apoio incondicional;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em especial ao programa de pós-graduação em Ciência Animal, por toda infraestrutura oferecida, e ainda a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos;

À minha Orientadora, professora Paula Alessandra Di Filippo, por toda a dedicação, paciência, carinho e amizade durante os anos de convivência e por me mostrar o real significado e importância da pesquisa na carreira profissional, além de ter me guiado e moldado profissionalmente;

A todos os colegas que contribuíram de alguma forma para a realização do experimento, em especial os amigos Roberto Gonçalves, Vinícius Marreto, Matheus Arenázio, Gabriela Bravin, Francielli Gobbi, Luiza Feitosa, Bárbara Duarte, Gabriel Carvalho, Ítalo Almeida e Inácio Viana, que por vezes abriram mão de seus afazeres para me acompanhar e ainda aos senhores Ângelo Sales e Charles Jacinto por terem cedidos os animais para esta pesquisa;

Ao professor Antônio Peixoto e todos os técnicos, residentes e estagiários do Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estadual do Norte Fluminense por estarem sempre à disposição;

À minha esposa Natália Ferreira Torres Meireles, que está ao meu lado desde o segundo ano da graduação. Sua constante presença foi essencial para que eu conseguisse alcançar o sucesso. Obrigado pelos momentos de carinho, atenção, estudos, descontração e tudo mais que me proporcionou nos últimos anos. Sem você não teria a serenidade necessária para concluir mais esta etapa!

Aos colegas do Instituto Federal de Minas Gerais, campus Bambuí que me receberam recém-concursado em 2017 com um experimento de doutorado em andamento e dentro do possível me auxiliaram para que eu conseguisse percorrer mensalmente os quase oitocentos quilômetros até Campos dos Goytacazes para dar continuidade a este projeto;

Agradeço ainda a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho, mas que por ventura não tenha citado aqui. A todos vocês o meu MUITO OBRIGADO!

Há três leis no universo que nunca falham:

A do retorno...

A da verdade...

E a do mérito!

(Autor desconhecido)

RESUMO

O período gestacional é um desafio para o organismo materno, uma vez que este evento é capaz de influenciar os diferentes sistemas orgânicos, assim conhecer sua influência sobre os constituintes sanguíneos e sua influência na dinâmica corporal é fundamental para o monitoramento da saúde da égua e do feto. O objetivo do presente estudo foi acompanhar as modificações oriundas da gestação sobre o perfil hematológico, bioquímico e metabólico de dois grupos distintos de fêmeas da raça Pônei Brasileiro (gestantes e não gestantes) por meio de exames laboratoriais e acompanhamento ultrassonográfico da deposição de gordura subcutânea. Foram utilizadas 18 éguas gestantes e clinicamente sadias e como grupo controle adotou-se os mesmos animais durante o período não gestacional. O monitoramento foi realizado em 13 momentos distintos: antes da concepção e gestação (M0), do primeiro mês de gestação até o momento do parto (M1 a M11) e até sete dias pós-parto (M12) por meio de colheitas mensais de sangue total para acompanhamento das alterações hematológicas: eritograma, leucograma e contagem de plaquetas; bioquímicas: aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, creatina quinase, ureia, creatinina, proteínas totais, fibrinogênio, colesterol e triglicerídeos totais. A determinação da porcentagem de gordura subcutânea foi realizada por meio da avaliação ultrassonográfica. Após análise da variância e realização do teste de médias (Tukey, $p < 0,05$), foram encontradas oscilações significativas no hematócrito, fibrinogênio e uma diminuição no número total de plaquetas enquanto os demais componentes do eritograma e leucograma permaneceram inalterados. Aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina apresentaram diferença estatística no pós-parto (M12), enquanto os níveis de creatinina quinase aumentaram significativamente a partir do sétimo mês de gestação apresentando pico no pós-parto. Ureia e creatinina e triglicerídeos totais aumentaram suas respectivas concentrações ao longo da gestação com pico no último mês gestacional e declínio M12. Houve diferença nas médias de espessura de gordura acumulada na região de inserção da cauda a partir do terço final da gestação, com diminuição desta quando comparado aos demais momentos. Foi encontrada uma correlação positiva ($r = 0,81$) entre o aumento do peso corporal e o ECC. Diante dos resultados observados conclui-se que a gestação acarreta um aumento no número de hemácias circulantes, bem como variações no hematócrito, fibrinogênio além de trombocitopenia e pode influenciar nos constituintes

bioquímicos, além de mobilizar depósitos de gordura dos animais da raça Pônei Brasileiro durante o período.

Palavras-chave: cavalo, hemograma, prenhez.

ABSTRACT

The gestational period is a challenge for the maternal organism since this event is able to influence the different organic systems, so knowing its influences on blood constituents and their influence on body dynamics is fundamental for monitoring the health of the mare and the fetus. The present study was to monitor changes arising from pregnancy on the hematological, biochemical and metabolic profile of two distinct groups of females of the Brazilian Pony mares (pregnant and non-pregnant) through laboratory tests and ultrasound monitoring of subcutaneous fat deposition. Eighteen pregnant and clinically healthy mares were used and as a control group the same animals were adopted during the non-gestational period. Monitoring was carried out in 13 different moments: before conception and pregnancy (M0), from the first month of pregnancy until the moment of delivery (M1-M11) and up to seven days postpartum (M12) through monthly blood samples total to monitor hematological changes: erythrogram, leukogram and caliper count; biochemicals: aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transferase, creatine kinase, urea, creatinine, total proteins, fibrinogen, cholesterol and total triglycerides. The determination of the percentage of subcutaneous fat was performed by means of ultrasound evaluation. After analyzing the variance and performing the means test (Tukey, $p < 0.05$), significant fluctuations in hematocrit, fibrinogen and a decrease in the total platelet count. The leukogram remained unchanged. AST and ALP showed statistical difference in the postpartum period (M12) while the levels of creatinine kinase increased significantly from the seventh month of gestation showing a peak in the postpartum period. Urea and creatinine and total triglycerides increased their respective concentrations throughout pregnancy with peak in the last gestational month and decline M12. There was a difference in the average thickness of fat accumulated in the tail insertion region starting in the final third of pregnancy, with a decrease in this when compared to the other moments. A positive correlation ($r=0.81$) was found between increased body weight and ECC. In view of the observed results, it is concluded that pregnancy causes an increase in the number of circulating red blood cells as well as variations in hematocrit, fibrinogen in addition to thrombocytopenia and can influence biochemical constituents in addition to mobilizing fat deposits of animals of the Brazilian Pony mares during the period.

Keywords: horse, blood count, pregnancy.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. A raça Pônei Brasileiro	14
2.2. Anatomia reprodutiva equina.....	16
2.3. Fisiologia da reprodução equina	19
2.4. Hematologia e bioquímica da égua gestante.....	20
2.5. Avaliação da composição corporal em equinos	23
CAPÍTULO I	26
<i>Efeitos da gestação sobre o perfil hematológico de éguas da raça Pônei Brasileiro</i>	27
CAPÍTULO II	44
<i>Efeitos da gestação sobre o perfil bioquímico de éguas da raça Pônei Brasileiro.</i>	45
CAPÍTULO III	57
<i>Avaliação da composição corporal de fêmeas da raça Pônei Brasileiro durante a</i> <i>gestação.....</i>	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
ANEXOS.....	83

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a equideocultura vem passando por uma mudança sistemática de perfil no que tange ao emprego do cavalo no dia a dia da vida moderna. Com o aumento ocorrido da chamada população de classe média no país, cada vez mais encontra o cavalo no meio urbano, sendo utilizado, sobretudo para lazer e esporte e trazendo consigo também uma mudança no modelo de criação, pois, ao contrário dos cavalos usados para trabalho, este requer maior gasto financeiro e cuidados (MAPA, 2016).

No Brasil e no mundo a criação de pôneis se popularizou nas últimas décadas abrindo um vasto mercado de comércio. Apesar de amplamente conhecidos, os pôneis não devem ser tratados como raças de pequeno porte, uma vez que apresentam características intrínsecas ao modelo de seleção a que foram submetidos durante seu processo de desenvolvimento e pela manipulação de cruzamentos realizados pelo homem (CANIBAL, 2008). Devido ao seu pequeno porte, é frequente a ocorrência de distocias em éguas pôneis, acompanhadas de sérias consequências para os neonatos e para as éguas, tornando a compreensão dos fatores que desencadeiam tal processo ponto chave para o sucesso da criação (DA COSTA et al., 1998; LU et al., 2006).

Para acompanhamento desses animais, os perfis hematológicos e bioquímicos são comumente utilizados na medicina equina na avaliação de animais clinicamente saudáveis, para identificar condições que possam aumentar o risco de anestesia ou cirurgia, diagnosticar uma doença e avaliar sua gravidade e consequências, formular um prognóstico e monitorar a resposta à terapêutica ou a progressão da doença. Apesar de sua importância clínica, a interpretação é por vezes difícil, pois muitos fatores podem modificar significativamente os parâmetros laboratoriais, como sexo, idade, raça, dieta, atividade física, condições ambientais, treinamento, gerenciamento de amostras, procedimentos laboratoriais, estado de saúde, doenças subclínicas e gestação (ROSE & HODGSON, 1994).

Estudos realizados com a finalidade de avaliar o perfil hematológico e bioquímico de éguas no periparto identificaram alterações contundentes durante este período sem, contudo, estarem relacionadas a afecções clínicas e sim à dinâmica gestacional. Mariella et al. (2014) observaram diminuição na concentração de hemoglobina e no hematócrito na semana que antecedeu o parto em éguas de corrida, bem como em

diversas variáveis bioquímicas. Bazzano et al. (2014) identificaram um aumento significativo nas concentrações de neutrófilos em éguas próximo ao parto e, da mesma forma, uma diminuição no número de linfócitos. Ademais, poucos estudos buscam identificar tais alterações na raça pônei. Frente a este contexto, este estudo objetiva elucidar se a gestação desencadeia alterações clínico-laboratoriais em éguas da raça Pônei Brasileiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A raça Pônei Brasileiro

A parceria entre o cavalo e o homem é uma das mais bem-sucedidas na história recente da humanidade e sem a qual provavelmente o homem não teria realizado muitos de seus "grandes feitos". O início da equitação, por volta de 6.000 anos nas estepes da Ásia Central causou tal impacto sobre as relações humanas que todas as atuais civilizações de vanguarda foram formadas na Era Equestre, que vicejou de 1500 a.C. até 1900 d.C. As sociedades desprovidas de cavalos jamais ultrapassaram a condição de cidade/estado (ROESSLER & RINK, 2006). Já para o desenvolvimento nacional a importância dos cavalos vem desde os tempos do Brasil Colônia, nos ciclos extrativistas, agrícolas e de mineração. O animal participou das incursões do homem ao interior do território brasileiro e serviu como aparato armamentista para as Forças Armadas (GUERRA & MEDEIROS, 2006).

Caminhando lado a lado como o progresso das cidades e a expansão de fronteiras e territórios, o cavalo era peça fundamental em qualquer nova empreitada. Contudo, o tempo passou e, mesmo o cavalo possuindo um papel importante tanto na guerra quanto na produção agrícola e meio de transporte, a partir do advento de máquinas cada vez mais modernas, este teve parte de suas antigas funções subtraídas e assim novas funções com importância econômica relevante surgiram, dentre as quais destacam-se os esportes equestres e atividades de lazer (STEPHEN, 2005).

Neste contexto, o interesse pela criação de pôneis tem crescido vertiginosamente durante os últimos anos, fazendo com que a indústria de cavalos em miniatura apresente registros de mais de 100.000 animais em todo o mundo (GASTAL et al., 2008). Existem muitas raças de pôneis espalhadas por vários continentes, sendo que as mais tradicionais se encontram na Europa. Na América do Sul, além dos pôneis argentinos, uruguaios e paraguaios destacam-se os pôneis brasileiros, das raças Piquira e Brasileira (ABCCPônei, 2019).

Os animais da raça Pônei Brasileiro são responsáveis por uma parcela de 1,19% do rebanho total brasileiro, ocupando a 9ª colocação no ranking de raças criadas em território nacional. Apesar de parecer pouco expressivo, neste mesmo ranking, o pônei figura a frente de raças importantes como o Pampa,

Panit Horse, Brasileiro de Hipismo e Puro Sangue Inglês (MAPA, 2016). Segundo a Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Pônei (ABCCPônei), existem atualmente setenta e dois criatórios oficiais registrados no país. Deste total, doze encontram-se no Estado do Rio de Janeiro, sendo considerado o terceiro maior produtor.

A criação de raças equinas miniatura tem padrões distintos em diferentes partes do mundo. Nos Estados Unidos, a American Shetland Pony Club (ASPC) fundada em 1888, subdividiu o registro em duas categorias: animais com até 86 cm (Tipo A) e animais de 86 a 96 cm (Tipo B) (SONDER, 2012). No Brasil, a designação Pônei é aplicada aos equinos de baixa estatura e sua altura na cernelha deve ser inferior 150 cm. Neste contexto, a Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Pônei, tornou-se responsável pelo registro genealógico no Brasil das raças Piquira, Haflinger, Welsh Mountain Pony, Shetland, Pônei de Hipismo, Fjord e Reitpony e estabelece como Padrão Racial para a raça Pônei Brasileiro que os animais não ultrapassem a altura na cernelha de 100 cm para machos e 110 cm para fêmeas, sendo a estatura ideal 0,90 cm (ABCCPônei, 2019).

Morfologicamente, possuem cabeça de forma triangular com orelhas pequenas e bem implantadas, olhos vivos e expressivos, narinas delicadas, abertas e flexíveis. Seu pescoço tem comprimento e musculatura proporcionais com crinas fartas e sedosas. Tronco forte e compacto com dorso-lombo curto, reto e forte, garupa bem musculada, de forma arredondada e harmoniosamente ligada ao lombo. Membros proporcionais, fortes e bem aprumados (ABCCPônei, 2019). Ademais, o cavalo pônei é muito procurado para sua utilização no lazer de crianças e na equoterapia por apresentar um porte pequeno que diminui os riscos de acidentes (BARTHOLAZZI JUNIOR et al., 2017).

A Associação Brasileira dos Criados do Cavalo Pônei procura, através do Padrão Racial, padronizar os animais das raças Brasileira e Piquira, controlando também as raças exóticas como Shetland inglesa e americana, Welsh Moutain Pony também inglesa e a austríaca Haflinger (ABCCPônei, 2019). No Brasil, as raças de cavalos em miniatura, incluindo o Pônei Brasileiro tornaram-se populares a partir da década de 70 e seu uso destina-se principalmente a iniciação equestre de crianças, programas de terapia e ainda empregados como

tração leve. São considerados animais dóceis e têm proporções corporais semelhantes a cavalos de raças de tiro (RUA et al., 2016).

2.2. Anatomia reprodutiva equina

Anatomicamente, as estruturas genitais femininas são divididas em órgãos responsáveis pela produção, transporte e armazenamento dos gametas reprodutivos e pelo órgão copulatório (figura 1). Os ovários produzem tanto gametas femininos quanto hormônios. As tubas uterinas pares capturam os oócitos liberados pelos ovários e os transportam para o útero, onde o ovo fertilizado é mantido. A vagina serve como órgão copulatório e, juntamente com sua continuação, o vestíbulo, como canal de parto e passagem para excreção urinária (KÖNIG & LIEBICH, 2011; BUDRAS et al., 2009).

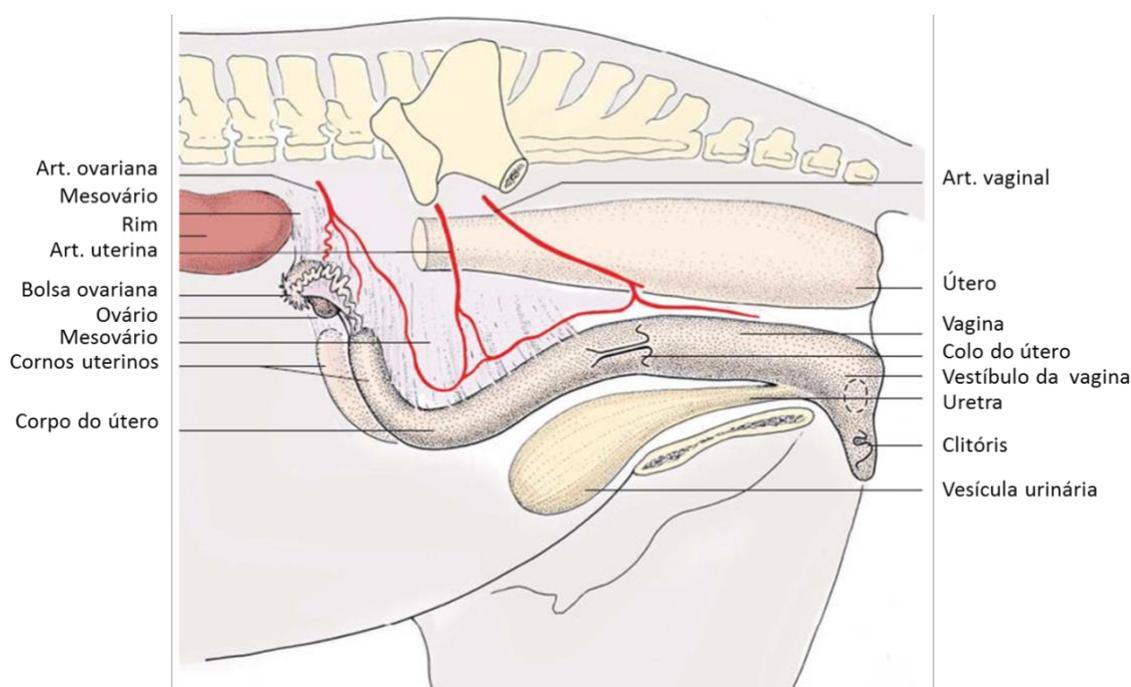


Figura 1. Representação esquemática do sistema reprodutor da égua (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

A principal fixação dos órgãos genitais é fornecida pelos ligamentos largos do útero direito e esquerdo. Os ligamentos largos são lâminas bilaterais que suspendem os ovários, as tubas uterinas e o útero do teto abdominal e das paredes pélvicas. Conforme o órgão que suspende, o ligamento largo pode ser dividido em três partes, o mesovário (fixa o ovário à região dorsolateral da parede abdominal), a mesossalpinge e o mesométrio. Além destes, o sistema genital

feminino ainda é sustentado pelo ligamento suspensor do ovário, ligamento próprio do ovário e ligamento redondo do útero (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

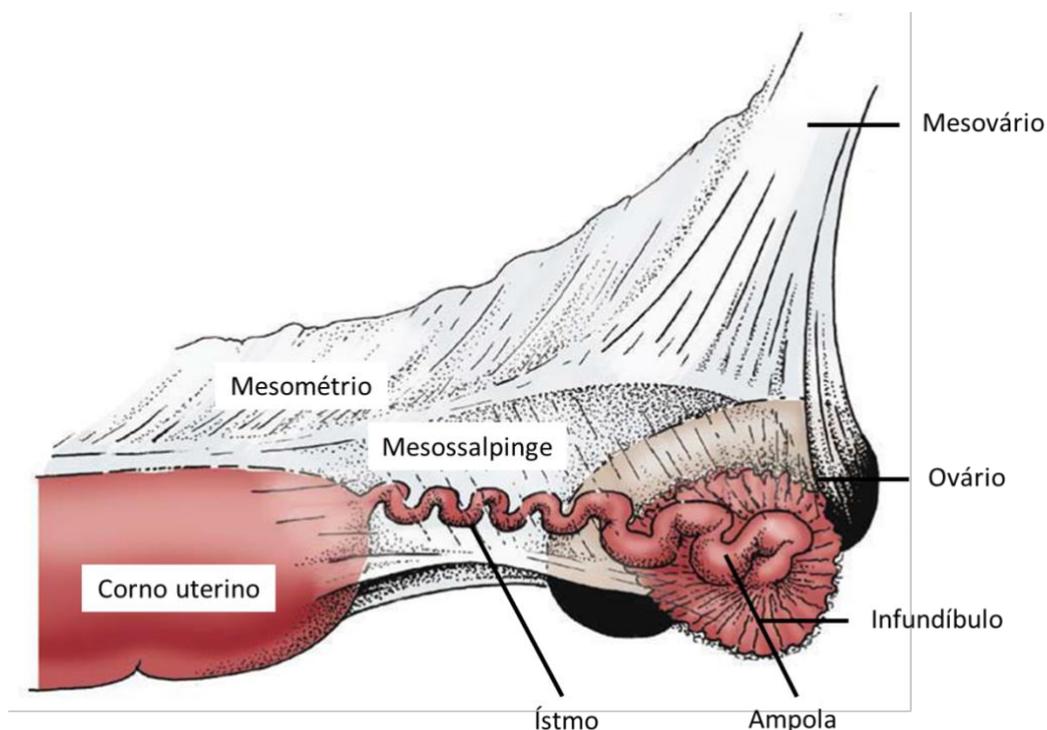


Figura 2. Vista lateral do ovário, tuba uterina e corno uterino direito (DYCE et al., 2010).

Os ovários da égua são considerados relativamente grandes (8 a 12 cm), situando-se caudal aos rins (BUDRAS et al., 2009). Ao contrário do que ocorre em outras espécies domésticas, na égua, a estrutura do ovário é invertida. A zona parenquimatosa com seus folículos forma o centro do órgão, o qual é envolvido por uma camada espessa e intensamente vascularizada de tecido conectivo que corresponde à medula dos outros mamíferos domésticos. A zona parenquimatosa alcança a superfície do ovário na fossa ovariana, uma depressão profunda na margem livre do órgão, onde todos os folículos maduros irrompem (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

Após a ovulação, as tubas uterinas são responsáveis por levar os oócitos até o útero. Estes são capturados pelo infundíbulo por meio de suas fímbrias e se liga à fossa ovulatória, criando uma estrutura circunscrita semelhante a um “funil”, denominada óstio abdominal (BUDRAS et al., 2009). O óstio abdominal leva à ampola, onde normalmente ocorre a fertilização. O ovócito permanece na ampola durante alguns dias antes de ser transportado para a extremidade do corno do útero pela parte mais estreita e contorcida da tuba, o ístmo. A tuba

uterina se abre no corno uterino através do óstio uterino e marca o local da união entre o útero e a tuba (junção útero-tubárica) (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

O útero da égua possui um corpo amplo e dois cornos divergentes, compostos por três camadas – endométrio (camada mucosa interna), miométrio (camada muscular) e perimétrio (camada serosa externa) – os quais se elevam em direção ao teto do abdome, acima da massa intestinal (KÖNIG & LIEBICH, 2011). A cervix é responsável por promover a ligação entre o corpo do útero e a vagina, onde se abre no óstio uterino externo, projetando-se em um espaço anular denominado fornix vaginal (BUDRAS et al., 2009). Exceto por ocasião do cio e do parto, o canal da cervix permanece fechado, evitando assim a contaminação do ambiente uterino (DYCE et al., 2010).

A vagina encontra-se no centro da cavidade pélvica, ventral ao reto e dorsal à bexiga e uretra (BUDRAS et al., 2009). Possui paredes finas e, embora seu lúmen esteja normalmente fechado pelas paredes dorsal e ventral, o órgão, é notavelmente distensível em comprimento e circunferência. Resquícios do hímen são delimitados por uma dobra transversal cranial à abertura da uretra e, embora variável, é geralmente mais proeminente do que em outras espécies domésticas (DYCE et al., 2010). O vestíbulo é a parte caudal do órgão copulatório. Ele se prolonga desde o óstio externo da uretra até a vulva externa e combina funções reprodutoras e urinárias (KÖNIG & LIEBICH, 2011). A vulva compreende dois lábios que rodeiam a abertura vulvar formando uma comissura dorsal e ventral onde posiciona-se o clitóris (BUDRAS et al., 2009).

O suprimento sanguíneo e dos órgãos reprodutivos são principalmente fornecidos pelas artérias ovariana (oriunda da artéria aorta), uterina (ligada à artéria ilíaca externa) e vaginal. Da mesma forma as veias que drenam estas estruturas são satélites às artérias correspondentes (DYCE et al., 2010). A inervação ocorre pelo sistema nervoso autônomo. Os ovários recebem fibras simpáticas do plexo intermesentérico e do plexo mesentérico caudal, e fibras parassimpáticas do vago. O restante do sistema genital feminino recebe inervação parassimpática e simpática por meio do plexo pélvico (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

2.3. Fisiologia da reprodução equina

A atividade reprodutiva dos equinos é sazonal fazendo com que estes sejam considerados reprodutores de “dias longos”, uma vez que sua atividade reprodutiva é estimulada principalmente pelo aumento do comprimento do dia (ou seja, pelo aumento do fotoperíodo), que ocorre na primavera; já a diminuição do fotoperíodo estimula o término da estação reprodutiva (PTASZYNSKA, 2007). Todavia, éguas em boa condição corporal e com disponibilidade de alimento criadas em regiões de menor latitude (próximas à linha do Equador, onde há pouca variação do fotoperíodo) tendem a ciclar durante todo o ano, sendo assim consideradas poliéstricas anuais (WESSON & GINTHER, 1981). Outros fatores secundários relacionados à primavera, como o aumento da temperatura e a melhora da qualidade do alimento, também podem influenciar positivamente os animais antecipando o início da estação reprodutiva (PTASZYNSKA, 2007).

Segundo Silva et al. (1991), o ciclo reprodutivo da égua pode ser dividido em duas fases distintas, o estro, momento em que a fêmea encontra-se sexualmente receptiva ao macho e seu sistema reprodutivo prepara-se para uma possível fertilização, e o diestro (ou fase luteal), caracterizada pela não mais aceitação da cópula e pela preparação do trato genital para aceitar e manter o desenvolvimento do concepto (DAELS & HUGHES, 1992).

A ovulação envolve um complexo mecanismo hormonal regulado principalmente pela luminosidade ambiente (McCUE et al, 2014), fazendo com que o hipotálamo seja estimulado a secretar o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), responsável por atuar diretamente na hipófise, provocando a liberação de hormônio luteinizante (LH) e do hormônio estimulante do folículo (FSH). As ondas de FSH e LH provocam o desenvolvimento dos folículos com menos de 2 mm de diâmetro até a ovulação (HAFEZ, 2004). Além disso, o pico de secreção do estrogênio coincide com o desenvolvimento máximo do folículo, próximo da ovulação, desencadeando os sinais do cio. O LH atua no corpo hemorrágico (formado no ovário após a ovulação do folículo), estimulando a produção de progesterona, responsável pela manutenção da gestação (BERGFELT et al., 2007).

A partir do reconhecimento materno da gestação inicia-se um processo caracterizado pelo prolongamento do período funcional do corpo lúteo cíclico que

será responsável inicialmente pela manutenção das altas concentrações de progesterona na corrente sanguínea até a primeira metade da gestação. Posteriormente esta função passa a ser desempenhada pelos cálices endometriais presentes na placenta (HAFEZ, 2004, McKINNON et al., 2011). Uma vez não ocorrida a fecundação ou quando a gestação não é reconhecida, o endométrio começa a secretar prostaglandina $\text{PGF}_{2\alpha}$, o que provocará a luteólise, permitindo a liberação de gonadotrofinas e o retorno do animal ao estro (PTASZYNSKA, 2007).

Durante a estação reprodutiva, as éguas apresentam cio, em média, a cada 21 (18-24) dias; pôneis têm um ciclo um pouco mais longo, 25 dias em média (PTASZYNSKA, 2007). Além disso, o comprimento gestacional normal para a égua é bastante variável, compreendendo um período de aproximadamente 344 dias com um intervalo de 315 a 388 dias. Esta variabilidade é muito maior do que a de outras espécies domésticas, demonstrando que a gestação na égua pode ser altamente suscetível a fatores internos e externos (DAVIES MOREL et al., 20).

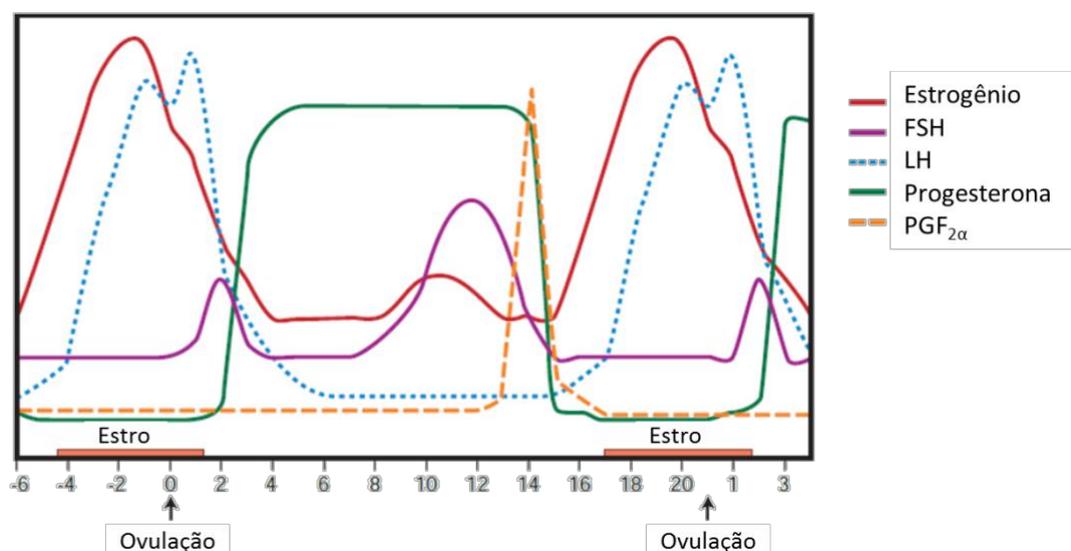


Figura 3. O ciclo estral da égua. Fonte: BRINSKO et. al., 2010.

2.4. Hematologia e bioquímica da égua gestante

Durante o período gestacional a fêmea torna-se susceptível a mudanças fisiológicas em decorrência do desenvolvimento fetal, levando a um aumento das exigências nutricionais e ocasionando alterações de suas variáveis fisiológicas, hematológicas e bioquímicas (GRAVENA et al., 2010). Assim sendo, o

conhecimento da dinâmica hematológica de éguas na gestação e periparto são fundamentais não apenas para diagnosticar doenças que podem levar risco de morte a égua e ao potro, mas também servir ao monitoramento da evolução clínica (MARIELLA et al., 2014), e avaliar a ocorrência de distúrbios pós-parto (TAYLOR-MACALLISTER et al., 1997).

A disponibilidade de informações acerca de tais alterações é considerada ampla para espécie humana, com diversos estudos caracterizando momentos diferentes da gestação e ainda a influência de diversas patologias neste período (ROBINSON et al., 2017). Segundo Rizack & Rosene-Montella, durante a gestação em mulheres, o volume plasmático aumenta cerca de 50% rapidamente na sexta semana de gestação e mais gradualmente, atingindo seu pico na trigésima semana. Já a massa eritrocitária aumenta apenas 18% a 30% durante a gravidez, resultando em um efeito de diluição (hematócrito 30% - 32%), referido como anemia fisiológica da gravidez. Outros estudos têm apontado desordens sistêmicas e distúrbios circulatórios quando comparado mulheres grávidas e não-grávidas, evidenciando ainda mais a necessidade de acompanhamento periódico durante toda a gestação (TAYLOR et al., 2018). Contudo, a espécie equina ainda carece de informações que abarquem o período gestacional por completo.

A principal alteração monitorada na série vermelha do hemograma é a anemia podendo esta ser relativa (resultado do aumento do volume plasmático), hemorrágica, hemolítica (infecciosa ou não) e sempre requer um acompanhamento minucioso por parte do clínico (LORDING, 2008). Informações relevantes do histórico do animal incluem idade no início dos sinais clínicos, status reprodutivo, dieta, evidência de perda de sangue, doença inflamatória ou perda de peso, ingestão recente de colostro (potros), administração de drogas ou exposição a plantas tóxicas ou produtos químicos (LELEU et al., 2005; MCGOWAN, 2008).

Segundo Wong (1992), o estresse físico aumenta o nível de cortisol no sangue e a razão neutrófilos para linfócitos em cavalos, e embora a concentração de cortisol não se altere no sistema materno durante a gravidez, elas aumentam devido ao estresse no parto, o que também foi observado por Aoki & Ishii (2012). Além disso, os mesmos constataram um aumento das

concentrações circulantes de albumina próximo ao parto, refletindo em um quadro transitório de desidratação, encontrado também por Mariella (2014). Também já foram observadas variações nas concentrações hormonais que levam a uma expansão no volume plasmático e na quantidade de hemácias circulantes, e um aumento na síntese de proteínas no plasma (SATUÉ et al., 2013).

Estudo realizados por Gentry (1992) demonstraram alterações em alguns fatores de coagulação no período final da gestação de éguas e correlacionaram o mesmo a um efeito seletivo da adrenalina e do exercício sobre o aumento da atividade plasmática do fator de von Willebrand, sem, contudo, elucidar totalmente seu mecanismo. Em outras espécies, tais alterações no pós-parto imediato podem ser explicadas por uma maior ocorrência de sangramento endometrial (BERMAN, 1974; ALLARD et al., 1989), o que não é possível na égua, devido às características específicas da placenta (epiteliocorial difusa), sendo esta perda possível apenas em casos de dano uterino, cervical ou vaginal (MARIELLA et al., 2014).

O último terço da gestação é considerado o período mais crítico nestas mudanças, uma vez que irá ocorrer um aumento significativo na demanda nutricional da égua, que em muitos casos pode ser acompanhado de um balanço energético negativo, deixando-a mais susceptível ao desenvolvimento de doenças (BAZZANO et al., 2014). Estudos já demonstraram, por exemplo, alterações dos parâmetros sanguíneos em diferentes fases da reprodução, queda nas concentrações séricas de potássio e creatinina durante a lactação e redução na concentração de cálcio ionizado no pós-parto (HARVEY et al., 2005; HOLCOMBE et al., 2016). Também já foram observadas diferenças significativas nos níveis séricos de albumina, ureia e glicose com um aumento significativo nos níveis de proteínas totais e creatinina entre as éguas vazias e gestantes (ANDREAZZI, et al., 2015).

Segundo demonstrado por Martins (2014), a grande demanda do útero gravídico na gliconeogênese apresenta uma resposta fisiológica do fígado, semelhante ao estado de colestase, podendo alterar os níveis séricos da GGT. É importante ressaltar que tais alterações devem sempre ser correlacionadas com existência de processos patológicos concomitantes à gestação, uma vez

que a função hepática e renal poderão estar afetadas nestes casos, comprometendo inclusive a viabilidade da gestação (MOTA, 2003). O mesmo deve ser observado com relação ao aporte nutricional e condição corporal da égua (SCHÖPKE et al., 2003).

A subsequente produção de colostro e lactação também podem interferir no perfil bioquímico dos animais. Estudos demonstraram aumento na creatinina sérica durante o final da gestação e início da lactação. O mesmo foi evidenciado nas concentrações de bilirrubina e cálcio e um aumento discreto nos níveis de fósforo no mesmo período (HARVEY et al., 2005).

Assim, a investigação do estado metabólico e sua correlação com a bioquímica sanguínea é considerada vital para o acompanhamento dos animais gestantes, bem como demonstra a necessidade cada vez mais evidente de determinar valores médios de cada variável hematológica e bioquímica durante os diferentes períodos da gestação afim de fornecer um atendimento e acompanhamento clínico dos animais (FARAMARZI et al., 2018).

Já existe uma vasta literatura abordando as alterações no intervalo de referência do perfil hematológico e bioquímico de equinos em diferentes faixas etárias, nível de exercício, dieta e condição corporal. Contudo, o acompanhamento da gestação sempre foi abordado em períodos isolados, subdivididos principalmente em terço inicial e final da gestação e pós-parto imediato, havendo ainda escassez de dados sobre o acompanhamento mensal ou entre as diferentes raças.

2.5. Avaliação da composição corporal em equinos

A gordura corporal é considerada um bom indicador no que se refere às reservas energéticas corporais. Assim, estabelecer parâmetros de avaliação e acompanhamento do estado nutricional de animais de forma simples e objetiva tornou-se fundamental para o acompanhamento do desenvolvimento dos animais (BEWLEY & SCHUTZ, 2008). Para tanto, a avaliação visual da condição corporal mediante a deposição de gordura subcutânea e sua classificação em escores numéricos de pontuação tem sido amplamente utilizada em diferentes

espécies, especialmente naquelas de maior interesse zootécnico como ruminantes e equídeos.

Estabelecendo como ponto de partida as primeiras tabelas de classificação de escore de condição corporal (ECC) da espécie bovina, a avaliação do ECC em equinos baseou-se na observação de pontos específicos de deposição de gordura subcutânea e passou a ser empregado em larga escala, sobretudo a partir de parâmetros propostos por Henneck et al. (1983), no qual o animal pode ser classificado de muito magro até obeso em uma escala de zero a nove, tomando por referência a observação e palpação da cobertura de gordura em seis áreas distintas: borda dorsal do pescoço, cernelha, costelas, parte posterior das espáduas, processos espinhosos lombares e área da base da cauda. O mesmo estudo estabeleceu ainda o ECC 5 (moderado) como ideal, levando em consideração o desempenho reprodutivo.

Posteriormente, Carrol & Huntington (1988) propuseram também um método modificado a partir do proposto por Leighton-Hardman (1980) para classificação do ECC em equinos com base na avaliação visual e palpação do acúmulo de gordura no pescoço, tronco (dorso lombo e costelas) e garupa. Diferentemente dos demais sistemas, este adota uma classificação de zero (animal muito magro) a cinco (animal muito gordo), acrescentando-se 0,5 pontos quando a garupa apresenta características de pontuação diferentes daquela em que o pescoço e o tronco se enquadram.

Apesar do método proposto por Henneck et al. (1983) ser o mais difundido internacionalmente, este sistema foi originalmente desenvolvido para uso em animais da raça Quarto de Milha e é, portanto, mais apropriado para uso em animais com padrões de deposição de gordura semelhantes a este (MORLEY & MURRAY, 2014). No entanto, um método útil para avaliação da adiposidade geral e regional, denominado “deposição de gordura na crista do pescoço” (EDGCP) foi desenvolvido por Carter et al. (2009) e vem sendo utilizado no monitoramento da adiposidade em pôneis e correlacionado positivamente com o surgimento da Síndrome Metabólica Equina e ocorrência da laminite. O método consiste na avaliação da deposição de gordura na borda dorsal do pescoço, classificando-o em escores que variam de um a cinco em uma escala crescente de acordo com a espessura e quantidade de gordura observadas.

Por se tratar de um método prático e simples, sem a necessidade do uso de aparelhos, a avaliação e classificação dos animais por ECC se tornou a forma mais utilizada por profissionais da área, entretanto, embora a classificação da condição corporal externa seja importante, este sistema recebe críticas uma vez que o teor de gordura muscular é altamente variável e a extensão dos depósitos internos de gordura não pode ser avaliada visualmente (DUGDALE, et al., 2012). Além disso, embora a ECC seja um indicador usado constantemente em estudos sobre nutrição e reprodução animal, por tratar-se de método subjetivo, este pode variar dependendo da experiência dos avaliadores (MOTTET et al., 2009).

Apesar de diferentes estudos terem encontrado correlação positiva entre a deposição de gordura corporal e o ECC, uma avaliação mais concisa a fim de quantificar precisamente a quantidade de gordura exige o abate dos animais, tornando o processo muito laborioso e inviável economicamente, além de ir contra o bem-estar animal, acarretando na busca por métodos menos agressivos (ARGO et al., 2014).

O padrão-ouro para a análise da composição corporal é a análise de cadáveres, portanto, nenhuma técnica *in vivo* pode ser considerada para atender aos mais altos critérios de precisão (WELLS & FEWTRELL, 2006). Com a expectativa de minimizar erros, a adaptação de técnicas não-invasivas, como, por exemplo, aquelas conseguidas por exame de imagem, passaram a ser estudadas e empregadas para determinação da composição corporal em animais de produção, proporcionando grandes avanços no desenvolvimento e acompanhamento de animais destinados à produção de alimento. Foram testadas diversas técnicas a partir do uso das mais diferentes tecnologias, como a avaliação por raio-x, tomografia computadorizada, ressonância magnética e ultrassom, sendo este último o mais difundido devido a praticidade e baixo custo (SCHOLZ et al., 2015).

Até agora, a avaliação ultrassonográfica da espessura da gordura tem sido proposta como o método mais preciso, objetivo e não invasivo para medir a distribuição de gordura subcutânea em equinos vivos (CARTER & DUGDALE, 2013), podendo inclusive ser utilizado para monitorar o manejo, nutrição e treinamento dos equinos de forma mais precisa e objetiva (GOBESSO et al., 2014).

CAPÍTULO I

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo científico, com sua formatação de acordo com as orientações da revista a que foi submetido:

Efeitos da gestação sobre o perfil hematológico de éguas da raça Pônei Brasileiro

De acordo com normas para publicação no periódico Ciência Rural.

Efeitos da gestação sobre o perfil hematológico de éguas da raça Pônei Brasileiro

RESUMO

O período gestacional é um desafio para o organismo materno, uma vez que este evento é capaz de influenciar os diferentes sistemas orgânicos, assim para conhecer sua influências sobre os constituintes sanguíneos é fundamental o monitoramento da saúde da égua e do concepto. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da gestação sobre o perfil hematológico de fêmeas da raça Pônei Brasileiro. Amostras de sangue total foram colhidas de 18 éguas antes da concepção e gestação (M0), do primeiro mês de gestação até o momento do parto (M1 a M11) e no sétimo dia pós-parto (M12). Após análise da variância e realização do teste de médias (Tukey, $p < 0,05$), foi observado um aumento progressivo no número médio de hemácias em todo o período avaliado, além de oscilações significantes no hematócrito, fibrinogênio e uma diminuição no número total de plaquetas, estando abaixo do valor de referência, enquanto os demais componentes do eritrograma permaneceram inalterados. A gestação não alterou o leucograma. Diante dos resultados encontrados foi possível concluir que a gestação acarreta um aumento no número de hemácias circulantes, bem como variações no hematócrito, fibrinogênio, além de trombocitopenia em animais da raça Pônei Brasileiro.

Palavras-chave: cavalo, hemograma, gestação.

Effects of pregnancy on the hematological profile of Brazilian Pony mares

ABSTRACT

The gestational period is a challenge for the maternal organism since this event is capable of influencing the different organic systems, so knowing its influences on the blood constituents is essential to monitor the health of the mare and the fetus. The aim of the present study was to evaluate the influence of pregnancy on the hematological profile of females of the Brazilian Pony breed. Whole blood samples were collected from 18 mares before conception and gestation (M0), from the first month of gestation until the time of delivery (M1 to M11) and on the seventh postpartum day (M12). After analyzing the variance and performing the means test (Tukey, $p < 0.05$), a progressive increase in the average number of red blood cells was observed throughout the evaluated period, in addition to significant fluctuations in hematocrit and fibrinogen and a decrease in the total number of below the reference value while the other components of the erythrogram remained unchanged. Pregnancy did not alter the white blood cell count. In view of the results found, it was possible to conclude that pregnancy causes an increase in the number of circulating red blood cells as well as variations in hematocrit, fibrinogen in addition to thrombocytopenia in animals of the Brazilian Pony breed.

Keywords: horse, blood count, gestation.

INTRODUÇÃO

A gestação é considerada um dos períodos de maior estresse fisiológico para a vida de qualquer animal. A partir da concepção, o desenvolvimento fetal acarreta mudanças significativas que incluem desde alterações homeostáticas até comportamentais que podem se intensificar próximo ao momento do parto. Contínuas variações fisiológicas que ocorrem são fundamentais para sustentar e proteger o feto em desenvolvimento e também para preparar o animal gestante para o parto (CARLIN & ALFIREVIC, 2008) e, apesar da semelhança fenotípica, pôneis não devem ser vistos como versões menores de raças equinas maiores, pois estes passaram por anos de reprodução seletiva, levando a demandas fisiológicas e metabólicas únicas (FRANKENY, 2003).

Independente do fim ao qual se destina ou fase produtiva em que se encontre o animal, para um acompanhamento clínico exitoso os perfis hematológicos e bioquímicos são comumente utilizados na medicina equina por diversas razões: na avaliação de animais clinicamente saudáveis, para identificar condições que possam aumentar o risco de anestesia ou cirurgia, diagnosticar uma doença e avaliar sua gravidade e consequências, formular um prognóstico e monitorar a resposta à terapêutica ou a progressão da doença. Apesar de sua importância clínica, a interpretação é por vezes difícil, pois muitos fatores podem modificar significativamente os parâmetros laboratoriais como sexo, idade, raça, dieta, atividade física, condições ambientais, treinamento, gerenciamento de amostras, procedimentos laboratoriais, estado de saúde, doenças subclínicas e gestação (ROSE & HODGSON, 1994).

Neste contexto, os efeitos da gestação, parto e lactação sobre os parâmetros hematológicos têm sido estudados em diferentes espécies (NAZIFI et al., 2008; MORLEY & MURRAY, 2014; MARIELLA et al., 2014), fazendo com que o perfeito entendimento do estado fisiológico do animal, assim como o acompanhamento da gestação permitam o reconhecimento de anormalidades que possam colocar em risco a vida do mesmo (GLORIA et al., 2018). Além disso, conhecer estas alterações torna-se um fator primordial não só para garantir a sanidade materna e do concepto, bem como para manter os índices produtivos satisfatórios dentro de um rebanho, sendo ainda escassos os estudos que tratam exclusivamente de pôneis, o que, aliado à falta de informações sobre os padrões reprodutivos da raça e a grande presença de consanguinidade,

resultam em um alto percentual de partos distócicos (JUDD et al. 2004). Diante disso, o presente estudo objetivou avaliar e identificar o perfil hematológico de éguas da raça Pônei Brasileiro durando todo o período gestacional.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 éguas da raça Pônei Brasileiro clinicamente híginas com idade variando entre 5 e 11 anos oriundas de dois criatórios localizados no município de Campos dos Goytacazes-RJ. Todos os animais apresentavam calendário vacinal atualizado com imunização contra tétano, influenza, encefalomielite¹ e raiva². Durante todo período gestacional os animais foram mantidos em regime extensivo, com acesso a pastagem predominantemente composta por capim tifton (*Cynodon sp.*), sal mineral³ e água *ad libitum*.

As fêmeas foram acasaladas em sistema convencional por monta natural. O diagnóstico da gestação foi realizado por meio de exame do trato reprodutivo via transretal com auxílio de aparelho de ultrassonografia portátil⁴ para identificação precoce de vesícula gestacional. Cada animal utilizado neste ensaio foi também o seu controle no modelo experimental. O grupo controle foi obtido mediante avaliação dos animais antes da concepção e gestação (M0). Uma vez diagnosticada a prenhez, as éguas gestantes foram submetidas a avaliações mensais a partir do primeiro mês de gestação até o momento do parto (M1 a M11). Por fim foi realizada uma última avaliação até 7 dias pós-parto (M12).

As colheitas de sangue foram realizadas sempre no período matinal mediante punção venojugular, com prévia antissepsia e utilizando agulhas hipodérmicas⁵ (25x0,8mm) acopladas a seringas⁶ descartáveis e o material colhido acondicionado em frascos estéreis contendo Ácido Etileno Diamino Tetracético 10% (EDTA)⁷ e mantidas em caixa isotérmica em temperatura de 2 a 8°C até chegarem ao laboratório para processamento onde foram realizadas a contagem de eritrócitos (Hem), hematócrito (Hct), concentração de hemoglobina (Hb) e o cálculo dos índices hematimétricos absolutos: hemoglobina corpuscular média (HCM) volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e distribuição do diâmetro de eritrócitos (RWC). O hematócrito foi mensurado pelo método do micro-hematócrito, utilizando tubos capilares de 75 mm, centrifugados a 700g durante cinco minutos em microcentífuga⁸. A concentração do fibrinogênio foi obtida pelo método de

precipitação térmica e mensurado por refratômetro⁸ enquanto a concentração do fibrinogênio foi obtida pelo método de precipitação térmica e também mensurado pelo mesmo aparelho.

No leucograma foi aferido o número global de leucócitos e sua contagem diferencial. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada mediante a confecção de esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro e corados com corante rápido panótico⁹. Na sequência as lâminas foram observadas em microscópio¹⁰ com objetiva de 100x, na qual foi realizada a identificação de 100 células, de acordo com as características do núcleo e citoplasma. Na sequência foram obtidos valores percentuais e determinados os valores absolutos de cada célula, baseado no número total de leucócitos obtidos anteriormente. Também foi mensurado o número de plaquetas. As análises do eritrograma, contagem global de leucócitos e plaquetas foram realizadas mediante a utilização de um aparelho contador automático de células sanguíneas¹¹.

Os dados obtidos foram analisados pelo programa SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2011). Foi realizada a análise descritiva para obtenção das médias e dos desvios padrão para as características estudadas. Posteriormente, os dados foram submetidos aos testes de Lilliefors e de Cochran para verificação da normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. Atendidas as premissas da análise de variância, os mesmos foram submetidos a ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey, sendo adotado 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizadas as análises estatísticas do material coletado foi possível constatar um aumento progressivo no número médio de hemácias em todo o período avaliado. De forma semelhante, o hematócrito também apresentou uma oscilação com aumento progressivo mais acentuado a partir do sexto mês gestacional (M6) e perdurando até o pós-parto (M12), enquanto os demais componentes do eritrograma não diferiram estatisticamente. Por outro lado, a contagem de plaquetas e o fibrinogênio **variaram** durante todo período experimental com um aumento progressivo a partir do nono (M9) e décimo (M10) meses de gestação, respectivamente, até sete dias após o parto (M12). Com

exceção da contagem total de plaquetas, todos os parâmetros avaliados se mantiveram dentro dos intervalos de referência para a espécie (tabela 1).

Tabela 1. Média ± desvio padrão dos valores de hemácias, hematócrito (Hct), hemoglobina (Hb), hemoglobina corpuscular média (HCM), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), distribuição do diâmetro de eritrócitos (RCW), proteína total (Pt), fibrinogênio (Fib) e plaquetas em éguas da raça Pônei Brasileiro (n=18) desde a concepção (M0) até o 11^o mês de gestação (M11) e no pós-parto (M12):

Momento	Hemácia	Hct	Hb	HCM	VCM	CHCM	RDW	PT	Fib	Plaquetas
M 0	6,02±0,83 ^B	30,33±4,85 ^{BC}	9,79±1,68 ^A	16,28±0,49 ^A	50,73±2,87 ^A	31,94±1,45 ^A	17,41±0,49 ^A	8,25±0,99 ^A	421,10±157,22 ^A	174,25±57,85 ^B
M 1	6,20±0,85 ^{AB}	29,04±4,67 ^C	9,56±1,47 ^A	16,44±0,39 ^A	51,38±2,90 ^A	32,04±1,26 ^A	18,22±0,39 ^A	8,19±0,74 ^A	410,20±145,79 ^{AB}	191,31±46,50 ^B
M 2	6,44±0,90 ^{AB}	33,13±5,12 ^{ABC}	10,47±1,79 ^A	16,18±0,26 ^A	51,50±3,25 ^A	31,46±0,84 ^A	18,12±0,26 ^A	8,56±0,63 ^A	433,33±235,03 ^A	190,08±55,55 ^B
M 3	6,40±0,79 ^{AB}	32,72±4,80 ^{ABC}	10,43±1,76 ^A	16,25±1,47 ^A	51,15±3,44 ^A	31,82±1,54 ^A	17,56±1,47 ^A	8,58±0,78 ^A	423,31±122,54 ^A	189,00±60,56 ^B
M 4	6,19±0,67 ^{AB}	31,99±4,20 ^{ABC}	9,93±1,45 ^A	16,07±0,37 ^A	51,69±3,00 ^A	30,97±1,03 ^A	18,23±0,37 ^A	8,67±0,64 ^A	410,00±236,64 ^{AB}	200,87±41,51 ^{AB}
M 5	6,38±0,75 ^{AB}	32,66±4,26 ^{AB}	10,48±1,73 ^A	16,31±2,41 ^A	51,12±3,22 ^A	32,05±2,02 ^A	19,31±2,41 ^A	8,69±0,49 ^A	416,67±185,50 ^{AB}	207,75±61,94 ^{AB}
M 6	6,62±0,77 ^{AB}	34,18±4,62 ^{AB}	10,88±1,46 ^A	16,23±2,45 ^A	51,82±3,28 ^A	31,80±2,28 ^A	17,06±2,45 ^A	8,69±0,67 ^A	352,94±206,51 ^B	178,44±46,86 ^B
M 7	6,61±0,58 ^{AB}	34,01±3,28 ^{AB}	10,81±1,33 ^A	16,12±2,19 ^A	51,59±2,87 ^A	31,79±2,14 ^A	17,46±2,19 ^A	8,68±0,56 ^A	377,78±234,03 ^B	173,12±39,40 ^B
M 8	6,67±0,73 ^{AB}	34,71±3,78 ^{AB}	11,18±1,47 ^A	16,68±2,66 ^A	52,22±3,37 ^A	32,18±1,68 ^A	17,58±2,66 ^A	8,61±0,54 ^A	375,80±175,23 ^B	253,00±62,47 ^A
M 9	6,68±0,68 ^{AB}	35,00±3,67 ^{AB}	11,22±1,34 ^A	16,76±1,26 ^A	52,47±3,54 ^A	32,11±1,95 ^A	17,31±1,26 ^A	8,74±0,52 ^A	422,22±185,59 ^A	199,75±70,75 ^{AB}
M 10	6,76±0,56 ^A	35,99±3,52 ^A	11,29±1,19 ^A	16,78±1,37 ^A	53,33±3,85 ^A	31,43±1,63 ^A	18,03±1,37 ^A	8,50±0,48 ^A	423,33±187,19 ^A	174,88±56,48 ^B
M 11	6,80±0,68 ^A	36,53±3,67 ^A	11,40±1,34 ^A	16,71±1,47 ^A	53,92±3,90 ^A	31,18±1,97 ^A	17,95±1,47 ^A	8,40±0,20 ^A	446,01±180,08 ^A	159,62±39,08 ^B
M 12	6,83±0,93 ^A	36,47±4,83 ^A	11,28±1,63 ^A	16,48±0,44 ^A	53,65±4,17 ^A	31,48±2,52 ^A	17,26±0,44 ^A	8,25±0,53 ^A	527,27±173,73 ^A	182,65±73,84 ^B

Momento: Mês de gestação. Hemácia (x10⁹/µL), Hct (%), Hb (g/dL), HCM (Pg), VCM (fl), CHCM (%), Pt (g/dL), Plaqueta (x10³/µL). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

Durante a realização das pesquisas, as éguas utilizadas permaneceram sob a supervisão de seus proprietários e nenhum aspecto de sua rotina de manejo foi alterado, tornando-as uma melhor representação das condições normais de vida da população avaliada. Da mesma forma, as condições climáticas, nutrição e fatores ambientais foram semelhantes durante todo o período experimental.

Modificações no número de hemácias circulantes ao longo da gestação já haviam sido descritas em outras raças (HONDA et al., 2008, CETIN et al., 2009; SATUE et al., 2011, SILVA et al., 2019). Ainda segundo Souza et al. (2002), a partir do segundo terço da gestação, a maior taxa de crescimento fetal com subsequente aumento da taxa metabólica e por oxigênio estimulam a liberação de eritropoetina pelo tecido renal, resultando em aumento no número de hemácias circulantes para atender às exigências materno-fetais. Por outro lado, durante este período a produção de estrogênio pela placenta ocasiona um aumento na síntese de angiotensinogênio pelo fígado, levando também a elevação da angiotensina II, além do aumento nos níveis de aldosterona, o que ocasiona um incremento no volume sanguíneo sem necessariamente o incremento do número de hemácias (CHEUNG & LAFAYETTE, 2013).

Assim, os resultados encontrados na literatura divergem entre si. Enquanto Bonelli et al. (2016) Aoki & Ishii (2012) também encontraram um aumento no número de hemácias nesse mesmo período tendo o mesmo sido relacionado ao aumento na perda de água e eletrólitos, Souza et al. (2019) e Orozco et al. (2007) encontraram uma diminuição no total de hemácias e nos valores do hematócrito de éguas próximas ao momento do parto tendo relacionado o corrido a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Além disso, Cetin et al. (2009) afirmam que o tempo de vida circulante diminuído dos eritrócitos pode ser proposto como mais um mecanismo para variação das concentrações de hemácias e durante a gravidez. Diante disso, estudos mais detalhados envolvendo animais gestantes da raça Pônei Brasileiro necessitam ser realizados a fim de jogar luz sobre esta questão.

Não foram encontradas diferenças estatísticas ao longo do período experimental nas variáveis hemoglobina, hemoglobina corpuscular média, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média. Estudos anteriores realizados em éguas durante a gestação também não apontaram diferenças significativas na quantidade de hemoglobina, bem como

no volume corpuscular médio e na concentração de hemoglobina corpuscular média (AOKI & ISHII, 2014; MARIELLA et al, 2014). Por outro lado, Faramarzi et al. (2018) encontraram um número significativamente mais baixo de hemácias e de hemoglobina em éguas gestantes em comparação com éguas não gestantes tendo correlacionado esta variação ao aumento na demanda de oxigênio fetal frente ao avanço da gravidez.

É importante ressaltar que em equinos a eritropoiese é considerada uma resposta subsequente a macrocitose (SILVA et al., 2018) e ainda segundo Tvedten (2010) esta ocorre quando sua concentração se apresenta maior 53 fl. Isso corrobora os achados do presente estudo onde o pico do VCM a partir do M10 coincide também com um maior número de hemácias e também hemoglobina.

O fibrinogênio é mais conhecido por seu papel na coagulação sanguínea, onde facilita a agregação plaquetária (MOSESSON et al., 2009) já tendo sido descrito que alterações na sua atividade e de alguns fatores de coagulação podem ocorrer à medida que a gestação progride levando a uma elevação destes devido ao aumento da síntese proteica mediada pelo aumento dos níveis de estrogênio em mulheres (DE BOER et al., 1989).

Mais recentemente, Klein (2019) apontou que um aumento nos níveis de fibrinogênio estão correlacionados positivamente com a fixação do embrião durante as primeiras semanas da gestação equina. Ademais, é importante ressaltar que o fibrinogênio também é considerado uma proteína de fase aguda dos processos inflamatórios fazendo com que sua concentração se eleve durante a gestação e principalmente no parto, momento em que o animal passa por um grande esforço físico (CRAY et al., 2009), podendo este fator explicar o maior valor médio encontrado no M12.

As proteínas plasmáticas desempenham um importante papel na manutenção da homeostase fisiológica do corpo e são amplamente utilizadas como marcadores clínicos, uma vez que alterações da concentração plasmática ou sérica comumente são secundárias a várias doenças e podem ser o principal achado anormal em algumas enfermidades (THRALL et al., 2015). Ao avaliar éguas da raça Manga-larga Marchador durante o período de transição, Silva et al. (2019) observaram variações na quantidade de proteínas totais, contudo os autores destacam que aumentos próximos ao momento do parto podem estar

associados à produção de globulinas necessárias à formação do colostro, o que não foi observado no presente estudo.

Quanto ao número total de plaquetas foi possível perceber uma diferença estatística no segundo, terceiro e oitavo meses de gestação. Além disso, esta variável manteve-se abaixo dos valores de referência para espécie equina por praticamente todo o período avaliado com exceção apenas do quarto, quinto e sétimo meses de gestação (M4, M5 e M7), evidenciando uma trombocitopenia.

A total compreensão da trombocitopenia gestacional ainda permanece um desafio, mas já se sabe que a hemodiluição causada pelo aumento do volume plasmático, assim como o sequestro de plaquetas na placenta e no baço já foram indicados como fatores para tal (PISHKO et al., 2020).

Estudos transversais acompanhando a gravidez de mulheres saudáveis demonstraram que a contagem de plaquetas diminui durante a gravidez, particularmente no terceiro trimestre. Isso é denominado como "trombocitopenia gestacional" e é parcialmente ocasionada pela hemodiluição e associado ao aumento da ativação plaquetária e à liberação mais acelerada (SHEHATA et al., 1999). Em éguas, já foi demonstrado uma menor concentração de plaquetas no terço inicial da gestação, sendo este fato apontado como uma resposta à expansão do volume vascular associado ao maior consumo de plaquetas na circulação do útero placentário, enquanto que aumentos no terço gestacional final têm sido correlacionados a uma resposta adaptativa antecedente ao parto (CANCELIER, 2017). De maneira semelhante, o presente estudo verificou aumento na contagem de plaquetas no quarto e quinto mês de gestação e posteriormente no oitavo mês, porém este aumento não se manteve no período que antecedeu o parto.

Ademais, é importante ressaltar que a trombocitopenia já foi descrita em equinos secundariamente a anaplasiose, piroplasmose, acidente ofídico ou ainda de origem autoimune secundária a transfusões sanguíneas entre grupos incompatíveis (DENOTTA & BROOKS, 2020), sendo causas descartadas no presente estudo em virtude do acompanhamento realizado durante a condução do mesmo.

Ao analisar o leucograma não foram encontradas diferenças estatísticas entre os diferentes momentos avaliados, apesar de terem ocorrido oscilações entre os momentos avaliados (tabela 2). O mesmo foi relatado por Gravena et

al. (2010) ao avaliar jumentas e por Cancelier (2017) ao acompanhar éguas da raça Crioula por toda a gestação.

Tabela 2. Média ± desvio padrão dos valores de leucócitos, neutrófilos bastonetes (N. Bast), neutrófilos segmentados (N. Seg) basófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos (/ μ L) em éguas da raça Pônei Brasileiro (n=18) desde a concepção (M 0) até o 1^o mês de gestação (M 11) e no pós-parto (M 12):

Momento	Leucócitos	N. Bast	N. Seg	Basófilo	Eosinófilo	Linfócito	Monócito
M 0	9.762,50±1.769,53 ^A	38,25±41,90 ^A	4.534,50±1.152,50 ^A	64,80±50,82 ^A	470,00±261,46 ^A	2.354,13±1.332,21 ^A	379,19±263,57 ^A
M 1	10.058,33±2.120,47 ^A	39,17±64,23 ^A	5.260,33±1.827,35 ^A	72,73±42,86 ^A	629,67±302,92 ^A	2.883,64±1.547,29 ^A	384,00±193,22 ^A
M 2	10.255,56±2.792,90 ^A	20,44±45,23 ^A	4.238,89±1.059,57 ^A	53,43±44,45 ^A	546,11±311,24 ^A	3.099,57±1.214,44 ^A	301,33±174,79 ^A
M 3	10.60,00±2.557,93 ^A	21,27±41,47 ^A	4.571,20±1.115,66 ^A	61,25±48,50 ^A	610,00±403,72 ^A	2.800,33±1.102,55 ^A	414,60±948,65 ^A
M 4	11.366,67±3.547,30 ^A	24,21±22,77 ^A	3.982,67±2.012,12 ^A	57,01±55,82 ^A	776,67±334,14 ^A	2.353,50±1.441,12 ^A	294,33±131,05 ^A
M 5	9.650,00±1.571,62 ^A	26,50±53,00 ^A	4.486,25±1.106,90 ^A	37,33±26,00 ^A	555,00±273,71 ^A	3.522,33±1.896,14 ^A	275,25±187,90 ^A
M 6	8.512,50±1.240,32 ^A	21,54±25,87 ^A	4.708,38±1.051,35 ^A	22,50±21,67 ^A	307,38±207,75 ^A	2.566,25±1.142,15 ^A	215,50±114,34 ^A
M 7	9.044,44±1.850,75 ^A	20,67±44,20 ^A	4.385,67±1.925,77 ^A	66,56±39,84 ^A	372,11±193,19 ^A	3.292,89±1.236,27 ^A	206,56±166,46 ^A
M 8	9.528,57±1.354,89 ^A	27,71±47,33 ^A	4.376,29±1.166,97 ^A	95,86±73,51 ^A	561,00±389,48 ^A	2.229,41±1.121,75 ^A	193,43±80,62 ^A
M 9	9.300,00±1.387,08 ^A	33,64±66,70 ^A	4.729,91±1.317,91 ^A	102,20±69,32 ^A	710,36±488,79 ^A	2.983,73±1.144,54 ^A	376,45±267,00 ^A
M 10	8.323,08±2.344,91 ^A	22,23±43,67 ^A	3.935,31±873,71 ^A	95,73±65,99 ^A	467,62±317,08 ^A	2.473,91±1.057,89 ^A	253,00±235,77 ^A
M 11	10.628,57±1.631,70 ^A	31,00±52,95 ^A	4.832,86±728,80 ^A	106,86±57,83 ^A	399,14±382,64 ^A	2.035,86±1.147,33 ^A	322,86±201,33 ^A
M 12	9.362,50±1.542,67 ^A	24,00±44,44 ^A	3.748,63±1.376,41 ^A	99,43±22,97 ^A	338,25±163,26 ^A	2.652,71±1.482,61 ^A	262,00±234,24 ^A

Momento: Mês de gestação. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

Em conjunto, os glóbulos brancos atuam como um mecanismo de defesa contra infecções bacterianas, virais e parasitárias e proteínas estranhas ao corpo, onde cada grupo celular é responsável por identificar e combater agentes específicos (REECE, 2015). Neste sentido, o papel da placenta como envoltório imunológico isolador do feto, bem como a de promover uma troca seletiva entre a égua e o concepto permitem a não ativação destas células (FOWDEN et al., 2008).

Entretanto, variações no leucograma de animais gestantes já foram apontadas em outros estudos em que foi encontrada uma elevação no número de neutrófilos no período pré-parto com seus valores retornando gradativamente ao normal nas semanas subsequentes (AOKI & ISHII, 2014; MARIELLA et al, 2014). Ainda segundo Kramer (2000), em estágios avançados da gestação ocorre uma maior liberação endógena de adrenalina, responsável por uma maior mobilização de neutrófilos na circulação, resultando em uma elevação na contagem total de leucócitos nesse período.

O grande esforço físico ao qual o animal é submetido em decorrência do momento do parto pode contribuir para um aumento no número de neutrófilos e linfócitos, havendo restabelecimento dos níveis anteriores após alguns dias (AOKI et al., 2013). No presente ensaio não foi possível realizar tal aferição com precisão, uma vez que as coletas do último mês gestacional (M11), na maioria das vezes, não ocorrem em dias próximos ao parto.

Apesar de não ter sido evidenciadas diferenças estatísticas, é possível perceber uma flutuação na concentração média de basófilos ao longo da gestação com pico máximo observado durante o último mês gestacional. Segundo Welle et al. (1997), essa elevação pode ser resultante do aumento da parede uterina, que por ser rica em mastócitos, ocasiona a liberação de histamina, mobilizando assim basófilos na circulação. Ademais, o aumento na concentração de eosinófilos durante a gestação já foi relatada em outros estudos, principalmente em seu terço inicial, estando este evento por vezes correlacionado a uma resposta imunomediada do organismo a processos parasitários e alérgicos (FARAMAZI et al., 2018). O fato de os animais do presente ensaio possuírem calendário rigoroso para o controle de verminoses executado por seus proprietários pode ser apontado como um dos motivos para não terem sido apontadas diferenças estatísticas neste quesito.

CONCLUSÃO

A gestação acarreta diferenças significativas no número de hemácias circulantes, bem como variações no hematócrito, fibrinogênio e trombocitopenia em animais da raça Pônei Brasileiro. Com exceção do número total de plaquetas, todas as variáveis avaliadas permaneceram dentro do intervalo de referência para a espécie que demonstrou adaptação fisiológica frente ao desafio gestacional.

COMITÊ DE ÉTICA

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/UENF (protocolo no 382/2018).

FONTES DE AQUISIÇÃO

- ¹ Tri-Equi, Ceva Saúde Animal Ltda., São Paulo, Brasil.
- ² Rabmune, Ceva Saúde Animal Ltda., São Paulo, Brasil.
- ³ Guabiphos Centauro 80, Guabi Nutrição e Saúde Animal S/A, São Paulo, Brasil.
- ⁴ Mindray DP 2200 VET, Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, Shenzhen, China.
- ⁵ Agulhas 18G DB, Bacton e Dckison Ind. Cirúrgica Ltda. Paraná, Brasil.
- ⁶ Seringa hipodérmica 10 mL, Saldanha Rodrigues Ltda., Amazonas, Brasil.
- ⁷ Frasco siliconizado à vácuo com EDTA 10% - 5 mL, Labor Import, São Paulo, Brasil.
- ⁷ Mylabor SH120, Mylabor Produtos Científicos Ltda., São Paulo, Brasil
- ⁸ Refratômetro analógico portátil ITREF200, Instrutemp Instrumentos de Medição Ltda, São Paulo, Brasil.
- ⁹ Panótico Rápido, Laborclin Produtos para Laboratório Ltda., Paraná, Brasil.
- ¹⁰ Microscópio óptico Nikon Eclipse E-200. Nikon do Brasil Ltda., São Paulo, Brasil.
- ¹¹ Analisador Hematológico SDH-3, Labtest Diagnóstica S/A, Minas gerais, Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOKI, T., HONDA, H., ISHII, M. Immunologic profiles of peripheral blood leukocytes and serum immunoglobulin G concentrations in perinatal mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). **Journal Equine Veterinary Science**, v.33, n.11, p.989-995, 2013.

AOKI, T., ISHII, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (heavy draft horse). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 170-176, 2012.

CANCELIER, C. D. L. **Hematologia, Bioquímica e Metabolismo Oxidativo em Éguas Gestantes da Raça Crioula**. Dissertação (Ciência Animal) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

CARLIN, A., ALFIREVIC, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v.22, n.5, p.801-823, 2008.

CETIN, N., BEKYÜREK, T., CETIN, E. Effects of sex, pregnancy and season on some haematological and biochemical blood values in angora rabbits. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Sciences**, v. 36, n. 2, p. 155-162, 2009.

CRAY, C., ZAIAS, J., ALTMAN, N.H. Acute phase response in animals: a review. **Comparative Medicine**, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.

DE BOER, K. et al. Enhanced thrombin generation in normal and hypertensive pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 160, n. 1, p. 95-100, 1989.

DENOTTA, S.L., BROOKS, M.B. Coagulation Assessment in the Equine Patient. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 36, n. 1, p. 53-71, 2020.

FARAMARZI, B., RICH, L.J., WU, J. Hematological and serum biochemical profile values in pregnant and non-pregnant mares. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 82, n. 4, p. 287-293, 2018.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, 2011.

FOWDEN, A.L. et al. The placenta and intrauterine programming. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, n. 4, p. 439-450, 2008.

FRANKENY, R.L. **Miniature horses, a veterinary guide for owners and breeders**. North Pomfret, VT: Trafalgar Square Publishing; 2003. 176p.

GLORIA, A. et al. Biochemical blood analysis along pregnancy in Martina Franca jennies. **Theriogenology**, v. 115, p. 84-89, 2018.

GRAVENA, K. et al. Parâmetros hematológicos de jumentas gestantes em diferentes períodos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 1514-1516, 2010.

HONDA, T. et al. Time-course changes of hematology and clinical chemistry values in pregnant rats. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 33, n. 3, p. 375-380, 2008.

JUDD R.C. A practitioner's approach to reproductive problems in miniature mares. **Equine Practice**, v.16, p.9-14, 1994.

MARIELLA, J. et al. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. **Theriogenology**, v.81, p.526-534, 2014.

MORLEY, S.A, MURRAY, J. Effects of body condition score on the reproductive physiology of the broodmare: a review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 7, p. 842-853, 2014.

MOSESSON, M.W., et al. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 936, n. 1, p. 11-30, 2001.

NAZIFI, S., AHMADI, M.R., GHEISARI, H.R. Hematological changes of dairy cows in postpartum period and early pregnancy. **Comparative Clinical Pathology**, v. 17, n. 3, p. 157-163, 2008.

PISHKO, A.M., LEVINE, L.D., CINES, D.B. Thrombocytopenia in pregnancy: Diagnosis and approach to management. **Blood reviews**, v. 40, p. 100638, 2020.

REECE, W.O. The composition and functions of blood. **Dukes' physiology of domestic animals**, 13th. John Wiley & Sons, Ames, Iowa. p. 114-136, 2015.

ROSE, R.J. & HODGSON, D.R. Hematology and biochemistry. In: Rose, R.J., Hodgson, D.R. (Eds.), **The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sport Medicine**. WB Saunders, Philadelphia, p. 63–76, 1994.

SATUÉ, K., DOMINGO, R. Longitudinal study of the renin angiotensin aldosterone system in purebred Spanish broodmares during pregnancy. **Theriogenology**, v. 75, n. 7, p. 1185-1194, 2011.

SATUE, K.; BLANCO, O.; MUNOZ, A. Age-related differences in the hematological profile of Andalusian broodmares of Carthusian strain. **Veterinarni Medicina**, v. 54, n. 4, p. 175-182, 2009.

SHEHATA, N., BURROWS, R., KELTON, J.G. Gestational thrombocytopenia. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 42, n. 2, p. 327-334, 1999.

SILVA, M.O. **Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto**. 2018. Tese (Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, M.O. et al. Transition period produces changes in blood and body composition in mares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, p. 843-848, 2019.

SOUZA, A.I., BATISTA FILHO, M., FERREIRA, L.O.C. Alterações hematológicas e gravidez. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, n. 1, p. 29-36, 2002.

THRALL, M.A. et al., **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed., Roca, Rio de Janeiro, p. 201-345, 2015.

TVEDTEN, H. Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, editors. **Schalm's veterinary hematology**, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010, p. 152-161.

WELLE, M.M., AUDIGE, L., BELZ, J.P. The equine endometrial mast cell during the puerperal period: evaluation of mast cell numbers and types in comparison to other inflammatory changes. **Veterinary Pathology**, v. 34, n. 1, p. 23-30, 1997.

CAPÍTULO II

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo científico, com sua formatação de acordo com as orientações da revista a que foi submetido:

Efeitos da gestação sobre o perfil bioquímico de éguas da raça Pônei Brasileiro

De acordo com normas para publicação no periódico Ciência Rural.

Efeitos da gestação sobre o perfil bioquímico de éguas da raça Pônei Brasileiro

RESUMO

A gestação implica em uma série de alterações no organismo materno, sendo fundamental conhecer seu impacto sobre as variáveis bioquímicas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da gestação sobre o perfil bioquímico de fêmeas da raça Pônei Brasileiro. Amostras de sangue total foram colhidas de 18 éguas antes da concepção e gestação (M0), do primeiro mês de gestação até o momento do parto (M1 a M11) e até dias pós-parto (M12). Após análise da variância e realização do teste de médias (Tukey, $p < 0,05$) foi observado que aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA) apresentaram diferença estatística no pós-parto (M12), enquanto os níveis de creatinina quinase (CK) aumentaram significativamente a partir do sétimo mês de gestação apresentando pico no pós-parto. Ademais, ureia e creatinina comportaram-se de maneira semelhantes, com aumento em suas respectivas concentrações ao longo da gestação, apresentando pico no último mês gestacional e declínio no pós-parto. Gama-glutamil transferase (GGT) manteve-se inalterado estatisticamente durante todo o período avaliado. Diante dos resultados observados conclui-se que o período gestacional foi capaz de influenciar nos constituintes bioquímicos dos animais durante o período avaliado.

Palavras-chave: equino, bioquímica sérica, prenhez.

Effects of pregnancy on the biochemical profile of Brazilian Pony mares

ABSTRACT

Pregnancy implies a series of changes in the maternal organism and it is essential to know its impact on biochemical variables. The objective of the present study was to evaluate the influence of pregnancy on the biochemical reproduction profile of the Brazilian Pony mares. Blood samples were collected in total from 18 mares before conception and pregnancy (M0), from the first month of gestation until the time of foaling (M1 to M11) and up to postpartum days (M12). After analyzing the variance and performing the means test (Tukey, $p < 0.05$), it was observed that aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) postpartum statistical impairment (M12) while the levels of creatinine kinase (CK) increased significantly from the seventh month of gestation, showing a peak in the postpartum period. In addition, urea and creatinine behaved similarly, with an increase in their respective concentrations throughout pregnancy, with a peak in the last gestational month and a decline in postpartum. Gamma-glutamyl transferase (GGT) remained unchanged statistically throughout the evaluated period. In view of the observed results it is concluded that the gestational period was able to influence the biochemical constituents of the animals during the evaluated period.

Keywords: equine, serum biochemistry, pregnancy.

INTRODUÇÃO

A gestação é considerada um dos períodos de maior estresse fisiológico para a vida de qualquer animal. A partir da concepção, o desenvolvimento fetal acarreta mudanças significativas que incluem desde alterações homeostáticas até comportamentais e que se intensificam à medida que se aproxima o momento do parto (BRINSKO et al., 2011). Conhecer estas alterações torna-se um fator primordial não só para garantir a sanidade materna e do concepto, bem como para manter os índices produtivos satisfatórios dentro de um rebanho.

Além disso, a avaliação e correlação do perfil bioquímico dentro de uma determinada população é fundamental no acompanhamento não só de patologias infecciosas, bem como processos fisiológicos distintos, uma vez que as diferentes fases de vida do animal, sexo e período reprodutivo podem interferir no intervalo de referência dos painéis bioquímicos (WEISS & WARDROP, 2010).

Um grande número de trabalhos científicos foi produzido nas últimas décadas acerca da influência da gestação na fisiologia de éguas, mas ainda são escassos os estudos que abordem todas as fases da gestação (MARIELLA et al. 2014; HARVEY et al., 2005). Assim, o estabelecimento de intervalos de referência para variáveis laboratoriais durante a gestação como um todo permitem um entendimento mais detalhado das alterações fisiológicas e metabólicas que residem em torno da égua no período gestacional e possui relevância não só para o desenvolvimento científico, tecnológico, bem como contribui para uma melhor qualidade de vida dos animais.

Diante do exposto, o presente estudo objetivou realizar o acompanhamento do perfil bioquímico de éguas da raça Pônei Brasileiro e seus efeitos durante todo o período gestacional, mediante a realização de colheitas de amostras mensais desde a concepção até o parto e imediatamente após o mesmo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 éguas da raça Pônei Brasileiro clinicamente híginas com idade variando entre 5 e 11 anos oriundas de dois criatórios localizados no município de Campos dos Goytacazes-RJ. Todos os animais apresentavam calendário vacinal atualizado com imunização contra tétano, influenza, encefalomielite¹ e raiva². Durante todo período gestacional os animais foram mantidos em regime extensivo, com acesso à pastagem predominantemente composta por capim tifton (*Cynodon sp.*), sal mineral³ e água *ad libitum*.

As fêmeas foram acasaladas em sistema convencional por monta natural. O diagnóstico da gestação foi realizado por meio de exame do trato reprodutivo via transretal com auxílio de aparelho de ultrassonografia portátil⁴ para identificação precoce de vesícula gestacional. Cada animal utilizado neste ensaio foi também o seu controle no modelo experimental. O grupo controle foi obtido mediante avaliação dos animais antes da concepção e gestação (M0). Uma vez diagnosticada a prenhez, as éguas gestantes foram submetidas a avaliações mensais a partir do primeiro mês de gestação até o momento do parto (M1 a M11). Por fim, foi realizada uma última avaliação até 7 dias pós-parto (M12).

As colheitas de sangue foram realizadas sempre no período matinal mediante punção venojugular, com prévia antissepsia e utilizando agulhas hipodérmicas⁵ (25x0,8mm) acopladas a seringas⁶ descartáveis e o material colhido acondicionado em frascos estéreis sem anticoagulante⁷, mantidos em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) para a retração do coágulo e acondicionados em caixa isotérmica até chegarem ao laboratório para processamento onde foram centrifugados⁸ durante cinco minutos a 1500g e na sequência o soro foi aliquoteado em microtubos congelados a -20°C para posterior análise utilizando um aparelho automático⁹ onde foram mensurados a aspartato aminotransferase¹⁰ (método cinético UV), fosfatase alcalina¹⁰ (método cinético UV), gama-glutamil transferase¹⁰ (método fotométrico cinético de acordo com Szasz/Persijn), creatina quinase¹⁰ (método enzimático UV), ureia¹⁰ (método enzimático UV-GLDH) e creatinina (método cinético colorimétrico)¹¹.

Os dados obtidos foram analisados pelo programa SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2011). Foi realizada a análise descritiva para obtenção das médias e dos desvios padrão para as características estudadas. Posteriormente, os dados foram submetidos aos testes de Lilliefors e de Cochran para verificação da normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. Atendidas as premissas da análise de variância, os mesmos foram submetidos a ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey, sendo adotado 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizadas as análises estatísticas do material coletado foi possível constatar um aumento progressivo nas concentrações de todas as variáveis analisadas no decorrer da gestação. Aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA)

apresentaram diferença estatística apenas no pós-parto (M12) enquanto a gama-glutamil transferase (GGT) manteve-se inalterada estatisticamente durante todo o período avaliado. Ademais, os níveis de creatinina quinase (CK) aumentaram significativamente a partir do sétimo mês de gestação apresentando pico no pós-parto. Já ureia e creatinina se comportaram de maneira semelhante, com aumento em suas respectivas concentrações ao longo da gestação, apresentando pico no último mês gestacional e declínio no pós-parto (tabela 1).

Tabela 3. Média \pm desvio padrão dos valores de aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (GGT), creatina quinase (CK), ureia e creatinina em éguas da raça Pônei Brasileiro (n=18) desde a concepção (M 0) até o 11º mês de gestação (M 11) e no pós-parto (M 12):

Momento	AST	FA	GGT	CK	Ureia	Creatinina
M 0	198,11 \pm 77,12 ^A	220,33 \pm 48,60 ^A	30,83 \pm 23,74 ^A	287,55 \pm 107,84 ^B	31,38 \pm 7,74 ^B	0,87 \pm 0,20 ^B
M 1	199,12 \pm 56,41 ^A	209,29 \pm 43,00 ^A	30,41 \pm 22,86 ^A	321,47 \pm 101,89 ^B	32,23 \pm 6,89 ^{AB}	0,85 \pm 0,13 ^{AB}
M 2	224,01 \pm 72,00 ^A	202,94 \pm 42,05 ^A	30,00 \pm 24,81 ^A	307,44 \pm 115,63 ^B	32,83 \pm 8,10 ^{AB}	0,88 \pm 0,16 ^{AB}
M 3	222,82 \pm 67,15 ^A	207,17 \pm 35,72 ^A	23,88 \pm 22,19 ^A	295,35 \pm 80,72 ^B	33,23 \pm 11,45 ^{AB}	0,87 \pm 0,14 ^{AB}
M 4	223,61 \pm 79,22 ^A	203,72 \pm 32,96 ^A	25,76 \pm 19,58 ^A	310,83 \pm 71,36 ^B	36,05 \pm 7,60 ^{AB}	0,93 \pm 0,15 ^{AB}
M 5	210,35 \pm 87,03 ^A	206,11 \pm 36,36 ^A	25,76 \pm 19,58 ^A	322,29 \pm 89,58 ^B	36,94 \pm 8,79 ^{AB}	0,93 \pm 0,13 ^{AB}
M 6	201,89 \pm 81,28 ^A	206,27 \pm 22,98 ^A	23,00 \pm 21,75 ^A	322,22 \pm 88,95 ^B	38,77 \pm 8,26 ^{AB}	0,96 \pm 0,12 ^{AB}
M 7	217,67 \pm 63,10 ^A	211,88 \pm 24,84 ^A	27,11 \pm 24,91 ^A	347,01 \pm 123,61 ^{AB}	39,51 \pm 6,68 ^{AB}	0,96 \pm 0,21 ^{AB}
M 8	214,39 \pm 88,92 ^A	208,61 \pm 40,38 ^A	24,89 \pm 20,55 ^A	334,01 \pm 81,23 ^{AB}	40,16 \pm 9,68 ^{AB}	0,99 \pm 0,13 ^{AB}
M 9	208,76 \pm 71,47 ^A	222,88 \pm 29,71 ^A	25,88 \pm 19,26 ^A	341,29 \pm 139,56 ^{AB}	40,29 \pm 7,53 ^{AB}	0,98 \pm 0,09 ^{AB}
M 10	217,94 \pm 61,25 ^A	205,44 \pm 37,28 ^A	26,11 \pm 21,45 ^A	356,94 \pm 118,64 ^{AB}	39,28 \pm 8,90 ^{AB}	1,02 \pm 0,17 ^{AB}
M 11	226,35 \pm 79,90 ^A	217,01 \pm 61,39 ^A	26,88 \pm 22,04 ^A	361,70 \pm 146,68 ^{AB}	41,58 \pm 7,40 ^A	1,17 \pm 0,22 ^A
M 12	276,01 \pm 93,62 ^B	252,81 \pm 68,26 ^B	35,45 \pm 30,54 ^A	473,45 \pm 158,10 ^A	35,54 \pm 9,00 ^{AB}	1,02 \pm 0,15 ^{AB}

Momento: Mês de gestação. aspartato aminotransferase (U/L), fosfatase alcalina (U/L), gama-glutamil transferase (U/L), creatina quinase (U/L), ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

Alterações no perfil bioquímico já haviam sido constatadas durante a gestação de equinos por outros pesquisadores (SILVA, et al. 2019; MARIELLA et al. 2014; HARVEY et al., 2005). No entanto, são escassos os trabalhos que tenham realizado o acompanhamento mensal de todo o período gestacional, sendo a maioria destes compreendido ou no terço final da gestação ou em momentos agrupados em períodos trimestrais. Tal fato pode ser explicado pelas dificuldades inerentes a este tipo de ensaio, como, por exemplo, a resistência dos criadores em permitir o acompanhamento ou ainda pelo longo período temporal para a realização das coletas.

As aminotransferases (aspartato e alanina aminotransferase) são enzimas intracelulares que têm por função a transferência de grupos amino durante a conversão de aminoácidos a α -oxo-ácidos. Ambas são encontradas no citosol celular enquanto a AST também possui uma isoenzima mitocondrial (LOPES et al., 2007) e são comumente utilizadas na avaliação da função hepática e no monitoramento de lesão hepatocelular (KANEKO, 2008). De forma semelhante, a fosfatase alcalina está

presente em diferentes tecidos, incluindo o intestino, rins, ossos e no fígado, onde é muito utilizada na maioria das espécies como um marcador de alterações hepáticas (SMITH, 2014).

Apesar do aumento progressivo nas concentrações de AST encontrado no presente estudo, estas permaneceram dentro do intervalo de referência para a espécie. O mesmo foi relatado em estudo envolvendo mulheres (VAN BUUL et al., 1995), ovelhas (SOARES et al., 2016) e vacas (ROCHA et al., 2013). Outros estudos já haviam apontado também o aumento na concentração de AST no pós-parto imediato (KRAKOWSKI et al., 2020), tendo este fato sido correlacionado a lactação e aumento da demanda energética inerentes ao período (DEICHSEL & AURICH, 2005; HEIDLER, B. et al., 2005).

A avaliação isolada da FA durante a gestação apresenta pouco valor diagnóstico devido à sua produção estar relacionada a diferentes tecidos (RANDIM, 2003) e ainda segundo Meuten et al. (1980) seu nível permanece praticamente inalterado durante toda a gestação na espécie equina. Já o seu aumento imediatamente após o parto é explicado pela produção do tecido placentário em mulheres (GUARINO et al., 2020) aliado ao crescimento fetal (POLLO-FLORES et al., 2015). Porém, este aumento ainda é considerado um mistério em éguas (AOKI & ISHII, 2012), uma vez que não foram identificadas isoenzimas de origem placentária no soro dessa espécie (PARKES & BLACKMORE, 1977).

A GGT é considerada um importante marcador para distúrbios do sistema hepatobiliar amplamente utilizado no diagnóstico de doenças hepáticas em animais domésticos (BRAUN, 1983) e apesar das concentrações de GGT não terem diferido estatisticamente durante o período gestacional, estas se mantiveram durante todo o período experimental acima do valor de referência para a espécie. Fato semelhante foi relatado por Aoki e Ishii (2012) ao acompanhar éguas nas últimas semanas pré-parto, contudo tal aumento no presente ensaio não apresentou causa evidente, podendo estar correlacionado a características intrínsecas do modelo experimental utilizado, necessitando de maiores investigações.

A atividade da creatina quinase apresentou aumento a partir do sétimo mês de gestação (M7) até o término desta (M11) com maior valor sendo verificado no pós-parto (M12). Devido à sua alta correlação com dano muscular, o aumento de CK é considerado um achado comum em éguas no período pós-parto, uma vez que alguns animais podem passar horas em decúbito por ocasião do mesmo (AOKI & ISHII,

2012). Aliado a isso, animais da raça pônei comumente apresentam partos laboriosos ou até mesmo distócicos devido a características do feto como tamanho ou posicionamento inadequado no momento do parto (JUDD et al., 1994).

Além do mais, o fato de os animais utilizados neste ensaio serem criados em sistema extensivo pode ter influenciado na atividade muscular, já que estes não se encontravam totalmente em repouso antes das coletas. Sendo o mesmo relatado por Silva (2018). Ademais, é sabido que a raça Pônei Brasileiro apresenta temperamento por vezes considerado agressivo não sendo incomum disputas entre animais de um mesmo plantel.

A creatinina é um metabólito do fosfato de creatina, um composto presente no metabolismo no músculo esquelético que é filtrado no glomérulo renal e descartado sem ser reabsorvido nos túbulos renais (KANEKO, 2008). Em equinos, seu aumento durante a gestação já havia sido observado em outros estudos e foi associado à produção de creatinina pelo feto que é excretada pela mãe com posterior redução dos níveis séricos em razão da lactação (MARIELLA et al., 2014, VINCZE et al., 2015). Harvey et al., (2005) pontuam ainda que em alguns casos essa depreciação pós-parto pode ocorrer em função da mobilização de massa muscular para produção de energia em animais em balanço energético negativo.

No presente estudo a creatinina manteve uma curva ascendente em sua concentração desde o início da gestação. Glória et al. (2018) obtiveram resultados semelhantes ao acompanhar a gestação de asininos, verificando um aumento a partir do quarto mês de gestação e posterior estabilização ao nono mês até o momento do parto, enquanto Silva et al. (2019) observaram um aumento nos dois meses que antecederam o parto com posterior diminuição durante as primeiras semanas de lactação de éguas Mangalarga Marchador.

Oriunda da metabolização hepática de compostos nitrogenados, a ureia atua como um indicador da utilização da gliconeogênese como via alternativa para produção de energia (DORETTO et al., 2007) e associada a creatinina tem sido utilizada como marcador da função renal na rotina clínica veterinária, uma vez que a diminuição em sua excreção reflete em aumento nas concentrações no plasma ou no soro (RESENDE et al., 2009).

De forma semelhante ao que foi verificado com a atividade da creatinina, os níveis de ureia dos animais avaliados subiram progressivamente durante toda a gestação (M1 a M11) com posterior queda no pós-parto, sendo este apontado em outros

estudos como uma consequência do metabolismo materno-fetal (HURA et al., 2017). Por outro lado, Fazio et al. (2011) relataram uma oscilação nos níveis de ureia ao acompanhar a gestação de jumentas e o mesmo descrito por Campelo (2008) em animais das raças Bretão e Brasileiro de Hipismo gestantes. Tais divergências sugerem que investigações mais minuciosas sejam realizadas futuramente.

CONCLUSÃO

A gestação acarreta alterações nos constituintes bioquímicos do sangue de éguas da raça Pônei Brasileiro com aumento progressivo nas concentrações de aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina enquanto ureia e creatinina apresentam um pico no último mês gestacional e posterior declínio no pós-parto e apesar da gestação ser um evento fisiológico, conhecer tais alterações torna-se mais uma ferramenta para seu acompanhamento.

COMITÊ DE ÉTICA

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/UENF (protocolo no 382/2018).

FONTES DE AQUISIÇÃO

¹ Tri-Equi, Ceva Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil.

² Rabmune, Ceva Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil.

³ Guabiphos Centauro 80, Guabi Nutrição e Saúde Animal S/A, São Paulo, Brasil.

⁴ Mindray DP 2200 VET, Mindray Bio-Medical Electronics Co.,Ltd, Shenzhen, China.

⁵ Agulhas 18G DB, Bacton e Dckison Ind. Cirúrgica Ltda. Paraná, Brasil.

⁶ Seringa hipodérmica 10 mL, Saldanha Rodrigues Ltda, Amazonas, Brasil.

⁷ Frasco siliconizado sem anticoagulante - 6 (mL), Labor Import, São Paulo, Brasil.

⁸ Centribio 80-2B, Equipar Ltda, Curitiba, Brasil.

⁹ Byosystems A15, Biosystems S/A., Barcelona, Espanha.

¹⁰ Kovalent do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, Brasil.

¹¹ DiaSys Diagnostic Systems S/A, Connecticut, EUA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOKI, T. & ISHII, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (heavy draft horse). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 170-176, 2012.
- BRAUN, J.P. et al. Gamma glutamyl transferase in domestic animals. **Veterinary research communications**, v. 6, n. 1, p. 77-90, 1983.
- BRINSKO, S.P. et al. Pregnancy: Physiology and Diagnosis. In STEVEN, P. et al. **Manual of Equine Reproduction**. 3 ed. Mosby: Elsevier Health Sciences, 2011, cap. 7, p. 85-93
- CAMPELO, J.A.S. **Perfil bioquímico sérico de éguas gestantes e não gestantes das raças brasileiro de hipismo e bretão**. 2008. Tese (Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- DEICHSEL, K. & AURICH, J. Lactation and lactational effects on metabolism and reproduction in the horse mare. **Livestock Production Science**, v. 98, n. 1-2, p. 25-30, 2005.
- DORETTO, J.S., LOBO E SILVA, M.A.M., LAGOS, M.S. Determinação dos valores de referência para ureia e creatinina séricas em equinos. **Boletim de Medicina Veterinária**, v. 3 n. 3, p. 67-7, 2007.
- FAZIO, E. et al. Changes in the cortisol and some biochemical patterns of pregnant and barren jennies (*Equus asinus*). **Veterinarski arhiv**, v. 81, n. 5, p. 563-574, 2011.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, 2011.
- GLORIA, A. et al. Biochemical blood analysis along pregnancy in Martina Franca jennies. **Theriogenology**, v. 115, p. 84-89, 2018.
- GUARINO, M., COSSIGA, V, MORISCO, F. The interpretation of liver function tests in pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, p. 101667, 2020.
- HARVEY, J.W. et al. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. **Veterinary clinical pathology**, v. 34, n. 3, p. 248-254, 2005.

HEIDLER, B. et al. Effects of lactation on metabolic and reproductive hormones in Lipizzaner mares. **Domestic animal endocrinology**, v. 25, n. 1, p. 47-59, 2003.

HURA, V. et al. Alterações do ambiente bioquímico e do peso corporal em éguas de Lipizzan periparturientes saudáveis. **Acta Veterinary Brno**, v.86, p.67-74, 2017.

JUDD R.C. A practitioner's approach to reproductive problems in miniature mares. **Equine Pract**, v. 9, p. 9-14, 1994.

KANEKO, J.J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 6 ed. Academic press, San Diego, 2008. 928 p.

KRAKOWSKI, L. et al. The Level of Prolactin, Serum Amyloid A, and Selected Biochemical Markers in Mares Before and After Parturition and Foal Heat. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 84, p. 102854, 2020.

LOPES, S.T.A., BIONDO, A.W., SANTOS, A.P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**, 3 ed, Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007. 117 p.

MARIELLA, J. et al. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. **Theriogenology**, v. 81, n. 4, p. 526-534, 2014.

MEUTEN, D.J. et al. Serum alkaline phosphatase in pregnant mares. **Veterinary clinical pathology**, v. 9, n. 1, p. 27-30, 1980.

PARKES, R.D., BLACKMORE, D.J. Phosphatase activity of placental extracts and pregnant mare's plasma. **Research in veterinary science**, v. 23, n. 2, p. 248-249, 1977.

POLLO-FLORES, P. et al. Alterações hepáticas da gravidez. **Femina**, p. 225-234, 2015.

RADIN, M.J. Interpretação de perfis bioquímicos. In: FENNER, W. R. **Consulta rápida em clínica veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap.13, p. 120-128.

RESENDE, L.M.H, VIANA, L.G., VIDIGAL, P.G. **Protocolos Clínicos dos Exames Laboratoriais**. Secretaria do Estado de Minas Gerais. Universidade Federal de Minas Gerais, 2009. 294 p.

ROCHA, T.G. et al. Bioquímica sérica de vacas da Raça Holandesa no período pré-parto. In: **Embrapa Pecuária Sudeste-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 10.; SEMANA DO MÉDICO VETERINÁRIO DO PARÁ, 37.; SIMPÓSIO PARAENSE DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5., 2013, Belém. Anais... Belém: Associação Brasileira de Buiatria, 2013., 2013.

SILVA, M.O. **Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto**. 2018. Tese (Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, M.O. et al. Biochemical profile of Mangalarga Marchador mares during the last third of pregnancy, foaling and lactation. **Ciência Rural**, v. 49, n. 11, 2019.

SMITH, B.P. **Large animal internal medicine**. 5 ed. Elsevier Health Sciences, St. Louis, p. 350-373, 2014.

SOARES, A.F. et al. Influence of pH, bleaching agents, and acid etching on surface wear of bovine enamel. **Journal of Applied Oral Science**, v. 24, n. 1, p. 24-30, 2016.

VAN BUUL, E.J.A. et al. Haematological and biochemical profile of uncomplicated pregnancy in nulliparous women; a longitudinal study. **The Netherlands journal of medicine**, v. 46, n. 2, p. 73-85, 1995.

VINCZE, BOGLÁRKA et al. Pregnancy-associated changes of sérum biochemical values in Lipizzaner Broodmares. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 63, n. 3, p. 303-316, 2015.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's veterinary hematology**. 6 ed. John Wiley & Sons, Incorporated, Ames 2010. 1206 p.

CAPÍTULO III

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo científico, com sua formatação de acordo com as orientações da revista a que foi submetido:

Avaliação da composição corporal de fêmeas da raça Pônei Brasileiro durante a gestação

De acordo com normas para publicação no periódico Ciência Rural.

Avaliação da composição corporal de fêmeas da raça Pônei Brasileiro durante a gestação

RESUMO

A gestação é um evento marcado pela mudança na dinâmica fisiológica materna, tendo em vista garantir níveis suficientes de energia para o desenvolvimento do potro e apesar de estudos terem sido realizados durante o período de transição, poucos deles se dedicaram a realizar o acompanhamento durante todo o período gestacional. O objetivo deste estudo foi avaliar a deposição de gordura corporal subcutânea com o auxílio de ultrassonografia e exames laboratoriais em dois grupos distintos de fêmeas da raça Pônei Brasileiro (gestantes e não gestantes) e compará-la ao escore de condição corporal (ECC) durante os meses de gestação. Foram utilizadas 18 éguas gestantes e clinicamente sadias mantidas em dois criatórios no município de Campos dos Goytacazes-RJ. Os animais foram avaliados mensalmente desde a concepção (M0) até o parto (M1 a M11) e até 7 dias após o parto (M12), totalizando 13 avaliações. Foram coletados dados referentes ao peso corporal, ao escore de condição corporal (ECC) e a deposição de gordura na crista do pescoço. A avaliação de deposição de gordura subcutânea foi realizada a partir de exame ultrassonográfico em três pontos distintos: em ponto médio entre as pontas do íleo e do ísquio; entre a 12^a e 13^a costelas e cranialmente à região de inserção da cauda e a partir desta foi calculado a porcentagem de gordura. Adicionalmente foram coletadas amostras de sangue para mensuração das concentrações séricas de colesterol e triglicerídeos. Após análise de variância e realização do teste de médias (Tukey, $p < 0,05$) não foram encontradas diferenças significativas entre a espessura de gordura acumulada no tecido subcutâneo quando comparados os locais de aferição e nem entre os diferentes meses de gestação, com exceção da gordura subcutânea acumulada na região de inserção da cauda a partir do terço final da gestação, onde observou-se uma diminuição desta quando comparado aos demais momentos. Houve correlação positiva ($r=0,81$) entre o aumento do peso corporal e o ECC. O colesterol manteve-se acima do intervalo de referência para a espécie durante todo o período enquanto triglicerídeos apresentaram um pico próximo ao parto seguido de decréscimo.

Palavras-chave: cavalo, composição corporal, gestação.

Evaluation of body condition of Brazilian Pony females during pregnancy

ABSTRACT

Pregnancy is an event marked by a change in the maternal physiological diameters in order to ensure sufficient levels of energy for the development of the foal and although studies have been carried out during the transition period, few of them have dedicated themselves to monitoring during the entire gestational period. The objective of this study was to evaluate the deposition of subcutaneous body fat with the aid of ultrasound and laboratory tests in two different groups of females of the Brazilian Pony breed (pregnant and non-pregnant) and compare it to the body condition score (ECC) during the months of gestation. Eighteen pregnant and clinically healthy mares were kept in two farms in Campos dos Goytacazes-RJ. The animals were evaluated monthly from conception (M0) to delivery (M1 to M11) and up to 7 days after delivery (M12), totaling 13 evaluations. Data regarding body weight, body condition score (ECC) and fat deposition on the neck crest were collected. The assessment of subcutaneous fat deposition was performed based on an ultrasound examination at three distinct points: at a midpoint between the tips of the ileum and the ischium; between the 12th and 13th ribs and cranially to the tail insertion region and from this the fat percentage was calculated. In addition, blood samples were collected to measure serum concentrations of cholesterol and triglycerides. After analyzing the variance and performing the means test (Tukey, $p < 0.05$), no significant differences were found between the thickness of fat accumulated in the subcutaneous tissue when comparing the measurement sites or between the different months of pregnancy, except of subcutaneous fat accumulated in the tail insertion region from the final third of gestation, where a decrease was observed when compared to the other moments. There was a positive correlation ($r = 0.81$) between increased body weight and ECC. Cholesterol remained above the reference range for the species throughout the period while triglycerides showed a peak close to parturition followed by a decrease.

Keywords: horse, body composition, pregnancy.

INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo a criação de pôneis se popularizou nas últimas décadas abrindo um vasto mercado comercial e, apesar de amplamente conhecidos, os pôneis não devem ser tratados como raças de pequeno porte, uma vez que apresentam características intrínsecas ao modelo de seleção a que foram submetidos durante seu processo de desenvolvimento e pela manipulação de cruzamentos realizados ao longo dos anos (CANIBAL, 2008). Frente a este cenário, é cada vez mais notória a mudança de patamar nas criações hípicas onde equinos de diferentes raças antes utilizados como ferramenta de trabalho, meio de transporte ou simples tração passaram a ser utilizados principalmente para o lazer (OWERS & CHUBBOCK, 2013). Para esses animais, a combinação da redução na carga de trabalho ou exercícios físicos aliada à melhora na qualidade alimentar tem resultado em um balanço energético positivo com acúmulo de peso (ARGO et al., 2012). Estima-se que de 20% a 51% da população equina dos Estados Unidos e Europa sofram com o sobrepeso ou obesidade (THATCHER et al., 2008; STEPHENSON, et al., 2011; GILES et al., 2014). Além disso, doenças metabólicas oriundas do excesso de gordura antes encontradas principalmente em cães e gatos (GERMAN, 2006) também passaram a ser uma preocupação dentro da espécie equina, sobretudo a Síndrome Metabólica Equina (SME) e seus desdobramentos como a hiperinsulinêmica e a laminite (CARTER et al., 2009; PAZ et al., 2013; FITZGERALD et al., 2019).

Acompanhar a condição corporal do rebanho é considerado primordial para o sucesso da criação. Assim sendo, a avaliação do ECC é considerado um método prático e simples que não necessita de equipamentos e baseia-se em indicadores de gordura corporal que ajudam a estimar a quantidade de energia armazenada no corpo do animal (HENNEKE et al., 1983). Contudo, por tratar-se de uma avaliação baseada em indicadores visuais, torna-se necessário o incremento com técnicas mais objetivas. Diferentes métodos podem ser empregados para a determinação da massa de gordura, sendo a ultrassonografia considerada a mais simples e de fácil aplicação (KEARNS et al., 2002). Há descrições da percentagem de gordura em animais de corrida, éguas em programas de reprodução, potros em crescimento e em animais idosos (FITZGERALD & McMANUS, 2000; KEARNS et al., 2002; MANSO-FILHO et al., 2004), todavia ainda são escassas as informações referentes a animais da raça Pônei Brasileiro, sobretudo no acompanhamento de animais gestantes.

A condição corporal é considerada um fator crucial para a reprodução equina, já tendo sido apontado que animais com ECC entre 5 e 6 apresentam uma maior eficiência reprodutiva quando comparados a animais magros, além de uma clara influência na atividade ovariana, sendo esta menor em éguas com baixo ECC (GENTRY et al., 2002; PEUGNET et al., 2010). Assim, a concepção tardia durante os períodos reprodutivos associada ainda a episódios seguidos de absorção embrionária podem levar a prejuízos econômicos diretos em uma propriedade, bem como resultar no nascimento dos potros em um período menos favorável para a comercialização (BENDER et al., 2014).

Diversos estudos realizaram o acompanhamento da condição corporal no terço final da gestação, pós-parto imediato e ainda a sua influência direta sobre o potro recém-nascido (KNIGHT et al., 2009; CASSILL et al., 2009; MARCHIORI et al., 2015), permanecendo ainda escassos os trabalhos que tenham realizado este acompanhamento durante todo o período gestacional, sobretudo na raça Pônei Brasileiro. Diante disso, objetivou-se no presente trabalho avaliar o efeito da gestação sobre o escore de condição corporal e a espessura de gordura subcutânea de animais da raça Pônei Brasileiro gestantes e não gestantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 éguas da raça Pônei Brasileiro clinicamente híginas com idade variando entre 5 e 11 anos oriundas de dois criatórios localizados no município de Campos dos Goytacazes-RJ. Todos os animais apresentavam calendário vacinal atualizado com imunização contra tétano, influenza, encefalomielite¹ e raiva². Durante todo período gestacional os animais foram mantidos em regime extensivo, com acesso à pastagem predominantemente composta por capim tifton (*Cynodon sp.*), sal mineral³ e água *ad libitum*.

As fêmeas foram acasaladas em sistema convencional por monta natural. O diagnóstico da gestação foi realizado por meio de exame do trato reprodutivo via transretal com auxílio de aparelho de ultrassonografia portátil⁴ para identificação precoce de vesícula gestacional. Cada animal utilizado neste ensaio foi também o seu controle no modelo experimental. O grupo controle foi obtido mediante a avaliação dos animais antes da concepção e gestação (M0). Uma vez diagnosticada a prenhez, as éguas gestantes foram submetidas a avaliações mensais a partir do primeiro mês

de gestação até o momento do parto (M1 a M11). Por fim foi realizada uma última avaliação até 7 dias após o parto (M12).

Em todos os momentos experimentais foi realizada a classificação do ECC individual segundo o método descrito por Henneck (1983) onde os animais foram classificados em graus variando de 1 (emaciado) a 9 (muito obeso) mediante a observação e palpação da musculatura e depósitos de gordura subcutâneos dos animais, sempre realizado pelo mesmo observador. Do mesmo modo foi realizada a classificação do escore de deposição de gordura na crista do pescoço (EDGCP), segundo escala de 0-5, proposta por Carter et al. (2009). Também foram coletadas informações sobre idade, peso corporal⁵ e altura (com auxílio de fita de pesagem⁵ e hipômetro⁶, respectivamente).

A composição corporal foi determinada a partir da massa corporal, obtida por meio da pesagem, em associação com a determinação da espessura do tecido adiposo na garupa por ultrassonografia em tempo real. Foi utilizado um transdutor ultrassonográfico linear⁴ de 5,0 MHz. A técnica consistiu em colocar o transdutor, perpendicularmente, em ponto médio entre as pontas do íleo e do ísquio e a 10,0 cm, lateralmente, da linha média do corpo (ponto 2 na imagem 1). A percentagem do tecido adiposo subcutâneo foi determinada pela equação: $8,64 + (4,70 \times \text{espessura do tecido adiposo, em centímetros})$, conforme método proposto por Westervelt et al. (1976). Ademais, foi avaliada ainda com o auxílio de ultrassonografia a deposição de gordura subcutânea em outros dois pontos distintos conforme técnica descrita por Gentry et al. (2004). Estes pontos se localizaram, aproximadamente, 7cm cranialmente à região de inserção da cauda e 5cm lateralmente à coluna vertebral, entre a 12^a e 13^a costelas (imagem 1).



Imagem 1: Locais onde ocorreu a mensuração ultrassonográfica do acúmulo de gordura no tecido subcutâneo: 1 – inserção da cauda, 2 – ponto médio entre as pontas do fêmo e do ísquio; 3 – entre a 12ª e 13ª costelas.

Adicionalmente, as colheitas de sangue foram realizadas sempre no período matinal mediante punção venojugular, com prévia antissepsia e utilizando agulhas hipodérmicas⁷ (25x0,8mm) acopladas a seringas⁸ descartáveis e o material colhido acondicionado em frascos estéreis sem anticoagulante⁹, mantidos em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) para a retração do coágulo e acondicionados em caixa isotérmica até chegarem ao laboratório para processamento onde foram centrifugados¹⁰ durante cinco minutos a 1500g e na sequência o soro foi aliquotado em microtubos congelados a -20°C para posterior análise utilizando um aparelho automático¹¹ onde foram mensurados as concentrações de colesterol (“CHOD-PAP”: método fotométrico enzimático)¹² e triglicerídeos (método enzimático colorimétrico por glicerol-3-fosfato-oxidase)¹².

Os dados obtidos foram analisados pelo programa SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2011). Foi realizada a análise descritiva para obtenção das médias e dos desvios padrão para as características estudadas. Posteriormente, os dados foram submetidos aos testes de Lilliefors e de Cochran para verificação da normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. Atendidas as premissas da análise de variância, os mesmos foram submetidos a ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey. A relação entre todas as características estudadas foi analisada pelo teste

de Correlação Simples de Pearson. Para todas as análises foi adotado 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise da variância e realização do teste de médias não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias de espessura de gordura acumulada no tecido subcutâneo quando comparados os locais de aferição e nem entre os diferentes meses de gestação, com exceção da gordura subcutânea acumulada na região de inserção da cauda. A partir do sétimo mês de gestação foi observada uma diminuição desta quando comparada aos demais momentos. Todavia, não houve diferença na porcentagem de gordura subcutânea calculada (Westervel et al., 1976) quando comparados com os diferentes meses de gestação e no pós-parto (tabela 1). Ao aplicar a correlação de Pearson, encontrou-se uma correlação positiva ($r = 0,81$) entre o aumento do peso corporal e o ECC.

Tabela 1. Média ± desvio padrão do peso concentração sérica de colesterol, triglicérides e acúmulo de gordura no tecido subcutâneo mensurado em três diferentes pontos (Md A, Md B e Md C), porcentagem de gordura (PG) e mediana do ECC e do EDGCP em éguas da raça Pônei Brasileiro (n=18) desde a concepção (M0) até o 11^o mês de gestação (M11) e na avaliação pós-parto (M12):

Momento	Peso	ECC	EDGCP	Md A	Md B	Md C	PG	Colesterol	Triglicérides
M0	129,9 ±20,6	4	3	2,36 ±0,40 ^A	2,38 ±0,33 ^A	2,04 ±0,35 ^A	9,60 ^A	86,17±24,75 ^A	29,39±14,76 ^B
M1	129,9 ±22,0	4	3	2,09 ±0,38 ^A	2,08 ±0,39 ^A	2,09 ±0,38 ^A	9,62 ^A	84,29±13,82 ^A	29,76±14,02 ^B
M2	129,9 ±18,0	4	3	2,08 ±0,54 ^A	2,25 ±0,39 ^A	2,05 ±0,45 ^A	9,57 ^A	77,56±14,19 ^A	29,17±11,01 ^B
M3	132,8 ±21,6	4	3	2,28 ±0,31 ^A	2,40 ±0,30 ^A	2,08 ±0,51 ^A	9,62 ^A	80,53±11,97 ^A	28,71±11,02 ^B
M4	141,8 ±19,9	5	3	2,32 ±0,38 ^A	2,30 ±0,30 ^A	2,11 ±0,72 ^A	9,63 ^A	88,50±16,74 ^A	31,83±14,99 ^B
M5	137,4 ±15,3	5	3	2,40 ±0,47 ^A	2,36 ±0,41 ^A	2,12 ±0,61 ^A	9,64 ^A	88,82±16,59 ^A	39,94±15,30 ^{A,B}
M6	148,3 ±19,8	5	3	2,11 ±0,19 ^A	2,31 ±0,17 ^A	2,02 ±0,18 ^A	9,59 ^A	86,33±18,99 ^A	38,67±21,35 ^{A,B}
M7	153,4 ±22,0	5	3	2,13 ±0,38 ^A	2,29 ±0,38 ^A	1,92 ±0,40 ^B	9,54 ^A	88,33±14,30 ^A	46,22±26,03 ^{A,B}
M8	160,9 ±21,1	5	3	2,09 ±0,30 ^A	2,17 ±0,35 ^A	1,87 ±0,24 ^B	9,52 ^A	88,33±14,30 ^A	44,94±17,55 ^{A,B}
M9	160,8 ±24,8	5	3	1,89 ±0,27 ^A	2,02 ±0,40 ^A	1,77 ±0,25 ^B	9,47 ^A	101,12±17,5 ^A	48,59±19,04 ^{A,B}
M10	166,6 ±20,8	6	3	2,15 ±0,24 ^A	2,26 ±0,42 ^A	1,68 ±0,28 ^B	9,43 ^A	98,83±19,42 ^A	51,44±23,42 ^A
M11	168,3 ±19,4	6	3	2,16 ±0,38 ^A	2,30 ±0,32 ^A	1,61 ±0,25 ^B	9,40 ^A	97,71±15,42 ^A	34,47±19,13 ^{A,B}
M12	153,6 ±17,7	6	3	2,10 ±0,27 ^A	2,20 ±0,43 ^A	1,66 ±0,24 ^B	9,42 ^A	107,91±88,8 ^A	22,09±10,72 ^C

Momento: Mês de gestação; peso: média ± DP (Kg); ECC: mediana do Escore de Condição Corporal (ECC); Escore de deposição de Gordura na Crista do Pescoço (EDGCP) Md A: média ± DP (mm) acúmulo de gordura subcutânea no 13^o espaço intercostal; Md B: média ± DP (mm) acúmulo de gordura subcutânea na região da garupa; Md C: média ± DP (mm) acúmulo de gordura subcutânea na inserção da cauda. Colesterol (g/dL), triglicérides (g/dL). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

A gordura corporal é considerada um bom indicador no que se refere às reservas energéticas corporais. Assim, estabelecer parâmetros de avaliação e acompanhamento do estado nutricional de animais de forma simples e objetiva tornou-se fundamental para o acompanhamento do desenvolvimento dos mesmos (BEWLEY & SCHUTZ, 2008). Para tanto, a avaliação visual da condição corporal mediante a deposição de gordura subcutânea e sua classificação em escores numéricos de pontuação têm sido amplamente utilizadas em diferentes espécies, especialmente naquelas de maior interesse zootécnico como ruminantes e equídeos. A correlação positiva entre aumento de ECC e ganho de peso já havia sido comprovada em outros estudos com equinos (LAWRENCE et al., 1992; GENTRY et al., 2004; FOWLER et al., 2020), tal qual foi encontrado no presente ensaio.

A avaliação da porcentagem de gordura corporal em pôneis (Westervel et al., 1976) é considerada um precursor para a proposição da tabela de pontuação para classificação do ECC descrita posteriormente por Hennek et al. (1983) e amplamente utilizada até os dias de hoje. Porém, este último baseou-se na utilização de éguas da raça Quarto de Milha, animais que apresentam características morfométricas intrínsecas a animais de tração e que por vezes não podem ser totalmente extrapoladas para outras raças. Levando-se em consideração que a raça Pônei originalmente foi selecionada com o objetivo de ser utilizada para tração em minas de carvão, seu porte (apesar de pequeno) em muito se assemelha àqueles animais da raça Quarto de Milha (RUA et al., 2016), corroborando para que a pontuação do ECC proposto por Hennek et al. (1983) também possa ser utilizada em animais desta raça.

Além disso, embora a ECC seja um indicador usado constantemente em estudos sobre nutrição e reprodução animal, por tratar-se de método subjetivo, as pontuações atribuídas a cada animal poderão variar dependendo da experiência dos avaliadores (MOTTET et al., 2009). Isso explicaria a manutenção do ECC elevado na avaliação pós-parto (M12) apesar do peso corporal, do percentual total de gordura (PG) e da quantidade de gordura depositada na região de inserção de cauda (tabela 1) terem diminuído (gráfico 1).

Outro quesito a ser levado em consideração é o fato de o ganho de peso corporal mais acentuado no final da gestação estar também associado ao crescimento do concepto e à presença dos anexos placentários, o que pode ser responsável por um aumento de até 16% do peso da fêmea gestante, mas não estando relacionados

diretamente ao aumento dos depósitos de gordura corporal do animal (CASSILL et al., 2009). Além disso, é sabido que o animal necessita de reservas nutricionais para suprir as demandas do final da gestação, contribuindo também para que ocorra esse aumento no peso corporal e que tenderá a declinar nas últimas semanas pré-parto devido ao balanço energético negativo (SILVA. 2018).

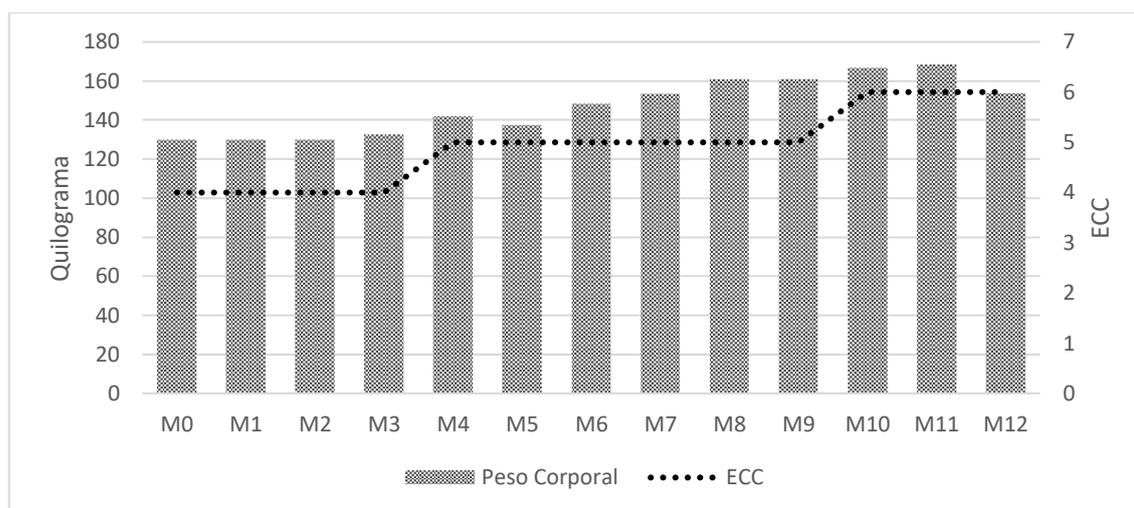


Gráfico 2. Média do peso corporal (kg) de éguas da raça Pônei Brasileiro (n=18) desde a concepção (M0) até o 11º mês de gestação (M11) e avaliação pós-parto (M12) comparado ao Escore de Condição Corporal (ECC) avaliado no mesmo período.

Diferentes estudos demonstraram correlação positiva entre a deposição de gordura corporal e o ECC, contudo uma avaliação mais concisa de quantificar precisamente a quantidade de gordura exige o abate dos animais, tornando o processo muito laborioso e inviável economicamente, além de ir contra o bem-estar animal, acarretando na busca por métodos menos agressivos (ARGO et al., 2014). Até o presente momento, a avaliação ultrassonográfica da espessura da gordura tem sido proposta como o método mais preciso, objetivo e não invasivo para medir a distribuição de gordura subcutânea em equinos vivos (CARTER & DUGDALE, 2013; SILVA et al., 2016), podendo inclusive ser utilizado para monitorar o manejo, a nutrição e treinamento dos equinos de forma mais precisa e objetiva (GOBESSO et al., 2014).

Ao realizar a avaliação ultrassonográfica da deposição de gordura subcutânea em diferentes regiões anatômicas de 127 equinos da raça Andaluz, Martin-Gimenez et al. (2016) encontraram uma maior correlação de ECC peso corpóreo com depósitos de gordura localizados em áreas de inserção de cauda, demonstrando que este local pode ser considerado um bom indicativo da condição corporal do equino em relação

ao acúmulo de gordura, semelhante ao que foi encontrado no presente estudo, onde a diminuição do peso corporal coincidiu com a diminuição da deposição de gordura na mesma região corporal. Resultados semelhantes foram encontrados por Quaresma et al. (2013) e por Gee et al. (2003) ao avaliarem jumentas e potros puro-sangue inglês, respetivamente.

Outro fator de grande relevância apontado em pesquisas que correlacionaram o ECC aos resultados encontrados após a dissecação de carcaças para quantificar a gordura corporal demonstrou que esta associação obedece a um padrão não-linear, gerando dúvidas quanto à confiabilidade deste método. Foi demonstrado que, para animais considerados obesos ($ECC > 7$), o método é menos preciso podendo incorrer em erros grandes e crescentes nas estimativas de gordura corporal desses animais (DUGDALE, et al., 2011). Entretanto, levando em consideração que os animais utilizados no presente estudo eram mantidos em sistema de criação extensivo, não foram encontrados animais extremamente obesos, não sendo este, portanto, um fator complicador do estudo em questão.

Segundo Meyer (1995) e Frape (2004), com o passar dos anos ocorre uma diminuição natural no metabolismo de equinos, sobretudo a partir dos 15 anos de idade, resultando em um maior acúmulo de gordura corporal pelos animais além de uma perda progressiva de tecido muscular, fazendo com que tais fatores influenciem diretamente no ECC dos animais, o que também não foi considerado um fator de risco para os resultados aqui apresentados, uma vez que a idade máxima dos animais que participaram deste estudo foi inferior a 11 anos.

Não houve diferença estatística nas concentrações de colesterol sérico ao longo dos meses de gestação enquanto foi possível observar uma variação significativa nas concentrações de triglicérides com uma acentuação a partir do quinto mês (M5) até atingir o pico no décimo mês gestacional (M10) e posterior queda após o parto (M12) (Gráfico 1).

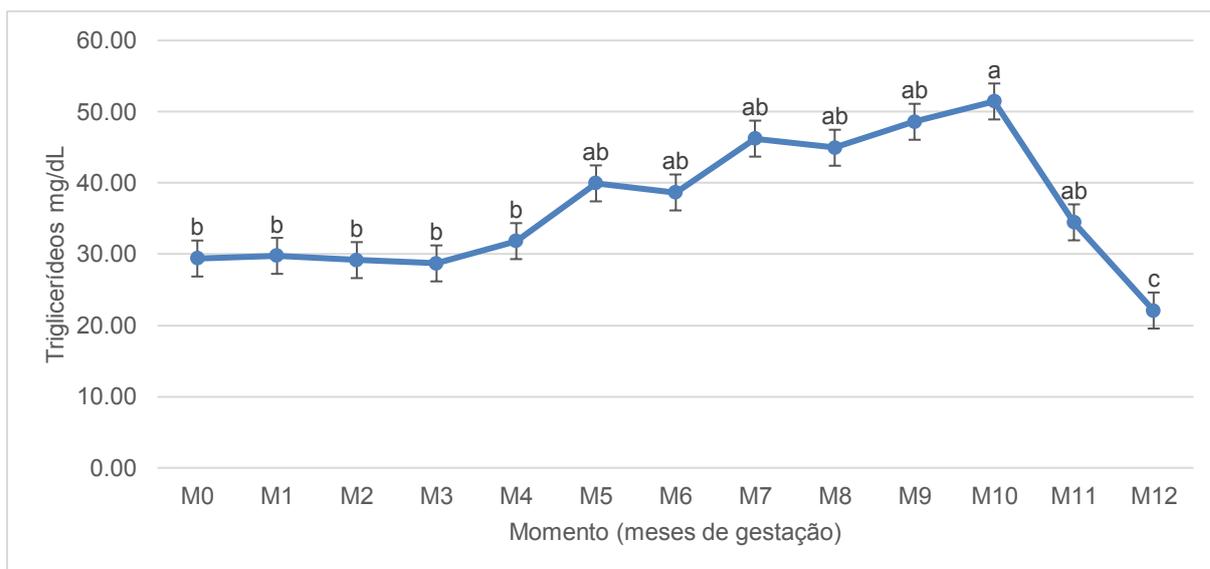


Gráfico 1. Média \pm desvio padrão do triglicerídeo sérico de éguas da raça Pônei Brasileiro (n=18) desde a concepção (M0) até o 11º mês de gestação (M11) e pós-parto (M12). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

O triglicerídeo é um nutriente importante no período final da gestação e durante o período de transição, uma vez que este é o principal componente do tecido adiposo e do leite (AOKI & ISHII, 2012). No presente estudo os níveis séricos de triglicerídeos subiram ao final da gestação e declinaram imediatamente após o parto. Estudos já indicaram maiores concentrações plasmáticas de triglicerídeos no final da gestação devido ao incremento do metabolismo da gordura em resposta às maiores necessidades de energia para crescimento fetal (VINCZE et al., 2015). O mesmo foi observado por Silva et al. (2019) ao avaliar éguas Mangalarga Marchador no período de transição.

Em estudo realizado com animais da raça Crioula criados em clima tropical, Manso-Filho et al. (2009) demonstraram que durante a gestação os animais apresentaram uma porcentagem de gordura maior quando comparado ao período lactante, momento em que ocorre grande mobilização das reservas de energia para a produção de leite. Além disso, durante o período gestacional 60% da taxa de crescimento fetal ocorre no terço final da gestação, fazendo com que estes fatores possam alterar a composição corporal, sobretudo em éguas malnutridas.

Apesar de não ter apresentado diferença estatística entre os momentos avaliados, os níveis séricos de colesterol mantiveram-se acima do intervalo de referência para a espécie o que, segundo Hadden & McLaughlin (2009) é considerado um fator normal

,uma vez que as concentrações séricas podem atingir valores até 50% maiores em gestantes quando comparado ao estado não gestacional.

Por fim, é importante ressaltar que apesar do presente estudo não ter objetivado o monitoramento nutricional, este deve ser uma rotina constante nas criações, tendo em vista a ocorrência de distúrbios metabólicos desencadeados principalmente pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, podendo resultar em doenças como a síndrome metabólica equina e causando alterações tanto em animais gestantes e até no feto (CARTER et al., 2009; JOHNSON, et al., 2010., SELIM et al., 2015). Assim, diversos estudos têm correlacionado medidas morfométricas de diferentes regiões do corpo como indicadores precoces para a identificação desses distúrbios (FRANK et al., 2006; BAILEY et al., 2008; POTTER et al., 2016), entre eles o acúmulo de gordura na crista do pescoço (GILES et al., 2015). No presente estudo não houve diferença no EDGCP durante o período gestacional (tabela 1), mantendo-se sempre dentro do limite aceitável (escore 3). Contudo, Carter et al., (2009) alertam que animais com escore entre 4 e 5 estão predispostos a SME e até mesmo laminite, enquanto Fitzgerald et al. (2019) encontraram alta correlação entre o acúmulo de gordura nesta região e a ocorrência de hiperinsulinemia em pôneis.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que éguas da raça Pônei Brasileiro gestantes apresentam valores séricos mais elevados de colesterol durante toda a gestação além de um pico na concentração de triglicerídeos próximo ao parto seguido por um rápido decréscimo nos dias subsequentes. Além disso, ocorre diminuição na deposição de gordura no tecido subcutâneo na região de inserção de calda dos animais à medida que se aproxima o momento do parto, fazendo com que este ponto possa ser utilizado adicionalmente no monitoramento da mobilização de gordura para suprir as necessidades nutricionais do período.

COMITÊ DE ÉTICA

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/UENF (protocolo no 382/2018).

FONTES DE AQUISIÇÃO

¹ Tri-Equi, Ceva Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil.

- ² Rabmune, Ceva Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil.
- ³ Guabiphos Centauro 80, Guabi Nutrição e Saúde Animal S/A, São Paulo, Brasil.
- ⁴ Mindray DP 2200 VET, Mindray Bio-Medical Electronics Co.,Ltd, Shenzhen, China.
- ⁵ Fita para Pesagem de Equinos, ORTOVET Ortopedia Veterinária Comercial Ltda, São Paulo, Brasil.
- ⁶ Hipômetro tipo bengala, WalMur Instrumentos Veterinários Ltda, Rio Grande do Sul, Brasil.
- ⁷ Agulhas 18G DB, Bacton e Dckison Ind. Cirúrgica Ltda. Paraná, Brasil.
- ⁸ Seringa hipodérmica 10 mL, Saldanha Rodrigues Ltda, Amazonas, Brasil.
- ⁹ Frasco siliconizado sem anticoagulante - 6 (mL), Labor Import, São Paulo, Brasil.
- ¹⁰ Centribio 80-2B, Equipar Ltda, Curitiba, Brasil.
- ¹¹ Byosistems A15, Biosystems S/A., Barcelona, Espanha.
- ¹⁰ Kovalent do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGO, C.M. et al. Evaluating body composition in living horses: where are we up to farm animal imaging. **III European Cooperation in Science and Technology**, Copenhagen (Denmark), p. 14-9, 2014.

ARGO, C.M. et al. Weight loss resistance: a further consideration for the nutritional management of obese Equidae. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 2, p. 179-188, 2012.

BAILEY, S.R. et al. Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 1, p. 122-129, 2008.

BENDER, E.S.C. et al. Body condition and reproductive activity in mares. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, p. 55-67, 2014.

BEWLEY, J.M., SCHUTZ, M.M. An interdisciplinary review of body condition scoring for dairy cattle. **The Professional Animal Scientist**, v. 24, n. 6, p. 507-529, 2008.

BURKHOLDER, W.J. Use of body condition scores in clinical assessment of the provision of optimal nutrition. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 5, p. 650-654, 2000.

CANIBAL, M.C.H.B. Aspectos fisiológicos da gestação de mini-pôneis. 2008. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. 40f.

CARTER, R.A., DUGDALE, A.H.A. Assessment of body condition and bodyweight. **Equine Applied and Clinical Nutrition**. Amsterdam: Elsevier, p. 393-404, 2013.

CARTER, R.A. et al. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. **The Veterinary Journal**, n. 2, v.179, p.204-210, 2009.

CASSILL, B., JACKSON, S., LAWRENCE, L. Body weight changes in pregnant mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 5, n. 29, p. 400-401, 2009.

DUGDALE, A.H.A. et al. Assessment of body fat in the pony: Part I. Relationships between the anatomical distribution of adipose tissue, body composition and body condition. **Equine Veterinary Journal**, v. 43, n. 5, p. 552-561, 2011.

DUGDALE, A.H.A. et al. Body condition scoring as a predictor of body fat in horses and ponies. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 2, p. 173-178, 2012.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, 2011.

FITZGERALD, B.P. & McMANUS, C.J. Photoperiodic versus metabolic signal as determinants of seasonal anaestrous in the mare. **Biology of Reproduction**. v. 63, p. 335-340. 2000.

FITZGERALD, D.M. et al. The cresty neck score is an independent predictor of insulin dysregulation in ponies. **PloS one**, v. 14, n. 7, 2019.

FOWLER, A.L. et al. Relationships Between Measurements of Body Fat in Thoroughbred Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 85, p. 102873, 2020.

FRANK, N. et al. Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 9, p. 1383-1390, 2006.

FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding**. John Wiley & Sons, Ames, Iowa, 2007, p. 244-276.

GEE, E.K. et al. Chemical body composition of 20 thoroughbred foals at 160 days of age, and preliminary investigation of techniques used to predict body fatness. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 51, n. 3, p. 125-131, 2003.

GENTRY, L.R. et al. The relationship between body condition score and ultrasonic fat measurements in mares of high versus low body condition. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, n. 5, p. 198-203, 2004.

GERMAN, A.J. The growing problem of obesity in dogs and cats. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n. 7, p. 1940S-1946S, 2006.

GILES, S.L. et al. Obesity prevalence and associated risk factors in outdoor living domestic horses and ponies. **PeerJ – The Journal of Life & Environmental Sciences**, v. 2, p. e299, 2014.

GILES, S.L. et al. Assessing the seasonal prevalence and risk factors for nuchal crest adiposity in domestic horses and ponies using the Cresty Neck Score. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 13, 2015.

GOBESSO, A.A.O. et al. Body condition score evaluation in horses using ultrasonography. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 51, n. 2, p. 136-141, 2014.

HENNEKE, D. et al. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **The Equine Veterinary Journal**, v. 15, p. 371-372, 1983.

JOHNSON, P.J. et al. Laminitis and the equine metabolic syndrome. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 26, n. 2, p. 239-255, 2010.

KEARNS, C.F.; MCKEEVER, K. H; ABE, T. Fat-free mass is related to one mile race performance in elite Standardbred horses. **Veterinary Journal**, v.163, p.260-266, 2002.

KNIGHT, K. et al. Effect of maternal obesity on fetal metabolism and growth: a pilot study. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 201, n. 6, p. 136, 2009.

LAWRENCE, L.M., et al. Changes in body weight and condition of gestating mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 12, n. 6, p. 355-358, 1992.

MANSO-FILHO, H.C. et al. Percentage of fat in horses breed in tropical areas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 3, p. 239-243, 2009.

MARCHIORI, M.O. et al. Comparative measurements of the morphometric pattern and energy profile of Crioula mares in the final third of gestation, with different body condition scores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 707-715, 2015.

MARTIN-GIMENEZ, T.; AGUIRRE-PASCASIO, C.N.; DE BLAS, I. Ultrasonographic assessment of regional fat distribution and its relationship with body condition in an

easy keeper horse breed. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 39, p. 69-75, 2016.

MEYER, H. **Alimentação de cavalos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1995. 303 p.

MOTTET, R., ONAN, G., HINEY, K. Revisiting the Henneke body condition scoring system: 25 years later. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 5, p. 417-418, 2009.

OWERS, R.; CHUBBOCK, S. Fight the fat. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 5, 2013.

PAZ, C.F.R. et al. Relação entre obesidade, insulina plasmática e posicionamento da falange distal em equinos da raça crioula. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1699-1705, 2013.

PEUGNET, P. et al. Effect of a growth hormone treatment on follicular growth in well-fed or feed-restricted mares. **Animal Reproduction Science**, v. 121 (suppl.): p. 42-44, 2010.

POTTER, S.J. et al. Prevalence of obesity and owners' perceptions of body condition in pleasure horses and ponies in south-eastern Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 94, n. 11, p. 427-432, 2016.

QUARESMA, M.; PAYAN-CARREIRA, R.; SILVA, S. R. Relationship between ultrasound measurements of body fat reserves and body condition score in female donkeys. **The Veterinary Journal**, v. 197, n. 2, p. 329-334, 2013.

RUA, M.A.S. et al. Evaluation of the breeding behavior of Brazilian Pony stallions. **Animal Reproduction Science**, v. 172, p. 137-142, 2016.

SELIM, S. et al. Relationships among body condition, insulin resistance and subcutaneous adipose tissue gene expression during the grazing season in mares. **PloS One**, v. 10, n. 5, p. e0125968, 2015.

SILVA, S.R. et al. Relationships between body condition score and ultrasound skin-associated subcutaneous fat depth in equids. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 58, n. 1, p. 62, 2016.

STEPHENSON, H.M., GREEN, M.J., FREEMAN, S.L. Prevalence of obesity in a population of horses in the UK. **Veterinary Record**, v. 168, 161, 2011.

THATCHER, C.D. et al. Prevalence of obesity in mature horses: an equine body condition study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 2, p. 222-222, 2008.

WESTERVELT, R.G. et al. Estimating fatness in horses and ponies. **Journal of Animal Science**, v. 3, n. 4, p. 781-785, 1976.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCCPÔNEI. Associação Brasileira dos Criadores de Cavalos Pônei. Disponível em: <http://ponei.org.br/institucional/historia/>. Acesso em 10 de out. de 2019.

ALLARD, R.L., CARLOS, A.D., FALTIN, E.C. Canine hematological changes during gestation and lactation. **Companion animal practice**, v. 19, p.3-6, 1989.

ANDREAZZI, M.A. et al. Avaliação da bioquímica sanguínea em éguas gestantes. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 2, 2015.

AOKI, T.; ISHII, M. Hematological and Biochemical Profiles in Peripartum Mares and Neonatal Foals (Heavy Draft Horse). **Journal of Equine Veterinary Science**. v.32, p.170-176, 2012.

ARGO, C.M. et al. Evaluating body composition in living horses: where are we up to farm animal imaging. **III European Cooperation in Science and Technology**, Copenhagen (Denmark), p. 14-9, 2014.

BARTHOLAZZI JUNIOR, A., et al. Medidas lineares de equinos da raça Pônei Brasileiro. **Redvet: Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 18, n. 2 , p.1-12, 2017.

BAZZANO, M. et al. Physiological adjustments of haematological profile during the last trimester of pregnancy and the early post partum period in mares. **Animal Reproduction Science**, v.149, p.199-203, 2014.

BEAUSÉJOUR, A. et al. High-sodium intake prevents pregnancy-induced decrease of blood pressure in the rat. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 285, n. 1, p. 375-383, 2003.

BERMAN, E. Hemogram of the cat during pregnancy and lactation and after lactation. **American journal of veterinary research**, v. 35, n. 3, p. 457, 1974.

BEWLEY, J.M., SCHUTZ, M.M. An interdisciplinary review of body condition scoring for dairy cattle. **The professional Animal Scientist**, v. 24, n. 6, p. 507-529, 2008.

BRINSKO, S.P. et al. **Manual of Equine Reproduction**. Elsevier Health Sciences, p. 11. 2010.

BUDRAS, K.D, SACK, W.O., ROCK, S. **Anatomy of the horse: an illustrated text**. 5 ed. Hanover: Schlütersche, 2009. p. 72-87.

CANIBAL, M.C.H.B. Aspectos fisiológicos da gestação de mini-pôneis. 2008. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. 40f.

CARLIN, A., ALFIREVIC, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v.22, n.5, p.801-823, 2008.

CARROLL, C.L., HUNTINGTON, P.J. Body condition scoring and weight estimation of horses. **Equine Veterinary Journal**, v.20, n.1, p.41-45,1988.

CARTER, A., DUGDALE, A.H.A. Assessment of body condition and bodyweight. **Equine Applied and Clinical Nutrition**. Amsterdam: Elsevier, p. 393-404, 2013.

CARTER, R.A. et al. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. **The Veterinary Journal**, n. 2, v.179, p.204-210, 2009.

CARTER, R.A., DUGDALE, A.H.A. Assessment of body condition and bodyweight. **Equine Applied and Clinical Nutrition**. Amsterdam: Elsevier, p. 393-404, 2013.

DA COSTA, M.D. et al. Avaliação dos Fatores Genéticos e de Ambiente que Interferem nas Medidas Lineares dos Pôneis da Raça Brasileira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 3, p. 491-497, 1998.

DAELS, P.F. & HUGHES, J.P., 1992. The normal estrous cycle. In: Mc KINNON, A.O. & VOSS, J.L. (ed) **Equine Reproduction** . Lea & Febiger, Phyladelphia. 121-132.

DAVIES MOREL, M.C.G.; NEWCOMBE, J.R.; HOLLAND, S.J. Factors affecting gestation length in the Thoroughbred mare. **Animal Reproduction Science**, v. 74, n. 3, p. 175-185, 2002.

DUGDALE, A.H.A. et al. Body condition scoring as a predictor of body fat in horses and ponies. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 2, p. 173-178, 2012.

DYCE, K.M., SACK, W.O., WENSING, C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 563-585.

FILIPOVIC, N. et al. The influence of late pregnancy and lactation on bone metabolism in mares. **Research in Veterinary Science**, v.88, p.405-410, 2010.

GASTAL, E.L., et al. Miniature ponies: similarities and differences from larger breeds in follicles and hormones during the estrous cycle. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 9, p. 508-517, 2008.

GRAVENA, K, SAMPAIO, R.C.L., MARTINS, C.B. et al. Parâmetros hematológicos de jumentas gestantes em diferentes períodos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.6, p.1514-1516, 2010.

GUERRA, P., MEDEIROS, S.A.F. Velocidade de R\$ 7,3 Bi por ano. **Agroanalysis - a revista de negócios da FGV**, São Paulo, dezembro de 2006. Disponível em: http://www.agroanalysis.com.br/materia_detalhe.php?idMateria=114. Acesso em 2 fev. 2017.

HAFEZ, E.S.E. & HAFEZ, B., **Reprodução animal**, 7. ed. Manole.2004, p.366-389.

HARVEY, J.W. et al. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n.3, p.248-254, 2005.

HENNEKE, D. et al. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **The Equine Veterinary Journal**, v. 15, p. 371-372, 1983.

JOHNSON, P.J. et al., Pregnancy-Associated Laminitis in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.29, n.1, p.42-46, 2009.

KÖNIG, H.E., LIEBICH, H.G. **Anatomia dos Animais Domésticos – Texto e Atlas Colorido**. Porto Alegre: Artmed, 2011. p. 443-460.

LEIGHTON-HARDMAN. A.C. **Equine Nutrition**. Pelham Books, London. p. 9-17, 1980.

LELEU, C., COTREL, C., COUROUCE-MALBLANC, A. Relationships between physiological variables and race performance in French standardbred trotters. **Veterinary Record**, v. 156, n. 11, p. 339-342, 2005.

LORDING, P.M. Erythrocytes. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 225-237, 2008.

LU, K.G. et al. Dystocia—a true equine emergency. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 5, n. 2, p. 145-153, 2006.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo>. Acesso em 10 de mai. de 2019.

MARCHIORI, M.O. et al. Medidas comparativas do padrão morfométrico e perfil energético de éguas Crioulas no terço final da gestação, com diferentes escores corporais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.3, p.707-715, 2015.

MARIELLA, J. et al. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. **Theriogenology**, v.81, p.526-534, 2014.

McCUE, P.M., FERRIS, R.A. BURDEN, C.A. Review of techniques for prediction of ovulation in the mare. **AAEP Proceedings**; 60:41-4, 2014.

McGOWAN, C. Clinical pathology in the racing horse: the role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 405-421, 2008.

McKINNON, A.O. et al. (Ed.). **Equine Reproduction**. John Wiley & Sons, p. 1689-1768. 2011.

MORLEY, S.A, MURRAY, J. Effects of body condition score on the reproductive physiology of the broodmare: a review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 7, p. 842-853, 2014.

MOTTET, R., ONAN, G., HINEY, K. Revisiting the Henneke body condition scoring system: 25 years later. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 5, p. 417-418, 2009.

PTASZYNSKA, M. **Compêndio de Reprodução Animal**. 9. ed. Intervet, 2007. p. 125-164.

RIZACK, T., ROSENE-MONTELLA, K. Special Hematologic Issues in the Pregnant Patient. **Hematology/oncology clinics of North America**, v. 26, n. 2, 2012.

ROBINSON, S., LONGMUIR, K., PAVORD, S. Haematology of pregnancy. **Medicine**, v. 45, n. 4, p. 251-255, 2017.

ROESSLER, M., RINK, B. Esportes Hípicos. In: Da COSTA, L. (Org.) **Atlas do esporte no Brasil**. Rio de Janeiro: CONFEF, 2006. p. 8216-8219.

ROSE, R.J. & HODGSON, D.R. Hematology and biochemistry. In: ROSE, R.J., HODGSON, D.R. (Eds.), **The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sport Medicine**. WB Saunders, Philadelphia, p. 63–76, 1994.

RUA, M.A.S. et al. Evaluation of the breeding behavior of Brazilian Pony stallions. **Animal Reproduction Science**, v. 172, p. 137-142, 2016.

SATUÉ, K., MONTESINOS, P. Plasma biochemistry in pregnant Spanish purebred broodmares. **Comparative Clinical Pathology**, v.22, p.113-117, 2013.

SCHOLZ, A.M. et al. Non-invasive methods for the determination of body and carcass composition in livestock: dual-energy X-ray absorptiometry, computed tomography, magnetic resonance imaging and ultrasound: invited review. **Animal**, v. 9, n. 7, p. 1250-1264, 2015.

SILVA, A.E.D.F. et al. Manejo da criação de equinos na EMBRAPA, UEPAE da São Carlos (Fazenda Canchim). Embrapa-UEPAE de São Carlos. **Comunicado Técnico**, 1991.

SONDER, C. **The Miniature Horse: More Than Just a Smaller Horse**. Centre for Equine Health Horse Report. School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, 2012.

STEPHEN, J.G.H. The horse in human society. In: MILLS, D.S., McDONNELL, S.M. (Org.). **The Domestic Horse: The Origins, Development, and Management of its Behaviour**. Cambridge: University Press, 2005, p. 23-33.

TAYLOR-MaCALLISTER, C. et al. Haematology and serum biochemistry evaluation in normal postpartum mares. **Equine Veterinary Journal**, v.29, n.3, p.234-235, 1997.

TAYLOR, J., et al. The hemodynamic effects of pregnancy on the lower extremity venous system. **Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders**, v. 6, n. 2, p. 246-255, 2018.

VICK, M.M. et al. Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, p.609-617, 2006.

VINCZE, B. et al. Pregnancy-associated changes of serum biochemical values in Lipizzaner Broodmares. **Acta Veterinaria Hungarica**, v.63, n.3, p.303-316, 2015.

WELLS, J.C.K., FEWTRELL, M.S. Measuring body composition. **Archives of disease in childhood**, v. 91, n. 7, p. 612-617, 2006.

WESSON, J.A. & GINTHER, O.J., 1981. Influence of season and age on reproductive activity in pony mares on the basis of a slaughterhouse study. **Journal of Animal Science**, n.52, p.119-129.

WONG, C.W. et al. Effects of exercise stress on various immune functions in horses. **American journal of veterinary research**, v. 53, n. 8, p. 1414-1417, 1992.

ANEXOS

Anexo 1. Valores de referência de eritograma e plaquetas para equinos.

Variável	Valor de referência	Unidade
Eritrócito	5,5 – 9,5	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Hb	8,0 – 14,0	g/dL
HCT	24 – 44	%
VCM	40 – 60	Pg
HCM	15 – 19	fl
CHCM	26 – 34	%
RDW	17 – 21	%
Plaquetas	200.000 – 300.000	μL

Adaptado a partir de: Grondin, T.M.; Dewitt, S.F. Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ed. Wiley - Blackwell. Cap. 106, 2010, 1206p.

Anexo 2. Valores de referência das concentrações leucocitárias absolutas para equinos.

Variável	Valor de referência	Unidade
Leucócitos totais	5,5 – 9,5	/ μ L
Contagem diferencial de leucócitos		
Neutrófilos bastonetes	0-100	/ μ L
Neutrófilos segmentados	4.000 – 6.000	/ μ L
Linfócitos	2.000 – 4.000	/ μ L
Monócitos	100 – 800	/ μ L
Eosinófilos	100 – 900	/ μ L
Basófilos	0 – 200	/ μ L

Adaptado a partir de: Grondin, T.M.; Dewitt, S.F. Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ed. Wiley - Blackwell. Cap. 106, 2010, 1206p.

Anexo 1. Valores de referência das concentrações bioquímicas para equinos.

Variável	Valor de referência	Unidade
AGNE	0,00 – 0,46	x10 ⁶ /µL
AST	226 – 366	U/L
Colesterol Total	75 – 150	mg/dL
Creatina quinase	40 – 60	U/L
Creatinina	2,4 – 23,4	mg/dL
Fosfatase alcalina	143 – 395	U/L
Fibrinogênio	200 – 400	L
GGT	4,3 – 13,4	U/L
Proteína Total	5,2 – 7,1	g/dL
Triglicerídeos Total	4 – 44	mg/dL
Ureia	21,4 – 51,36	g/dL

Adaptado a partir de: Grondin, T.M.; Dewitt, S.F. Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ed. Wiley - Blackwell. Cap. 106, 2010, 1206p.