

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**ASSOCIAÇÃO DO ESTADO METABÓLICO SOBRE OS
DESFECHOS REPRODUTIVOS EM ÉGUAS IDOSAS**

DEBORAH FREITAS SILVA

Botucatu, SP
Fevereiro – 2026

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Tese apresentada junto ao Programa de
Pós-graduação em Biotecnologia
Animal para obtenção do título de
DOUTOR

Deborah Freitas Silva

Orientador: Prof. Dr. Cezinande de
Meira

Coorientadora: Profa. Dra. Fernanda
Saules Ignácio

Botucatu, SP
Fevereiro – 2026

S586a Silva, Deborah Freitas
ASSOCIAÇÃO DO ESTADO METABÓLICO SOBRE OS
DESFECHOS REPRODUTIVOS EM ÉGUAS IDOSAS / Deborah
Freitas Silva. -- Botucatu, 2026
79 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Cezinande de Meira
Coorientadora: Fernanda Saules Ignácio

1. Desregulação insulínica. 2. Teste oral de tolerância à glicose. 3.
Hiperinsulinemia. 4. Recuperação embrionária. I. Título.

35 Nome do autor (a): Deborah Freitas Silva

36

37 Título: ASSOCIAÇÃO DO ESTADO METABÓLICO SOBRE OS DESFECHOS
38 REPRODUTIVOS EM ÉGUAS IDOSAS

39

40 **BANCA EXAMINADORA**

41

42 Prof. Dr. Cezinande de Meira

43 Presidente e Orientador

44 Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, FMVZ - UNESP -
45 Botucatu/SP

46

47 Prof. Dr. Gabriel Augusto Monteiro

48 Membro

49 Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, FMVZ - UNESP -
50 Botucatu/SP

51

52 Profa. Dra. Heloísa de Paula Pedroza

53 Membro

54 Department of Veterinary Clinical Science - Louisiana State University- Baton
55 Rouge/LA, EUA.

56

57 Profa. Dra. Fernanda Jordão Affonso

58 Membro

59 Departamento Patologia, reprodução e saúde única, FMVZ UNESP -
60 Jaboticabal/SP.

61

62 Prof. Dr. Álvaro de Paula Lage de Oliveira

63 Membro

64 Departamento de Medicina Veterinária - UVV/ES

65

66

67

68 Data da defesa: 23 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102

A Deus, por ser meu amparo constante, por me conceder força, sabedoria e perseverança, e por nunca permitir que eu desistisse de perseguir meus sonhos, mesmo nos momentos mais desafiadores.

À Virgem Maria, pelo colo materno, pelo exemplo diário de fé, coragem e fortaleza, que sempre me inspirou a seguir em frente com confiança e serenidade.

Ao meu esposo, Cahuê, meu maior incentivador desde o início desta trajetória. Obrigada por caminhar ao meu lado em todas as etapas do doutorado, por compartilhar as dificuldades, por acreditar em mim mesmo quando eu duvidei e por me encorajar diariamente a continuar.

À minha filha, Helena, por cada sorriso e cada abraço ao final do dia, que renovavam minhas energias e davam novo sentido a todo esforço. Você é meu maior combustível, minha motivação diária e a razão pela qual todo sacrifício valeu a pena.

Aos meus pais, Tânia e Ednilson, por acreditarem em mim desde a infância, por acompanharem cada etapa da minha vida com amor incondicional, por cada oração, cada renúncia e cada palavra de incentivo. Obrigada por, tantas vezes, colocarem os meus sonhos à frente dos seus.

Aos meus irmãos, Yuri, por sempre me motivar e torcer por mim; Ana Clara, por me enaltecer, apoiar e me incentivar a correr atrás dos meus objetivos; e Davi, que, mesmo sem saber, foi fonte de inspiração para que eu quisesse sempre vencer. Somos e seremos sempre um pelo outro.

Ao meu orientador, prof. Cezinande de Meira, por confiar no meu potencial, por me conceder esta oportunidade e por contribuir de forma significativa para a minha formação científica e profissional.

103 À minha coorientadora, profa. Fernanda Saules, por me convidar para este
104 desafio, por acreditar neste projeto desde o início e por não desistir mesmo
105 diante dos empecilhos impostos pela distância, sendo fundamental para o
106 desenvolvimento e o sucesso desta pesquisa.

107

108 Ao professor Gabriel Monteiro, que, mesmo não sendo oficialmente meu
109 coorientador, participou ativamente de diversas etapas deste doutorado e, mais
110 do que isso, foi um importante incentivador e fonte de encorajamento em
111 momentos decisivos ao longo desta trajetória.

112

113 À minha família, por sonhar comigo, por compreender minhas ausências em
114 finais de semana, almoços e momentos importantes. Cada reencontro sempre
115 foi fonte de renovação e força.

116

117 Aos meus amigos, por me incentivarem a seguir em frente, por se orgulharem
118 da trajetória que escolhi e por não desistirem de mim, mesmo diante de tantos
119 compromissos e encontros desmarcados. Vocês tornaram essa caminhada mais
120 leve e significativa.

121

122 A todos os integrantes do Posto de Monta, pela colaboração, apoio e troca de
123 conhecimento ao longo deste período, fundamentais para a execução deste
124 trabalho.

125

126 Aos membros da banca examinadora, Fernanda Jordão, Gabriel Monteiro,
127 Heloísa Pedroza e Álvaro Oliveira, por aceitarem o convite, pela disponibilidade
128 e por contribuírem com este momento tão especial. É uma honra tê-los como
129 parte da minha trajetória acadêmica e profissional.

130

131 À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de
132 Botucatu, pela oportunidade de realizar a residência e retornar para o doutorado.
133 Fui muito feliz nesta instituição, à qual serei eternamente grata.

134

135 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES),
136 pelo apoio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

137

138 Às éguas, verdadeiras protagonistas desta pesquisa. Obrigada pela colaboração
139 durante o experimento, pela docilidade, pelo olhar sereno e pela tranquilidade
140 que transmitiram. Vocês reforçaram diariamente minha paixão pela medicina
141 veterinária e a certeza de que fiz a escolha certa ao seguir este caminho.

142

143 A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este sonho se
144 tornasse realidade, meu sincero agradecimento. Chegar até aqui só foi possível
145 graças ao apoio, à confiança e ao incentivo de cada um de vocês.

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

RESUMO

SILVA, D. F. **ASSOCIAÇÃO DO ESTADO METABÓLICO SOBRE OS DESFECHOS REPRODUTIVOS EM ÉGUAS IDOSAS**. Botucatu – SP. 2026. 77p. Defesa (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

A síndrome metabólica equina (SME) e a obesidade em éguas idosas podem comprometer a eficiência reprodutiva por meio da desregulação insulínica (DI) e de alterações no microambiente reprodutivo. Este estudo teve como objetivo avaliar a associação entre obesidade e SME com os parâmetros reprodutivos de éguas idosas doadoras de embriões. Foram avaliadas 14 éguas (18–30 anos), classificadas como SME– (n = 6) ou SME+ (n = 8) com base nas concentrações basais de glicose e insulina e na resposta ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Foram mensuradas glicose, insulina, triglicerídeos e ACTH. Indicadores reprodutivos retrospectivos (2022–2025) foram analisados por Equações de Estimação Generalizadas, considerando medidas repetidas por égua. As éguas SME+ apresentaram concentrações basais e pós-desafio de insulina significativamente maiores que as SME– ($p < 0,05$). A glicose não diferiu no tempo basal ($p = 0,085$), porém foi maior no grupo SME+ aos 60 min ($p = 0,0005$), 90 min ($p < 0,0001$) e 120 min ($p = 0,0065$) após o desafio. Os triglicerídeos não diferiram entre grupos ($p = 0,1426$). Não houve associação significativa entre SME e ovulação, recuperação embrionária ou sucesso reprodutivo (ovulação associada à recuperação embrionária no mesmo ciclo), embora éguas SME– tenham apresentado maiores probabilidades estimadas de resultados favoráveis. O grau de edema uterino associou-se positivamente à recuperação embrionária (OR = 1,42 por unidade; $p = 0,020$). Conclui-se que a SME em éguas idosas está associada a DI e resposta glicêmica exacerbada, com tendências de melhor desempenho reprodutivo em éguas metabolicamente saudáveis.

Palavras-chave: desregulação insulínica; teste oral de tolerância à glicose; hiperinsulinemia; recuperação embrionária; edema uterino.

ABSTRACT

SILVA, D. F. **ASSOCIATION OF METABOLIC STATUS WITH REPRODUCTIVE OUTCOMES IN AGED MARES**. Botucatu – SP. 2026. 77p. Defesa (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Equine metabolic syndrome (EMS) and obesity in aged mares may impair reproductive efficiency through insulin dysregulation (ID) and alterations in the reproductive microenvironment. This study aimed to evaluate the association between obesity, EMS, and reproductive parameters in aged embryo donor mares. Fourteen mares (18–30 years) were evaluated and classified as EMS– (n = 6) or EMS+ (n = 8) based on basal glucose and insulin concentrations and their response to the oral sugar test (OST). Glucose, insulin, triglycerides, and ACTH concentrations were measured. Retrospective reproductive indicators (2022–2025) were analyzed using Generalized Estimating Equations, accounting for repeated measures per mare. EMS+ mares showed significantly higher basal and post-challenge insulin concentrations compared with EMS– mares ($p < 0.05$). Basal glucose concentrations did not differ between groups ($p = 0.085$); however, they were higher in EMS+ mares at 60 ($p = 0.0005$), 90 ($p < 0.0001$), and 120 min ($p = 0.0065$) after the challenge. Triglyceride concentrations did not differ between groups ($p = 0.1426$). No significant association was observed between EMS and ovulation, embryo recovery, or reproductive success (defined as ovulation associated with embryo recovery in the same cycle), although EMS– mares showed higher estimated probabilities of favorable reproductive outcomes. Uterine edema score was positively associated with embryo recovery (OR = 1.42 per unit; $p = 0.020$). These findings indicate that EMS in aged mares is associated with insulin dysregulation and an exacerbated glycemic response, with trends toward improved reproductive performance in metabolically healthy mares.

Keywords: insulin dysregulation; oral sugar test; hyperinsulinemia; embryo recovery; uterine edema.

239 LISTA DE FIGURAS

240 Capítulo 2

241

242 **Figura 1:** Mensuração da circunferência do pescoço e avaliação do escore de
243 adiposidade cervical (Cresty Neck Score- CNS) em éguas. (A) Medição da
244 circunferência realizada no ponto médio entre a nuca e a cernelha com fita
245 métrica flexível. (B) Avaliação do acúmulo de gordura cervical segundo escala
246 de 0 a 5, na qual escores mais elevados indicam maior adiposidade regional. 12
247

248 **Figura 2:** Representação esquemática do protocolo do teste oral de tolerância à
249 glicose (TOTG), indicando os tempos de coleta (T0, T60, T90 e T120) para as
250 análises de glicose, insulina, ACTH e triglicerídeos. *TG, triglicerídeos; ACTH,*
251 *hormônio adrenocorticotrófico.* 15
252

253 **Figura 3:** Concentração plasmática de insulina (média $\pm$ desvio padrão) durante
254 o teste dinâmico em éguas idosas com (SME+, n = 8) e sem síndrome metabólica
255 equina (SME-, n = 6). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos
256 foram observadas nas concentrações basais e ao longo do período pós-estímulo
257 ($p < 0,05$). 21
258

259 **Figura 4:** Perfil das concentrações plasmáticas de glicose ao longo do tempo
260 nos grupos SME- e SME+. Os valores representam média $\pm$ erro padrão da
261 média. As diferenças médias entre os grupos (SME+ /SME-) e respectivos
262 intervalos de confiança de 95% foram: T0 = 6,8 (IC95%: 0,1–12,6); T60 = 31,9
263 (19,9–43,5); T90 = 34,6 (26,6–42,5); T120 = 29,2 (16,2–44,6). 22
264

265 **Figura 5:** Distribuição das concentrações séricas de triglicerídeos nos grupos
266 SME- e SME+. Os dados são apresentados como boxplot, indicando mediana,
267 intervalo interquartil e valores extremos. A diferença média entre os grupos
268 (SME+, SME-) foi de 10,4, com intervalo de confiança de 95% variando de -1,0
269 a 22,2 ($p = 0,1426$). 23
270

271 **Figura 6:** Razão de chances (odds ratio – OR) ajustada, com respectivos
272 intervalos de confiança de 95% (IC95%), para os desfechos reprodutivos

273	avaliados em éguas metabolicamente saudáveis (SME-) e com síndrome	
274	metabólica equina (SME+). A linha vertical tracejada representa $OR = 1$,	
275	indicando ausência de efeito.	24
276		
277	Figura 7: Probabilidades ajustadas derivadas do modelo de Equações de	
278	Estimação Generalizadas (GEE) para os desfechos reprodutivos: ovulação,	
279	recuperação embrionária, sucesso reprodutivo e presença de líquido uterino em	
280	éguas metabolicamente saudáveis (SME-) e com síndrome metabólica equina	
281	(SME+).	25
282		
283	Figura 8: Média do número de embriões produzidos por ciclo em éguas sem	
284	(SME-) e com síndrome metabólica equina (SME+), analisada por modelo de	
285	regressão de Poisson.	26
286		
287	Figura 9: Distribuição proporcional da qualidade embrionária (Graus 1 a 4) em	
288	éguas sem (SME-) e com síndrome metabólica equina (SME+), considerando o	
289	embrião como unidade experimental em ciclos reprodutivos repetidos por égua.	
290		27
291		
292	Figura 10: Efeito do grau de edema uterino sobre a ovulação e a recuperação	
293	embrionária em éguas, expresso como razão de chances (OR) por aumento de	
294	uma unidade no escore de edema uterino.	28
295		
296	Figura 11: Probabilidade ajustada de ovulação (A) e de recuperação	
297	embrionária (B) em função do grau de edema uterino no dia da indução em	
298	éguas com (SME+) e sem síndrome metabólica equina (SME-), derivadas de	
299	modelos binomiais de Equações de Estimação Generalizadas (GEE), ajustados	
300	por estação e com agrupamento por égua.	29
301		
302		
303		
304		
305		
306		

LISTA DE TABELAS**Capítulo 2**

Tabela 1: Tabela 1. Média $\pm$ desvio-padrão das características demográficas e morfológicas de éguas idosas classificadas como portadoras (SME+, n = 8) ou não portadoras (SME-, n = 6) de síndrome metabólica equina. As variáveis incluem idade (anos), peso corporal (kg), escore de condição corporal (escala 1–9), escore de adiposidade cervical (0–5) e circunferência do pescoço (cm). Para todas as comparações entre grupos, foi adotado nível de significância estatística de 5% ($P < 0,05$).....	19
Tabela 2: Associação entre obesidade e síndrome metabólica equina (SME) em éguas idosas.	20

341 **SIGLAS**

342

343 ACTH: adrenocorticotrofina

344 ATP: adenosina trifosfato

345 CNS: *Cresty Neck Score* (escore de adiposidade do pescoço)

346 DI: desregulação insulínica

347 ECC: escore de condição corporal

348 FSH: hormônio folículo estimulante

349 GEE: equações de estimação generalizadas

350 GIP: peptídeo insulínico dependente de glicose

351 GLP-1: peptídeo semelhante ao glucagon tipo 1

352 GnRH: hormônio liberador de gonadotrofinas

353 IL-6: interleucina 6

354 LH: hormônio luteinizante

355 POMC: peptídeos derivados da pró-opiomelanocortina

356 PPID: disfunção da *pars intermedia* da pituitária357 RISQI: Reciprocal of Insulin Sensitivity Index (recíproco do índice de
358 sensibilidade à insulina)

359 EROs: espécies reativas de oxigênio

360 SGLT2: cotransportador sódio-glicose tipo 2

361 SME: síndrome metabólica equina

362 TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

363 TOTG: teste oral de tolerância à glicose

364 TRH: hormônio liberador de tireotropina

365

366

367

368

369

370

371

372

SUMÁRIO

373		
374		
375	CAPÍTULO 1.....	1
376	1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	2
377	2. REVISÃO DE LITERATURA	4
378	2.1. Envelhecimento: efeitos na função ovariana, na competência	
379	embrionária e no ambiente uterino	4
380	2.2. Envelhecimento: Efeitos na regulação dos hormônios reprodutivos	7
381	2.3. Obesidade e Síndrome metabólica equina: Efeitos sobre a eficiência	
382	reprodutiva.....	8
383	2.3.1. Diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica equina	11
384	2.4. Desregulação insulínica	13
385	3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	15
386	4. HIPÓTESE E OBJETIVOS	16
387	4.1. Hipótese(s)	16
388	4.2. Objetivo(s) geral(s)	16
389	4.3. Objetivo(s) específico(s).....	16
390	5. REFERÊNCIAS	17
391	CAPÍTULO 2.....	23
392	ARTIGO CIENTÍFICO.....	4
393	Resumo	4
394	1. INTRODUÇÃO.....	6
395	2. MATERIAL E MÉTODOS	8
396	2.1. Aspectos éticos	8
397	2.2. Design experimental.....	8
398	2.2.1. Animais.....	8
399	2.2.2. Estudo retrospectivo dos indicadores reprodutivos.....	9
400	2.2.3. Caracterização do estado corporal e da adiposidade regional	11
401	2.2.4. Detecção diagnóstica de SME e PPID	13
402	2.3. Análise estatística	17
403	3. RESULTADOS	19
404	4. DISCUSSÃO	30
405	5. CONCLUSÃO	39
406	AGRADECIMENTOS.....	39

407	CONFLITO DE INTERESSES.....	39
408	REFERÊNCIAS	39
409		

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A eficiência reprodutiva das éguas resulta da interação complexa e dinâmica de múltiplos fatores fisiológicos, metabólicos e ambientais que atuam de forma interdependente ao longo da vida reprodutiva. Entre os principais determinantes destacam-se a idade, o estado nutricional e metabólico, a integridade do eixo endócrino, as condições ovarianas e uterinas, bem como aspectos relacionados ao manejo reprodutivo, sanidade geral, estresse e ambiente. Alterações em qualquer desses componentes podem comprometer a ciclicidade, a qualidade oocitária, a competência embrionária e a manutenção da gestação, impactando negativamente o desempenho reprodutivo, especialmente em éguas submetidas a programas intensivos de reprodução assistida (GINTHER, 1992; FRANK et al., 2010; IRELAND et al., 2018).

O envelhecimento é reconhecido como um dos principais fatores associados à redução da fertilidade em éguas. A idade avançada está relacionada a alterações na dinâmica folicular, redução progressiva da qualidade dos oócitos e a um ambiente uterino menos favorável à implantação e ao desenvolvimento embrionário inicial. Estudos demonstram que éguas idosas apresentam menores taxas de concepção, maior incidência de perda embrionária precoce e redução da eficiência na produção embrionária, mesmo quando mantêm ciclos estrais aparentemente regulares (CARNEVALE & GINTHER, 1992; CARNEVALE et al., 1993; IRELAND et al., 2018). Na equideocultura, esse aspecto assume relevância particular, uma vez que muitas éguas iniciam a vida reprodutiva apenas após o término da carreira esportiva ou após a consolidação do valor genético, coincidindo com uma fase fisiológica de declínio da eficiência reprodutiva (LOSINNO et al., 2000).

Paralelamente ao envelhecimento, o estado nutricional e metabólico exerce papel central na regulação da função reprodutiva. Os sistemas modernos de criação de equinos, frequentemente caracterizados por menor atividade física e dietas energeticamente densas, têm favorecido o desenvolvimento de sobrepeso e obesidade, aumentando a prevalência de distúrbios metabólicos que podem exacerbar alterações fisiológicas associadas à idade e comprometer

477 a saúde reprodutiva (FRANK et al., 2010; SECOMBE et al., 2018; IRELAND et
478 al., 2018).

479

480 A obesidade e as alterações metabólicas associadas, em especial a
481 desregulação insulínica (DI) e a síndrome metabólica equina (SME), têm sido
482 consistentemente associadas às modificações na regulação do eixo hipotálamo-
483 hipófise-gonadal. A SME é caracterizada por resistência à insulina, deposição
484 regional de gordura e aumento do risco de laminite, frequentemente coexistindo
485 com obesidade generalizada. Evidências indicam que a hiperinsulinemia crônica
486 pode estar associada às alterações na esteroidogênese ovariana, na dinâmica
487 folicular e na qualidade oocitária, além de potenciais impactos sobre o ambiente
488 uterino, contribuindo para redução da fertilidade e aumento da perda embrionária
489 precoce (FRANK et al., 2010; SECOMBE et al., 2018; RIBEIRO et al., 2020).

490

491 Nesse contexto, observa-se que a idade avançada, obesidade e DI
492 frequentemente coexistem em éguas doadoras de embriões, potencializando
493 seus efeitos deletérios sobre a função reprodutiva. Apesar do crescente
494 interesse científico e do avanço no conhecimento sobre esses fatores de forma
495 isolada, ainda são escassos os estudos que avaliam de maneira integrada o
496 impacto das alterações metabólicas e endócrinas sobre parâmetros reprodutivos
497 específicos em éguas idosas. Essa lacuna dificulta o estabelecimento de
498 estratégias de manejo baseadas em evidências para otimizar o desempenho
499 reprodutivo e a longevidade produtiva dessas fêmeas.

500

501 Diante disso, torna-se fundamental aprofundar o conhecimento sobre a
502 relação entre envelhecimento, obesidade, alterações metabólicas e distúrbios
503 endócrinos, e seus efeitos sobre a eficiência reprodutiva de éguas doadoras de
504 embriões. A compreensão integrada desses fatores poderá subsidiar o
505 desenvolvimento de estratégias de manejo reprodutivo mais eficazes,
506 contribuindo para a melhoria dos índices reprodutivos e para o uso racional
507 desses animais em programas de reprodução assistida. A pesquisa neste campo
508 é, portanto, não apenas relevante, mas necessária para o avanço da medicina
509 veterinária equina e a sustentabilidade da equideocultura. Frente às questões
510 mencionadas, o presente estudo teve por finalidade avaliar a influência da

obesidade e da SME sobre a ovulação, o escore de edema endometrial no dia na indução, ocorrência de líquido uterino, número de embriões por ciclo e qualidade embrionária.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Envelhecimento: efeitos na função ovariana, na competência embrionária e no ambiente uterino

A definição de uma égua como idosa no contexto reprodutivo não se baseia exclusivamente na idade cronológica, mas na manifestação progressiva de alterações fisiológicas que culminam na redução da eficiência reprodutiva. Embora a expectativa de vida média dos equinos esteja entre 25 e 30 anos, a função reprodutiva declina consideravelmente antes do término da vida útil do animal. Não existe um ponto de corte universalmente estabelecido para caracterizar a senescência reprodutiva, contudo, estudos indicam que alterações sutis nos parâmetros reprodutivos podem ser observadas a partir dos 10 anos de idade, tornando-se clinicamente relevantes entre 15 e 18 anos, com prejuízos mais acentuados após os 18–20 anos (CARNEVALE & GINTHER, 1992; IRELAND et al., 2018).

Os primeiros trabalhos que investigaram os efeitos da idade sobre a reprodução em éguas concentraram-se na dinâmica folicular e na qualidade embrionária. Wesson e Ginther (1981) demonstraram que éguas mais velhas apresentam menor recrutamento folicular, menor taxa de crescimento do folículo dominante, redução do diâmetro do folículo pré-ovulatório e maior intervalo interovulatório, frequentemente associado ao prolongamento da fase luteal e ao atraso entre a luteólise e a ovulação subsequente. Posteriormente, Carnevale et al. (1993) observaram que éguas idosas (>20 anos) produziam embriões com pior classificação morfológica, apresentando maior proporção de embriões grau 3 (razoável) e grau 4 (degenerado). Esses achados foram confirmados por Brinsko et al. (1995), que também relataram menor número de blastômeros e menor qualidade embrionária em embriões provenientes de éguas mais velhas,

indicando que a idade compromete a viabilidade embrionária desde as fases iniciais do desenvolvimento.

Apesar de a maioria das éguas idosas manterem ciclicidade estral e capacidade ovulatória aparentes, evidências subsequentes demonstraram que o declínio da fertilidade está fortemente associado à redução da qualidade oocitária. Carnevale e Ginther (1995) e Carnevale et al. (1999) descreveram alterações morfológicas significativas em oócitos de éguas idosas, incluindo grandes vesículas citoplasmáticas, irregularidades na forma celular, áreas do ooplasma desprovidas de organelas, alterações na oolema e atraso na maturação nuclear. Essas alterações refletem comprometimento estrutural e funcional do oócito, reduzindo sua competência para sustentar o desenvolvimento embrionário após a fertilização.

Avaliações funcionais demonstraram maior incidência de desorganização do fuso meiótico, desalinhamento cromossômico e alterações na arquitetura citoplasmática em oócitos provenientes de éguas com mais de 16 anos, fatores intimamente associados ao aumento do risco de aneuploidias e falhas no desenvolvimento embrionário subsequente (RIZZO et al., 2018). Esses mecanismos são semelhantes aos descritos em outras espécies mamíferas, incluindo humanos, e sustentam a hipótese de que erros na segregação cromossômica constituem um dos principais eventos celulares responsáveis pela infertilidade relacionada à idade (CARNEVALE, 2008).

O envelhecimento reprodutivo em éguas não afeta exclusivamente a função ovariana e a qualidade embrionária, mas também promove alterações estruturais, funcionais e moleculares no ambiente uterino, as quais exercem papel determinante na redução da eficiência reprodutiva. Éguas idosas apresentam maior prevalência de alterações crônicas degenerativas, caracterizada por fibrose periglandular progressiva, redução da densidade glandular funcional e comprometimento da secreção histotrófica essencial para a sobrevivência embrionária precoce (KENNEY & DOIG, 1986; CARNEVALE, 2008). Além disso, alterações vasculares endometriais, incluindo redução da perfusão e da angiogênese, têm sido descritas com o avanço da idade,

578 resultando em menor aporte de oxigênio e nutrientes ao concepto (HOFFMANN
579 et al., 2009).

580

581 Do ponto de vista funcional, o útero de éguas idosas apresenta resposta
582 inflamatória exacerbada e prolongada após a cobertura ou inseminação artificial,
583 com deficiência na depuração uterina, o que favorece a persistência de
584 inflamação subclínica e infecções uterinas crônicas (TROEDSSON et al., 1995;
585 TROEDSSON, 2001). Essa condição está associada a maior produção de
586 mediadores inflamatórios e alterações no ambiente imunológico uterino,
587 comprometendo a receptividade endometrial e aumentando o risco de perda
588 embrionária precoce. Os estudos também demonstram que a idade materna
589 influencia a expressão gênica endometrial relacionada à adesão embrionária,
590 remodelação tecidual e sinalização materno-embrionária, reforçando que o
591 envelhecimento uterino contribui de forma independente e sinérgica para o
592 declínio da fertilidade em éguas idosas (KLEIN et al., 2015; IRELAND et al.,
593 2018). Essas alterações podem limitar a capacidade do útero em sustentar o
594 desenvolvimento embrionário mesmo quando embriões morfologicamente
595 viáveis são transferidos para receptoras idosas (BALL et al., 2008; SMITS et al.,
596 2022).

597

598 Corroborando esses achados, Ireland et al. (2018) destacaram que o
599 envelhecimento reprodutivo em éguas resulta da interação entre alterações
600 oocitárias, embrionárias e uterinas, associadas à disfunção mitocondrial,
601 redução da produção de adenosina trifosfato (ATP) e aumento do estresse
602 oxidativo. Esses fatores afetam tanto o oócito quanto o microambiente uterino,
603 aumentando a probabilidade de perdas embrionárias precoces. Em nível
604 embrionário, Smits et al. (2022) demonstraram que a idade materna altera
605 significativamente o transcriptoma de embriões equinos em estágios iniciais do
606 desenvolvimento, com impacto em vias relacionadas ao metabolismo energético,
607 controle do ciclo celular, organização do citoesqueleto e adesão celular,
608 particularmente na massa celular interna do blastocisto.

609

2.2. Envelhecimento: Efeitos na regulação dos hormônios reprodutivos

O envelhecimento reprodutivo em éguas está intimamente associado a alterações graduais na regulação endócrina do eixo hipotálamo–hipófise–ovariano, as quais contribuem de forma integrada para o declínio progressivo da eficiência reprodutiva observado em fêmeas idosas. Diferentemente do observado em espécies que apresentam cessação abrupta da atividade reprodutiva, como a mulher, as éguas tendem a manter a ciclicidade estral até idades avançadas. No entanto, essa manutenção funcional é acompanhada por modificações sutis, porém biologicamente relevantes, nos padrões hormonais, que comprometem a sincronização dos eventos reprodutivos e a competência funcional dos tecidos-alvo (BERGFELT et al., 1993; IRELAND et al., 2018).

Estudos demonstram que a idade influencia de maneira significativa o padrão de secreção das gonadotrofinas hipofisárias. Em éguas idosas, observa-se maior variabilidade na frequência e amplitude dos pulsos do hormônio luteinizante (LH), bem como alterações na magnitude e no aumento pré-ovulatório dessa gonadotrofina. De forma semelhante, a secreção do hormônio folículo estimulante (FSH) apresenta maior irregularidade, refletindo um comprometimento da regulação do recrutamento e da seleção folicular (BERGFELT et al., 1993).

No que se refere aos esteroides ovarianos, evidências indicam que a produção de estradiol durante a fase folicular encontra-se reduzida ou apresenta maior variabilidade em éguas idosas quando comparadas a fêmeas jovens. Ginther et al. (2008) demonstraram que concentrações reduzidas de estradiol no período pré-ovulatório comprometem a sincronização adequada do aumento de LH, além de afetarem diretamente a preparação do trato reprodutivo feminino. Entre os efeitos mais relevantes destacam-se a redução do edema uterino, a modulação inadequada da expressão de receptores hormonais endometriais e a alteração do ambiente uterino, fatores que contribuem para um cenário menos favorável à fertilização, ao transporte espermático e à manutenção inicial da gestação.

Além dos hormônios clássicos do eixo reprodutivo, marcadores endócrinos relacionados à reserva ovariana também sofrem influência marcante do envelhecimento. O hormônio antimülleriano (HAM), secretado pelas células da granulosa de folículos em estágios iniciais de desenvolvimento, apresenta concentrações progressivamente reduzidas em éguas idosas, refletindo a diminuição da reserva folicular funcional e da capacidade de recrutamento ao longo dos ciclos estrais. A redução do HAM correlaciona-se diretamente com os achados morfológicos previamente descritos, incluindo menor número de folículos antrais, alterações na qualidade oocitária e redução da eficiência reprodutiva, consolidando seu papel como biomarcador da senescência ovariana em éguas (BALL et al., 2008; CLAES et al., 2013).

2.3. Obesidade e Síndrome metabólica equina: Efeitos sobre a eficiência reprodutiva

A obesidade tem emergido como um importante modulador negativo da eficiência reprodutiva em éguas, atuando por meio de mecanismos metabólicos, endócrinos, inflamatórios e celulares que comprometem a função ovariana, uterina e o desenvolvimento embrionário inicial. Em equinos, o acúmulo excessivo de tecido adiposo está fortemente associado ao desenvolvimento de resistência à insulina e à SME, condição caracterizada por disfunção metabólica sistêmica, hiperinsulinemia compensatória, inflamação crônica de baixo grau e alterações endócrinas persistentes (FRANK et al., 2010; JOHNSON, 2020). Embora a obesidade isolada já seja capaz de interferir negativamente na fisiologia reprodutiva, evidências indicam que a presença concomitante da SME intensifica e perpetua essas alterações, resultando em repercussões reprodutivas mais severas e duradouras (BURNS, 2016).

Uma égua é considerada obesa quando apresenta acúmulo excessivo de tecido adiposo suficiente para alterar a homeostase metabólica e predispor a disfunções sistêmicas, incluindo comprometimento reprodutivo. O método mais utilizado e validado para essa avaliação é o Escore de Condição Corporal (ECC)

proposto por Henneke et al. (1983), no qual valores ≥ 7 em uma escala de 1 a 9 caracterizam obesidade, refletindo deposição excessiva de gordura em regiões específicas como pescoço, cernelha, costelas, garupa e base da cauda. Complementarmente, a avaliação da adiposidade regional por meio do *Cresty Neck Score* (CNS), no qual a escala varia de 0 (ausência de deposição adiposa) a 5 (acúmulo extremo de gordura na crista cervical), sendo valores ≥ 3 indicativos de acúmulo patológico de gordura cervical, tem sido amplamente empregada por sua associação consistente com resistência à insulina e risco metabólico aumentado (CARTER et al., 2009; FRANK et al., 2010).

A SME representa um estado metabólico disfuncional mais complexo do que a obesidade simples, uma vez que envolve resistência periférica à insulina e desregulação persistente da sinalização insulínica nos tecidos-alvo. Em éguas obesas sem SME, a homeostase glicêmica pode permanecer relativamente preservada, permitindo adaptações compensatórias que atenuam os impactos reprodutivos. Em contraste, na SME, a hiperinsulinemia crônica exerce efeitos diretos e indiretos sobre o eixo hipotálamo–hipófise–ovariano, alterando a secreção pulsátil de GnRH, o padrão de liberação de LH e FSH e a esteroidogênese ovariana, comprometendo processos essenciais como a ovulação, a luteinização adequada e a manutenção inicial da gestação (FRANK et al., 2010; BURNS, 2016; DUPONT et al., 2014).

Do ponto de vista reprodutivo, éguas obesas, especialmente aquelas com disfunção metabólica associada, apresentam alterações na dinâmica do ciclo estral, incluindo aumento do intervalo interovulatório, prolongamento da fase luteal, variações nos níveis circulantes de progesterona e maior incidência de ciclos irregulares ou anovulatórios. Esses distúrbios dificultam o manejo reprodutivo, sobretudo em programas de inseminação artificial, transferência de embriões e sincronização de estro, refletindo disfunções ovarianas funcionais persistentes associadas à exposição contínua a um ambiente metabólico adverso (CARNEVALE et al., 2010; BURNS, 2016).

Em nível celular, o excesso de adiposidade está associado ao aumento do estresse oxidativo, à lipotoxicidade e a desequilíbrios hormonais que

comprometem a qualidade oocitária e o microambiente folicular (MCCUE, 2019). Estudos recentes demonstraram que a obesidade em éguas promove alterações metabólicas significativas nas células da granulosa, incluindo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), redução da disponibilidade de L-carnitina no fluido folicular, acúmulo lipídico excessivo nas células do *cúmulus* e nos oócitos e elevação do metabolismo basal oocitário, resultando em disfunção mitocondrial e prejuízo da competência oocitária (CATANDI et al., 2024).

A disfunção metabólica associada à obesidade interfere ainda na esteroidogênese ovariana, particularmente na produção de estradiol. A hiperinsulinemia e a resistência à insulina alteram a sinalização nas células da granulosa, reduzindo a responsividade ao FSH e a expressão da aromatase (CYP19A1), enzima responsável pela conversão de andrógenos em estradiol (WEBB et al., 2004; SCARAMUZZI et al., 2011). Paralelamente, a estimulação excessiva das células da teca pode favorecer a produção de andrógenos, criando um ambiente hiperandrogênico que limita a síntese estrogênica. Além disso, a lipotoxicidade e o estresse oxidativo comprometem etapas mitocondriais iniciais da esteroidogênese, como a conversão do colesterol em pregnenolona mediada pela CYP11A1, reduzindo a eficiência global da produção hormonal (BURNS, 2016; MCCUE, 2019).

Além dos efeitos ovarianos, a obesidade está associada a um estado inflamatório crônico de baixo grau, mediado pelo tecido adiposo metabolicamente ativo, que secreta adipocinas e citocinas pró-inflamatórias, como leptina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6). Esses mediadores podem comprometer a vascularização uterina, a receptividade endometrial e os mecanismos de reconhecimento materno da gestação, aumentando o risco de falhas de implantação e perdas embrionárias precoces (FRANK et al., 2010; ROBINSON & THORNBURG, 2019).

Evidências experimentais recentes reforçam a complexidade dessas interações. Wolodko et al. (2025), utilizando camundongos obesos induzidos por dieta, demonstraram que a obesidade materna suprime a sinalização da via de

Nodal nas células da teca ovariana, uma via crucial para a regulação da esteroidogênese. A hiperleptinemia observada em animais obesos levou ao aumento da expressão de Smad7, um inibidor da sinalização de Nodal, resultando na redução da expressão de genes esteroidogênicos essenciais. Embora as evidências derivem de modelo experimental de outra espécie, esses achados oferecem suporte fisiopatológico e podem ser particularmente relevantes em éguas com SME, nas quais a exposição crônica à hiperinsulinemia e à hiperleptinemia pode exacerbar a disfunção esteroidogênica e comprometer ainda mais a eficiência reprodutiva.

2.3.1. Diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica equina

O diagnóstico da SME baseia-se na avaliação integrada do ECC, da presença de adiposidade regional (especialmente crista do pescoço), da resposta insulínica e do perfil metabólico do animal. Testes dinâmicos, como o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e o teste combinado de glicose–insulina, são amplamente utilizados para a identificação de resistência à insulina e hiperinsulinemia compensatória, consideradas os principais marcadores fisiopatológicos da SME (FRANK et al., 2010; BURNS, 2016).

Para mitigar os efeitos deletérios da obesidade e da SME sobre a função reprodutiva, é fundamental a adoção de estratégias integradas de manejo nutricional, metabólico e clínico. O manejo da SME baseia-se, primordialmente, na redução da ingestão de carboidratos não estruturais da dieta, no aumento da atividade física regular e no controle do escore de condição corporal, com o objetivo de reduzir a resistência à insulina e a hiperinsulinemia compensatória. Em casos selecionados, pode ser necessária a utilização de fármacos capazes de melhorar a sensibilidade periférica à insulina ou modular o metabolismo energético. A monitorização veterinária contínua, com avaliação periódica do perfil glicêmico e insulínico, é essencial não apenas para a prevenção de complicações como a laminite, mas também para a preservação da eficiência reprodutiva e do bem-estar geral das éguas (GEOR & HARRIS, 2009).

No contexto farmacológico, agentes como a metformina e a levotiroxina têm sido tradicionalmente utilizados no manejo de distúrbios metabólicos associados à SME, especialmente em animais com histórico ou risco elevado de laminite. Mais recentemente, estudos têm demonstrado resultados promissores com o uso de inibidores do cotransportador sódio-glicose tipo 2 (SGLT2), como a velagliflozina e a canagliflozina, que atuam promovendo glicosúria e reduzindo a carga glicêmica sistêmica, contribuindo para a diminuição da hiperinsulinemia (MARTINS et al., 2022). Embora esses fármacos não tenham como alvo primário a função reprodutiva, a melhora do estado metabólico sistêmico pode refletir positivamente sobre o ambiente ovariano e uterino.

Além das intervenções dietéticas e farmacológicas, a suplementação nutricional específica tem emergido como uma estratégia complementar promissora para atenuar os impactos metabólicos da obesidade sobre o ambiente folicular. Catandi et al. (2024) demonstraram que a suplementação contendo L-carnitina, antioxidantes e ácidos graxos ômega-3 foi capaz de reduzir grande parte das alterações metabólicas observadas em éguas obesas, resultando em parâmetros metabólicos semelhantes aos de éguas com ECC adequado. Entre os efeitos observados destacam-se a redução da produção de ROS, a normalização do perfil lipídico nas células do cúmulus e a melhora da homeostase metabólica no microambiente folicular, sugerindo impacto positivo sobre a qualidade oocitária e o potencial reprodutivo.

A L-carnitina desempenha papel central nesse contexto por sua função essencial no metabolismo mitocondrial dos ácidos graxos. Esse composto é responsável pelo transporte de ácidos graxos de cadeia longa do citosol para o interior da mitocôndria, onde ocorre a β -oxidação, processo fundamental para a produção eficiente de ATP. Em condições de obesidade e resistência à insulina, há acúmulo excessivo de lipídios nas células da granulosa, no cúmulus e nos oócitos, associado à disfunção mitocondrial e ao aumento do estresse oxidativo. A suplementação com L-carnitina aumenta sua disponibilidade no fluido folicular, favorecendo a oxidação lipídica, reduzindo a lipotoxicidade celular e melhorando a eficiência energética mitocondrial. Adicionalmente, a diminuição da proporção de acilcarnitinas observada em éguas suplementadas indica maior completude

da β -oxidação e melhor flexibilidade metabólica mitocondrial, condições essenciais para a aquisição da competência oocitária (CATANDI et al., 2024).

Para que os efeitos da suplementação com L-carnitina se tornem evidentes, estudos metabólicos e reprodutivos sugerem que alterações sistêmicas iniciais podem ser observadas após aproximadamente 4 a 6 semanas de suplementação contínua, período correspondente ao tempo necessário para ajustes no metabolismo energético e na função mitocondrial. No entanto, efeitos mais consistentes sobre o ambiente folicular e a qualidade oocitária tendem a requerer períodos mais prolongados, geralmente entre 8 e 12 semanas, considerando-se a duração da dinâmica folicular em éguas e o tempo necessário para que folículos em desenvolvimento sejam expostos de forma sustentada a um ambiente metabólico otimizado. Dessa forma, intervenções nutricionais baseadas em L-carnitina devem ser implementadas com antecedência em relação à estação reprodutiva ou aos programas de reprodução assistida, visando maximizar seus benefícios reprodutivos (CATANDI et al., 2024; GINTHER, 1992).

2.4. Desregulação insulínica

A DI é definida como uma alteração na relação fisiológica entre as concentrações plasmáticas ou séricas de insulina e glicose, refletindo distúrbios nos mecanismos de secreção, ação e/ou depuração desse hormônio (FRANK et al., 2010; DE LAAT et al., 2016). Essa condição compreende qualquer combinação de hiperinsulinemia basal, hiperinsulinemia pós-prandial ou após testes de desafio com carboidratos, bem como resistência periférica e/ou hepática à insulina, sendo atualmente reconhecida como o principal componente fisiopatológico da SME (FRANK et al., 2010; DURHAM et al., 2019).

A hiperinsulinemia associada à DI decorre, predominantemente, do aumento da secreção de insulina pelas células β pancreáticas, podendo ser potencializada por redução da depuração hepática do hormônio (KRONFELD et al., 2005; BURNS et al., 2010). Entre os principais estímulos para a secreção

exacerbada de insulina destacam-se dietas ricas em carboidratos não estruturais, que promovem elevações repetidas da glicemia pós-prandial. Além disso, hormônios incretínicos produzidos no trato gastrointestinal, como o peptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) e o peptídeo semelhante ao glucagon tipo 1 (GLP-1), exercem papel relevante ao amplificar a resposta insulínica de forma desproporcional à glicemia, contribuindo para a manutenção da hiperinsulinemia mesmo na ausência de hiperglicemia persistente (de LAAT et al., 2016; BAMFORD et al., 2015).

A resistência à insulina, outro componente central da DI, é definida como a resposta inadequada dos tecidos sensíveis à insulina (sistema músculo esquelético, tecido adiposo e fígado), frente a concentrações normais ou elevadas do hormônio (TREIBER et al., 2006; FRANK & TADROS, 2014). Nessa condição, ocorre redução da captação periférica de glicose e/ou falha na supressão da produção hepática de glicose, levando ao desenvolvimento de hiperinsulinemia compensatória. A resistência à insulina pode manifestar-se de forma periférica, comprometendo o transporte de glicose dependente de insulina, ou de forma hepática, afetando a capacidade da insulina de regular a gliconeogênese (BURNS et al., 2010; DURHAM et al., 2019).

Diversos fatores de risco têm sido consistentemente associados ao desenvolvimento da DI em equinos, incluindo excesso de adiposidade corporal, especialmente a deposição regional de gordura, idade avançada, sedentarismo e consumo crônico de dietas com alto teor de carboidratos não estruturais (CARTER et al., 2009; FRANK et al., 2010). O tecido adiposo excessivo atua como um órgão endócrino funcional, liberando adipocinas e mediadores pró-inflamatórios que interferem negativamente na sinalização da insulina e agravam a resistência periférica (VICK et al., 2007; FRANK & TADROS, 2014).

Adicionalmente, distúrbios endócrinos frequentemente observados em equinos idosos, como a disfunção da pars intermedia da hipófise (PPID), podem exacerbar a DI por meio de interações hormonais complexas, contribuindo para a sobreposição clínica SME e PPID (MCGOWAN et al., 2013; DURHAM et al., 2019). Anteriormente denominada síndrome de Cushing, a PPID é caracterizada

pela degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos responsáveis pelo controle inibitório da pars intermedia da hipófise, resultando em hiperplasia ou hipertrofia dessa região e aumento da produção de peptídeos derivados da proopiomelanocortina (POMC), especialmente o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). A doença acomete principalmente equinos com mais de 15 anos, com prevalência estimada entre 15% e 30%, e manifesta-se por sinais clínicos como hipertricrose, poliúria, polidipsia, perda de massa muscular, aumento do volume abdominal e laminite crônica (BRANDÃO et al., 2019; BURNS, 2016; FIELD & WOLF, 1988; HILLYER et al., 1992). A PPID compromete o eixo hipotálamo–hipófise–adrenal e interfere na secreção de hormônios reprodutivos, podendo reduzir a eficiência reprodutiva (UJVARI et al., 2017). Em éguas idosas, a coexistência entre envelhecimento fisiológico e PPID está associada a irregularidades do ciclo estral, maior incidência de anovulação, redução das taxas de concepção e dificuldades na manutenção da gestação (MCFARLANE, 2011; PANZANI et al., 2003).

Dessa forma, a DI deve ser compreendida como uma condição multifatorial e dinâmica, resultante da interação entre fatores nutricionais, metabólicos, endócrinos e individuais. A identificação precoce de hiperinsulinemia basal, respostas insulinêmicas exacerbadas após desafio e resistência à insulina é fundamental para a correta classificação metabólica dos animais e para a prevenção de complicações clínicas relevantes (de LAAT et al., 2010; ASPLIN et al., 2007).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conjunto, as evidências indicam que o envelhecimento, quando associado à obesidade e à SME, pode promover sobreposição progressiva de disfunções metabólicas, endócrinas e reprodutivas em éguas, com impacto negativo sobre a função ovariana, o ambiente uterino e a competência embrionária. Embora a obesidade isolada já represente um fator de risco para a eficiência reprodutiva, a presença concomitante da SME tende a intensificar e

perpetuar esses efeitos ao sustentar a resistência à insulina, a inflamação crônica de baixo grau e a desregulação da esteroidogênese. Nesse contexto, o controle do estado corporal, o diagnóstico precoce das alterações metabólicas e a implementação de estratégias nutricionais e reprodutivas direcionadas configuram-se como medidas essenciais para mitigar os impactos do ambiente metabólico adverso e preservar a eficiência reprodutiva, especialmente em éguas idosas.

4. HIPÓTESE E OBJETIVOS

4.1. Hipótese(s)

Éguas idosas portadoras de SME apresentam: histórico reprodutivo menos favorável, caracterizado por menor ocorrência de ovulações, menor escore de edema endometrial no dia da indução e maior ocorrência de líquido uterino, assim como, menor número de embriões por ciclo e pior qualidade embrionária em relação às éguas que não apresentam SME.

4.2. Objetivo(s) geral(s)

Avaliar a associação entre obesidade e SME com os parâmetros reprodutivos de éguas idosas doadoras de embriões.

4.3. Objetivo(s) específico(s)

- Comparar a ovulação em éguas idosas com e sem SME.

- Avaliar o grau de edema endometrial e a presença de líquido uterino em éguas idosas com e sem SME.

- Determinar o número de embriões recuperados por ciclo e a qualidade embrionária em éguas idosas doadoras de embriões obesas e/ou com SME e eutróficas.

5. REFERÊNCIAS

ASPLIN, K. E. *et al.* Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Equine Veterinary Journal*, v. 39, n. 6, p. 545–551, 2007.

BALL, B. A. *et al.* Anti-Müllerian hormone concentration in mares is associated with age and ovarian reserve. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 28, n. 8, p. 512–516, 2008.

BAMFORD, N. J. *et al.* Postprandial glucose, insulin, and glucagon-like peptide-1 responses of different equine breeds adapted to meals containing micronized maize. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 29, n. 2, p. 624–630, 2015.

BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Relationship between gonadotropin concentrations and follicular development in mares. *Biology of Reproduction*, v. 49, n. 4, p. 847–854, 1993.

BRANDÃO, F. Z. *et al.* Pituitary pars intermedia dysfunction in horses: clinical, endocrine and epidemiological aspects. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 71, n. 6, p. 1831–1840, 2019.

BRINSKO, S. P. *et al.* Effects of age on fertilization and embryonic development in the mare. *Theriogenology*, v. 43, n. 4, p. 727–738, 1995.

BURNS, T. A. Equine metabolic syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 32, n. 2, p. 243–258, 2016.

BURNS, T. A. *et al.* Insulin sensitivity and glucose dynamics during pre- and postprandial states in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 24, n. 2, p. 315–321, 2010.

CARNEVALE, E. M. Oocyte quality in the mare. *Theriogenology*, v. 68, n. 3, p. 289–298, 2008.

- 978 CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. Relationships of age to uterine function
979 and fertility in mares. *Theriogenology*, v. 34, n. 6, p. 1101–1115, 1992.
980
- 981 CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. Defective oocytes as a cause of subfertility
982 in older mares. *Biology of Reproduction*, v. 51, n. 2, p. 209–214, 1995.
983
- 984 CARNEVALE, E. M. *et al.* Embryo quality and age-related fertility in mares.
985 *Biology of Reproduction*, v. 40, n. 3, p. 481–487, 1993.
986
- 987 CARNEVALE, E. M. *et al.* Follicular development and oocyte quality in aged
988 mares. *Theriogenology*, v. 54, n. 3, p. 411–421, 1999.
989
- 990 CARTER, R. A. *et al.* Apparent adiposity assessed by standardised scoring
991 systems and morphometric measurements in horses and ponies. *The Veterinary*
992 *Journal*, v. 179, n. 2, p. 204–210, 2009.
993
- 994 CATANDI, G. D. *et al.* Obesity alters follicular metabolism, mitochondrial activity
995 and oocyte competence in mares. *Biology of Reproduction*, v. 110, n. 2, p. 345–
996 358, 2024.
997
- 998 CLAES, A. N. J. *et al.* Anti-Müllerian hormone as a marker for fertility in mares.
999 *Reproduction in Domestic Animals*, v. 48, n. 1, p. 12–19, 2013.
1000
- 1001 COSTA, L. R. R. *et al.* Pergolide treatment in horses with pituitary pars intermedia
1002 dysfunction: clinical and endocrine outcomes. *Journal of Equine Veterinary*
1003 *Science*, v. 123, p. 104250, 2023.
1004
- 1005 DE LAAT, M. A. *et al.* The role of insulin in the pathogenesis of equine laminitis.
1006 *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 24, n. 4, p. 867–874, 2010.
1007
- 1008 DE LAAT, M. A. *et al.* Equine hyperinsulinemia: investigation of the enteroinsular
1009 axis during insulin dysregulation. *American Journal of Physiology –*
1010 *Endocrinology and Metabolism*, v. 310, n. 1, p. E61–E72, 2016.
1011

- 1012 DUPONT, J. *et al.* Metabolic and endocrine control of follicular development.
1013 *Theriogenology*, v. 82, n. 1, p. 9–20, 2014.
1014
- 1015 DURHAM, A. E. *et al.* Equine endocrine disease: where are we now? *Equine*
1016 *Veterinary Journal*, v. 51, n. 3, p. 273–284, 2019.
1017
- 1018 FIELD, J. R.; WOLF, R. E. Endocrine and metabolic aspects of equine Cushing's
1019 disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 4, n. 2, p. 307–
1020 327, 1988.
1021
- 1022 FRANK, N. *et al.* Equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal*
1023 *Medicine*, v. 24, n. 3, p. 467–475, 2010.
1024
- 1025 FRANK, N.; TADROS, E. M. Insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*, v.
1026 46, n. 2, p. 103–112, 2014.
1027
- 1028 GEOR, R. J.; HARRIS, P. A. Dietary management of obesity and insulin
1029 resistance: countering risk for laminitis. *Veterinary Clinics of North America:*
1030 *Equine Practice*, v. 25, n. 1, p. 51–65, 2009.
1031
- 1032 GINTHER, O. J. *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects*. 2.
1033 ed. Cross Plains: Equiservices, 1992.
1034
- 1035 GINTHER, O. J. *et al.* Reduced estradiol concentrations in older mares.
1036 *Theriogenology*, v. 69, n. 6, p. 791–799, 2008.
1037
- 1038 HENNEKE, D. R. *et al.* Relationship between condition score, physical
1039 measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*, v.
1040 15, n. 4, p. 371–372, 1983.
1041
- 1042 HILLYER, M. H. *et al.* Equine pituitary pars intermedia dysfunction: clinical
1043 features, diagnosis and treatment. *Equine Veterinary Education*, v. 4, n. 2, p. 71–
1044 78, 1992
1045

- 1046 HOFFMANN, B. *et al.* Age-related changes in uterine blood flow in mares.
1047 *Theriogenology*, v. 72, n. 3, p. 326–335, 2009.
1048
- 1049 IRELAND, J. L. H. *et al.* Reproductive aging in mares. *Journal of Equine*
1050 *Veterinary Science*, v. 66, p. 32–40, 2018.
1051
- 1052 JOHNSON, P. J. Metabolic syndrome in horses: pathophysiology and clinical
1053 relevance. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 36, n. 2, p.
1054 257–276, 2020.
1055
- 1056 KENNEY, R. M.; DOIG, P. A. Equine endometrial biopsy. *Theriogenology*, v. 26,
1057 n. 6, p. 561–570, 1986.
1058
- 1059 KLEIN, C. *et al.* Age-related changes in endometrial gene expression in mares.
1060 *Biology of Reproduction*, v. 93, n. 3, p. 1–12, 2015.
1061
- 1062 KRONFELD, D. S. *et al.* Insulin resistance in the horse: definition, detection, and
1063 dietary implications. *Journal of Animal Science*, v. 83, n. 7, p. 1653–1663, 2005.
1064
- 1065 LOSINNO, L. *et al.* Management factors affecting embryo recovery rates in an
1066 equine embryo transfer program. *Theriogenology*, v. 54, n. 5, p. 701–710, 2000.
1067
- 1068 MARTINS, A. M. C. R. P. *et al.* Use of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors
1069 in the management of equine hyperinsulinemia. *Equine Veterinary Journal*, v. 54,
1070 n. 4, p. 566–573, 2022.
1071
- 1072 McCUE, P. M. Oocyte quality and metabolic influences in the mare.
1073 *Theriogenology*, v. 125, p. 1–9, 2019.
1074
- 1075 McFARLANE, D. Equine pituitary pars intermedia dysfunction. *Veterinary Clinics*
1076 *of North America: Equine Practice*, v. 27, n. 1, p. 93–113, 2011.
1077
- 1078 McGOWAN, C. M. *et al.* Pituitary pars intermedia dysfunction: diagnosis and
1079 treatment. *Equine Veterinary Journal*, v. 45, n. 5, p. 545–552, 2013.

1080
1081 OLIVEIRA, C. A. A. et al. Seasonal and geographic variation of plasma ACTH
1082 concentrations in horses from tropical regions. *Journal of Equine Veterinary*
1083 *Science*, v. 110, p. 103835, 2022.
1084
1085 RIBEIRO, M. A. et al. Insulin dysregulation and its effects on reproductive
1086 performance in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 89, p. 103028,
1087 2020.
1088
1089 RIZZO, M. et al. Meiotic spindle alterations in oocytes from aged mares.
1090 *Reproduction*, v. 156, n. 4, p. 281–290, 2018.
1091
1092 ROBINSON, H. E.; THORNBURG, K. L. The effects of maternal obesity on fetal
1093 development. *Placenta*, v. 79, p. 1–6, 2019.
1094
1095 SCARAMUZZI, R. J. et al. The role of androgens in follicular development and
1096 ovulation rate. *Reproduction*, v. 141, n. 4, p. 517–531, 2011.
1097
1098 SECOMBE, C. J. et al. Equine metabolic syndrome and obesity: current
1099 perspectives on diagnosis and management. *Veterinary Journal*, v. 237, p. 1–10,
1100 2018.
1101
1102 SMITS, K. et al. Maternal age alters the transcriptome of equine embryos. *Biology*
1103 *of Reproduction*, v. 106, n. 1, p. 145–158, 2022.
1104
1105 TREIBER, K. H. et al. Insulin resistance and compensation in Thoroughbred
1106 weanlings adapted to high-glycemic diets. *Journal of Animal Science*, v. 84, n. 9,
1107 p. 2357–2364, 2006.
1108
1109 TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to endometritis in the
1110 mare. *Theriogenology*, v. 43, n. 1, p. 1–15, 1995.
1111

1112 TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and susceptibility to persistent mating-
1113 induced endometritis in the mare. *Journal of Veterinary Science*, v. 2, n. 2, p. 97–
1114 105, 2001.
1115
1116 UJVARI, S. et al. Reproductive disturbances associated with pituitary pars
1117 intermedia dysfunction in horses. *Equine Veterinary Education*, v. 29, n. 8, p.
1118 426–432, 2017.
1119
1120 VICK, M. M. et al. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and
1121 insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science*, v. 85, n. 5, p. 1144–
1122 1155, 2007.
1123
1124 WEBB, R. et al. Mechanisms regulating follicular development and selection of
1125 the dominant follicle. *Reproduction*, v. 128, n. 5, p. 597–609, 2004.
1126
1127 WOŁODKO, K. et al. Increased susceptibility to diet-induced obesity in female
1128 mice impairs ovarian steroidogenesis. *Molecular Metabolism*, v. 91, p. 102062,
1129 2025.
1130
1131
1132
1133
1134
1135
1136
1137
1138
1139
1140
1141
1142
1143
1144
1145

1146

1147

1148

1149

1150

1151

1152

1153

1154

1155

1156

1157

1158

1159

1160

1161

1162

1163

1164

1165

1166

1167

1168

1169

1170

1171

1172

CAPÍTULO 2

ARTIGO CIENTÍFICO

ASSOCIAÇÃO DO ESTADO METABÓLICO SOBRE OS DESFECHOS REPRODUTIVOS EM ÉGUAS IDOSAS

Association of metabolic state with reproductive outcomes in aged mares

Silva, D. F¹ *; Ignácio, F. S.¹; Favoreto, M. G²; Bock, G. V¹; Camargo, G. S¹; Miranda, R. S¹; Camillo, B. L¹; Miranda, B. N¹; Haddad, B. N¹; Sambí, G. N¹; Paz, C. F. R³; Meira, C¹.

¹ Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, FMVZ, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.

² Lloyd Veterinary Medical Center, College of Veterinary medicine, Iowa State University, Ames, Iowa-EUA.

³ Departamento de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais – PUC/Minas, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

*Corresponding author

E-mail: deborah.freitas@unesp.br (DF Silva)

Resumo

A síndrome metabólica equina (SME) e a obesidade em éguas idosas podem comprometer a eficiência reprodutiva por meio da desregulação insulínica (DI) e de alterações no microambiente reprodutivo. Este estudo teve como objetivo avaliar a associação entre obesidade e SME com os parâmetros reprodutivos de éguas idosas doadoras de embriões. Foram avaliadas 14 éguas (18–30 anos), classificadas como SME– (n = 6) ou SME+ (n = 8) com base nas concentrações basais de glicose e insulina e na resposta ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Foram mensuradas glicose, insulina, triglicerídeos e ACTH. Indicadores reprodutivos retrospectivos (2022–2025) foram analisados por Equações de Estimção Generalizadas, considerando medidas repetidas por égua. As éguas SME+ apresentaram concentrações basais e pós-desafio de insulina significativamente maiores que as SME– (p < 0,05). A glicose não diferiu no tempo basal (p = 0,085), porém foi maior no grupo SME+ aos 60 min (p = 0,0005), 90 min (p <

0,0001) e 120 min ($p = 0,0065$) após o desafio. Os triglicerídeos não diferiram entre grupos ($p = 0,1426$). Não houve associação significativa entre SME e ovulação, recuperação embrionária ou sucesso reprodutivo (ovulação associada à recuperação embrionária no mesmo ciclo), embora éguas SME- tenham apresentado maiores probabilidades estimadas de resultados favoráveis. O grau de edema uterino associou-se positivamente à recuperação embrionária ($OR = 1,42$ por unidade; $p = 0,020$). Conclui-se que a SME em éguas idosas está associada a DI e resposta glicêmica exacerbada, com tendências de melhor desempenho reprodutivo em éguas metabolicamente saudáveis.

Palavras-chave: desregulação insulínica; teste oral de tolerância à glicose; hiperinsulinemia; recuperação embrionária; edema uterino.

1. INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva das éguas resulta da interação complexa e dinâmica de múltiplos fatores fisiológicos, metabólicos e ambientais que atuam de forma interdependente ao longo da vida reprodutiva. Entre os principais determinantes destacam-se a idade, o estado nutricional e metabólico, a integridade do eixo endócrino, as condições ovarianas e uterinas, bem como aspectos relacionados ao manejo reprodutivo, sanidade geral, estresse e ambiente. Alterações em qualquer desses componentes podem comprometer a ciclicidade, a qualidade oocitária, a competência embrionária e a manutenção da gestação, impactando negativamente o desempenho reprodutivo, especialmente em éguas submetidas a programas intensivos de reprodução assistida [1, 2, 3]. Nesse contexto, a compreensão dos fatores metabólicos que modulam a eficiência reprodutiva tornou-se particularmente relevante para a otimização dos programas de reprodução assistida em equinos.

O envelhecimento é reconhecido como um dos principais fatores associados à redução da fertilidade em éguas. A idade avançada está relacionada a alterações na dinâmica folicular, redução progressiva da qualidade dos oócitos e a um ambiente uterino menos favorável à implantação e ao desenvolvimento embrionário inicial. Estudos demonstram que éguas idosas apresentam menores taxas de concepção, maior incidência de perda embrionária precoce e redução da eficiência na produção embrionária, mesmo quando mantêm ciclos estrais aparentemente regulares [3, 4, 5]. Essas alterações refletem o comprometimento progressivo da função ovariana e uterina, resultando em redução mensurável da eficiência reprodutiva clínica em programas de transferência de embriões. Na equideocultura, esse aspecto assume relevância particular, uma vez que muitas éguas iniciam a vida reprodutiva apenas após o término da carreira esportiva ou após a consolidação do valor genético, coincidindo com uma fase fisiológica de declínio da eficiência reprodutiva [6].

Paralelamente ao envelhecimento, o estado nutricional e metabólico exerce papel central na regulação da função reprodutiva. Os sistemas modernos de criação de equinos, frequentemente caracterizados por menor atividade física e dietas energeticamente densas, têm favorecido o desenvolvimento de sobrepeso e obesidade, aumentando a

prevalência de distúrbios metabólicos que podem exacerbar alterações fisiológicas associadas à idade e comprometer a saúde reprodutiva [1, 3, 7].

A obesidade e as alterações metabólicas associadas, em especial a desregulação insulínica (DI) e a síndrome metabólica equina (SME), têm sido consistentemente associadas a modificações na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. A SME é caracterizada por resistência à insulina, deposição regional de gordura e aumento do risco de laminite, frequentemente coexistindo com obesidade generalizada. Evidências indicam que a hiperinsulinemia crônica pode estar associada a alterações na esteroidogênese ovariana, na dinâmica folicular e na qualidade oocitária, além de potenciais impactos sobre o ambiente uterino, contribuindo para redução da fertilidade e aumento da perda embrionária precoce. Esses mecanismos sugerem que a DI pode resultar em prejuízos reprodutivos clinicamente detectáveis, afetando desfechos como ovulação, recuperação embrionária e qualidade embrionária [2, 7, 8].

Nesse contexto, observa-se que a idade avançada, obesidade e DI frequentemente coexistem em éguas doadoras de embriões, potencializando seus efeitos deletérios sobre a função reprodutiva. Apesar do crescente interesse científico e do avanço no conhecimento sobre esses fatores de forma isolada, ainda são escassos os estudos que avaliam de maneira integrada o impacto das alterações metabólicas sobre desfechos reprodutivos clínicos em éguas idosas doadoras de embriões. Especificamente, permanece pouco esclarecido se a SME está associada a alterações mensuráveis em parâmetros reprodutivos objetivos, como ovulação, recuperação embrionária e qualidade embrionária, nessa população. Essa lacuna dificulta o estabelecimento de estratégias de manejo baseadas em evidências para otimizar o desempenho reprodutivo e a longevidade produtiva dessas fêmeas.

Diante disso, torna-se fundamental aprofundar o conhecimento sobre a relação entre envelhecimento, obesidade, alterações metabólicas e distúrbios endócrinos, e seus efeitos sobre a eficiência reprodutiva de éguas doadoras de embriões. A compreensão integrada desses fatores poderá subsidiar o desenvolvimento de estratégias de manejo reprodutivo mais eficazes, contribuindo para a melhoria dos índices reprodutivos e para o uso racional desses animais em programas de reprodução assistida. Além disso, a identificação da influência do estado metabólico sobre a eficiência reprodutiva pode

contribuir para a estratificação de risco reprodutivo e otimização do manejo clínico dessas fêmeas. A pesquisa neste campo é, portanto, não apenas relevante, mas necessária para o avanço da medicina veterinária equina e a sustentabilidade da equideocultura. Frente às questões mencionadas, o presente estudo teve por finalidade avaliar a associação da obesidade e da SME sobre a ovulação, o escore de edema endometrial no dia na indução, ocorrência de líquido uterino, número de embriões por ciclo e qualidade embrionária em éguas idosas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Aspectos éticos

Para a execução deste projeto, todos os procedimentos seguiram integralmente as diretrizes éticas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA). A proposta foi previamente avaliada e aprovada pela Comissão Institucional de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo nº 000.424.

2.2. Design experimental

2.2.1. Animais

Foram utilizadas 14 éguas, sem raça definida, com idades entre 18 e 30 anos e peso corporal médio de 450 ± 80 kg, pertencentes ao plantel da Fazenda Experimental Lageado, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Botucatu, São Paulo, Brasil. Apenas éguas clinicamente saudáveis, sem histórico recente de doenças sistêmicas, laminite ativa ou distúrbios reprodutivos diagnosticados, foram incluídas no estudo. Nenhum dos animais recebeu tratamento farmacológico que pudesse interferir no metabolismo glicêmico ou na função reprodutiva durante o período experimental.

A composição e o manejo alimentar foram mantidos constantes durante todo o período experimental (2022 a 2025), a fim de evitar interferências externas sobre os parâmetros metabólicos avaliados, visando minimizar variações metabólicas associadas à dieta e garantir maior homogeneidade metabólica entre os animais avaliados. A alimentação foi composta predominantemente por volumoso, fornecido na forma de silagem de milho, em quantidade diária estimada entre 12 e 15 kg por animal. Como complemento nutricional, cada égua recebeu diariamente 2 kg de concentrado, sal mineral

e água à vontade.

O sistema de manejo foi mantido constante ao longo de todo o estudo, adotando-se regime de criação semi-intensivo. Os animais permaneceram em piquetes e receberam alimentação fornecida exclusivamente em cocho.

2.2.2. Estudo retrospectivo dos indicadores reprodutivos

Foi conduzido um estudo retrospectivo observacional longitudinal, baseado na análise dos registros reprodutivos de éguas pertencentes ao plantel da Fazenda Experimental Lageado (UNESP–Botucatu), referentes às estações reprodutivas dos anos de 2022 a 2025. Para cada animal, foram considerados a idade e o número de ciclos reprodutivos por estação, o qual variou de 3 a 12 ciclos, totalizando 445 ciclos. Cada ciclo reprodutivo foi considerado uma unidade observacional vinculada ao respectivo animal. Como múltiplos ciclos foram avaliados por égua ao longo do período experimental, cada animal foi considerado como unidade experimental, e os ciclos reprodutivos foram tratados como medidas repetidas dentro do mesmo indivíduo. Os indicadores reprodutivos avaliados por ciclo incluíram: ocorrência de ovulação, grau de edema uterino no dia da indução da ovulação, presença de líquido intrauterino, número de embriões recuperados, qualidade embrionária e taxa de sucesso reprodutivo (ocorrência de ovulação associada à recuperação embrionária no mesmo ciclo).

A atividade ovariana das éguas foi avaliada por meio de exames ultrassonográficos transretais seriados, utilizando-se equipamento de ultrassonografia DP-10 (Mindray®), operando em modo B e acoplado a transdutor linear com frequência de 5 a 7,5 MHz. Todos os exames ultrassonográficos foram realizados por médicos veterinários previamente treinados e experientes em reprodução equina, responsáveis pelo acompanhamento seriado do desenvolvimento folicular, identificação do momento da ovulação e avaliação das estruturas ovarianas ao longo do período experimental. As avaliações foram conduzidas diariamente, até a confirmação da ovulação. A indução da ovulação foi realizada após a detecção de folículo dominante ≥ 35 mm de diâmetro. A inseminação artificial foi realizada 24 horas após a indução ovulatória. A ovulação foi confirmada por ultrassonografia transretal, caracterizada pela resolução do folículo dominante previamente identificado e subsequente formação de corpo lúteo no ovário correspondente.

O edema endometrial foi avaliado por ultrassonografia transretal no dia da indução da ovulação, utilizando-se escala semiquantitativa baseada no padrão característico de organização das pregas endometriais, conforme descrito por Ginther [9]. Foram considerados quatro graus de edema, representativos da intensidade da estimulação estrogênica no período periovulatório: grau 0, ausência de edema; grau 1, edema discreto com pregas pouco definidas; grau 2, edema moderado com pregas organizadas em padrão radial típico; grau 3, edema acentuado, correspondente ao pico da estimulação estrogênica e considerado o mais favorável para a indução da ovulação; e grau 4, edema excessivo ou irregular, com perda parcial da organização endometrial. Considerando que o edema endometrial representa uma variável contínua e apresenta transições graduais ao longo do estro, em alguns casos foram admitidos escores intermediários (ex.: 2,5; 3,5), conforme descrito em estudos clássicos e adotado em protocolos clínicos e experimentais em reprodução equina [5, 9, 10, 11]. A presença de líquido intrauterino também foi avaliada por ultrassonografia, sendo registrada de forma dicotômica (presente ou ausente), independentemente do volume, conforme metodologia empregada em estudos reprodutivos de rotina em éguas [5, 11].

A colheita embrionária foi realizada por meio de lavagem uterina transcervical, nos dias 7 e 8 pós-ovulação. O número de embriões recuperados por ciclo foi registrado, permitindo a determinação da taxa de recuperação embrionária a partir do total de embriões obtidos em cada ciclo reprodutivo. A taxa de sucesso reprodutivo foi definida como a associação entre a ocorrência de ovulação e a recuperação embrionária no mesmo ciclo.

Os embriões obtidos foram imediatamente avaliados na lupa e a qualidade embrionária foi classificada conforme sistema padronizado amplamente aceito na reprodução equina, que categoriza os embriões em graus de 1 a 4, sendo grau 1 correspondente a embriões de excelente qualidade morfológica e grau 4 a embriões degenerados ou inviáveis, considerando aspectos morfológicos gerais, integridade estrutural, homogeneidade celular e presença de alterações degenerativas [12]. Para fins de análise, os embriões foram posteriormente agrupados de acordo com sua viabilidade.

1388

1389 2.2.3. *Caracterização do estado corporal e da adiposidade regional*

1390 Todos os animais incluídos no estudo foram submetidos previamente a exame
1391 físico geral, realizado de acordo com os procedimentos padronizados para a espécie
1392 equina [13] com o objetivo de confirmar a aptidão clínica e garantir a ausência de
1393 alterações sistêmicas que pudessem interferir nos parâmetros metabólicos e reprodutivos
1394 avaliados. Ademais, foi realizada a estimação do peso, mensuração da altura de cernelha,
1395 aferição de escore de condição corporal (ECC), mensuração da circunferência de pescoço
1396 e aferição de escore de adiposidade do pescoço (*Cresty Neck Score* – CNS). Todas as
1397 mensurações corpóreas foram conduzidas por um único avaliador, previamente treinado,
1398 a fim de minimizar vieses interobservador e garantir maior reprodutibilidade e
1399 consistência dos dados obtidos.

1400

1401 O peso corporal estimado foi obtido por meio de fita zoométrica graduada e
1402 validada para equinos, conforme descrito por Carroll e Huntington [14], utilizando a
1403 mensuração da circunferência torácica. A medida foi realizada ao redor do tórax, na
1404 região do perímetro torácico, imediatamente caudal à cernelha e cranial ao processo
1405 xifoide, com os animais mantidos em estação, cabeça em posição neutra e membros
1406 posicionados paralelamente. A altura de cernelha foi aferida com a mesma fita,
1407 posicionada desde o ponto mais elevado da cernelha até o solo, respeitando o alinhamento
1408 corporal do animal em estação quadrupedal, sobre superfície plana [14,15]. Todas as
1409 mensurações foram realizadas em um único momento experimental, previamente à
1410 classificação metabólica dos animais.

1411

1412 O ECC foi avaliado por meio da escala proposta por Henneke et al. [16],
1413 amplamente validada para equinos, a qual varia de 1 a 9. A avaliação foi realizada a partir
1414 da inspeção visual e da palpação sistemática de seis regiões anatômicas específicas:
1415 pescoço, cernelha, região lombar, costelas, garupa e base da cauda, permitindo a
1416 identificação da distribuição e do acúmulo de tecido adiposo subcutâneo. De acordo com
1417 essa classificação, animais com ECC entre 5 e 6 foram considerados em condição
1418 corporal ideal, enquanto valores de $ECC \geq 7$ foram considerados indicativos de obesidade
1419 [16,17].

1420

A circunferência do pescoço foi mensurada com fita métrica flexível e inelástica, posicionada no ponto correspondente a 50% da distância entre a crista nugal e a cernelha, conforme metodologia descrita por Carter et al. [17], com os animais mantidos em estação, cabeça em posição neutra e membros paralelos. Adicionalmente, procedeu-se à avaliação do CNS, de acordo com a escala proposta pelos mesmos autores, a qual varia de 0 (ausência de deposição adiposa) a 5 (acúmulo extremo de gordura na crista cervical). Para fins de classificação, valores de $\text{CNS} \geq 3$ foram interpretados como compatíveis com obesidade regional marcada (Figura 1).

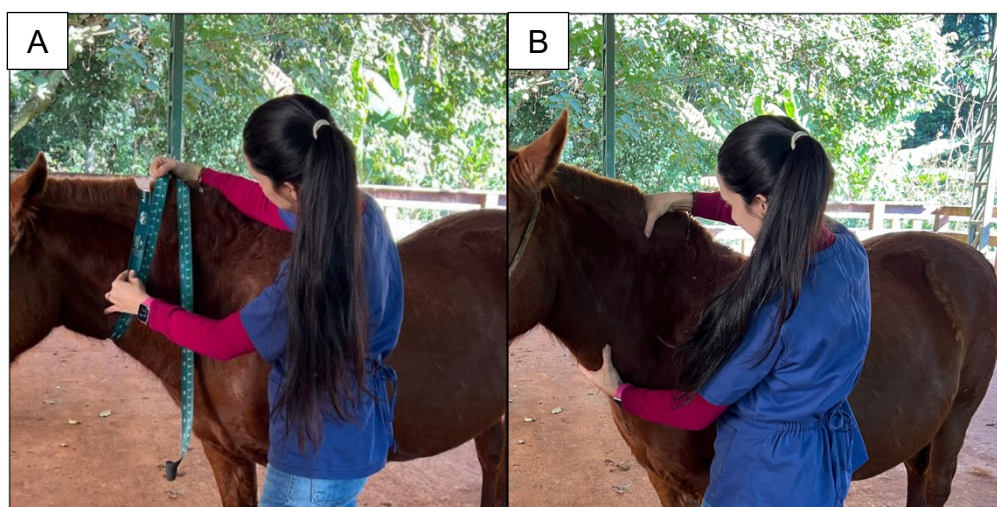


Figura 1: Mensuração da circunferência do pescoço e avaliação do escore de adiposidade cervical (*Cresty Neck Score- CNS*) em éguas. (A) Medição da circunferência realizada no ponto médio entre a nuca e a cernelha com fita métrica flexível. (B) Avaliação do acúmulo de gordura cervical segundo escala de 0 a 5, na qual escores mais elevados indicam maior adiposidade regional.

Para minimizar a influência do porte corporal individual, foi calculada a razão pescoço/altura, obtida pela divisão da circunferência do pescoço (em centímetros) pela altura de cernelha (em centímetros), resultando em um índice adimensional empregado como marcador objetivo de adiposidade cervical. Embora não exista ponto de corte universalmente estabelecido para a razão pescoço/altura, estudos prévios demonstram associação positiva entre valores elevados desse índice, adiposidade cervical e alterações metabólicas [17]. No presente estudo, a razão pescoço/altura foi empregada como variável morfométrica complementar, interpretada de forma integrada ao CNS e ao ECC, visando à melhor caracterização da adiposidade regional e sistêmica. Valores elevados

dessa razão, associados a $CNS \geq 3$ e $ECC \geq 7$, foram considerados indicativos de obesidade, contribuindo para reduzir a subjetividade inerente à avaliação clínica visual isolada, permitindo maior robustez na classificação morfométrica e reduzindo a subjetividade inerente à avaliação clínica isolada.

2.2.4. Detecção diagnóstica de SME e PPID

Foi realizado em todos os animais o teste de detecção diagnóstica para SME e PPID, de acordo com o protocolo do Equine Endocrinology Group [18]. A colheita de sangue foi realizada por venopunção da veia jugular esquerda, após antisepsia local com álcool a 70%, utilizando agulha 40×12 mm acoplada ao sistema de coleta a vácuo (Vacutainer®), com posterior acondicionamento das amostras em tubos apropriados para cada tipo de análise realizada.

No dia da colheita sanguínea, as éguas permaneceram em jejum alimentar por 4 horas antes da primeira colheita, o que foi obtido pela suspensão da alimentação matinal normalmente fornecida. Após a primeira colheita, os animais voltaram a receber alimentação conforme o manejo rotineiro. Na colheita basal (T0), foram obtidos 15 mL de sangue, distribuídos em: tubo sem anticoagulante para dosagem de insulina e triglicerídeos; tubo contendo EDTA para dosagem de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH); e tubo contendo fluoreto de sódio para dosagem de glicose. Todas as amostras foram coletadas no período da manhã, a fim de reduzir variações circadianas nos parâmetros hormonais e metabólicos. Imediatamente após a coleta basal, foi administrado xarope de milho por via oral, para o teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Posteriormente, aos 60 (T60), 90 (T90) e 120 (T120) minutos foram realizadas novas colheitas de sangue (10 mL), fracionadas em tubos sem anticoagulante para dosagem de insulina e tubos com fluoreto de sódio para dosagem de glicose. Após as colheitas, as amostras foram mantidas em repouso para completa coagulação e, em seguida, centrifugadas a $2.000 \times g$ por 10 minutos. O soro obtido foi imediatamente aliquotado em microtubos tipo Eppendorf e armazenado a -20°C até o envio para análise laboratorial (Figura 2). O processamento laboratorial das amostras foi conduzido em até 20 minutos após a colheita, visando reduzir possíveis interferências nas características das amostras e nos resultados obtidos.

O xarope de milho comercial (Yoki®) foi utilizado como fonte de carboidratos

para o TOTG, administrado por via oral na dose de 0,15 mL/kg de peso corporal, à qual foi aplicado um ajuste de 20% para compensar possíveis diferenças na composição nutricional entre os produtos comercializados no Brasil e o xarope de milho tradicionalmente utilizado nos protocolos internacionais do Equine Endocrinology Group. Portanto, para padronização operacional do protocolo, a dose foi expressa como 18 mL/100 kg de peso corporal, obtida a partir da conversão direta da dose ajustada ($0,15 \text{ mL/kg} \times 100 \text{ kg} = 15 \text{ mL/100 kg}$). Essa adaptação metodológica foi baseada em evidências disponíveis na literatura nacional que demonstram variações relevantes na composição de xaropes comerciais e seus potenciais efeitos sobre a resposta glicêmica e insulinêmica [19]. O ajuste permitiu maior equivalência fisiológica com os protocolos de referência e viabilizou a aplicação dos pontos de corte diagnósticos internacionalmente estabelecidos para avaliação da disfunção insulínica em equinos.

As dosagens de insulina e ACTH foram realizadas no B.E.T. Laboratories – Endocrinologia Veterinária, por radioimunoensaio de fase sólida (RIA), utilizando os kits comerciais Siemens Coat-A-Count Insulin e Siemens Coat-A-Count ACTH, respectivamente, validados previamente para uso em equinos. Ademais, as análises de glicose e triglicerídeos foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP, Botucatu, utilizando analisador bioquímico automatizado Mindray® Bioclin 2400 PRO, no qual foram empregados kits comerciais da Bioclin® (referências K082 para glicose e K117 para triglicerídeos), com leitura baseada na metodologia enzimática colorimétrica (Trinder), seguindo as recomendações do fabricante e os procedimentos de controle de qualidade laboratorial.

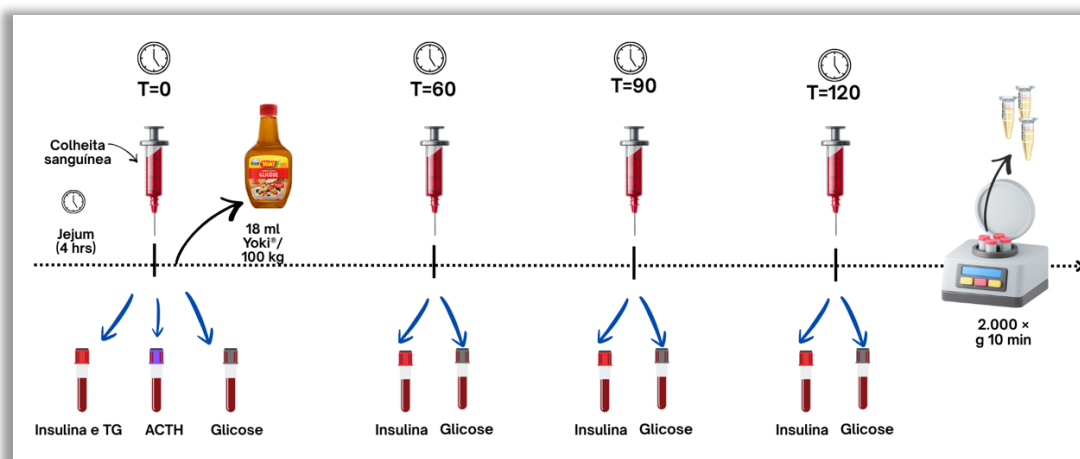


Figura 2: Representação esquemática do protocolo do teste oral de tolerância à glicose (TOTG), indicando os tempos de coleta (T0, T60, T90 e T120) para as análises de glicose, insulina, ACTH e triglicerídeos. TG, triglicerídeos; ACTH, hormônio adrenocorticotrófico.

A precisão analítica dos ensaios hormonais foi avaliada por meio do cálculo dos coeficientes de variação intraensaio e interensaio. Todas as amostras foram analisadas em duplicata, sendo os valores finais obtidos a partir da média das duas determinações. A análise em duplicata foi adotada como medida de controle de qualidade analítica, visando aumentar a confiabilidade e precisão dos resultados obtidos. Para a dosagem de insulina, o coeficiente de variação intraensaio foi de 9,12% e o interensaio de 8,22%. Para a dosagem de ACTH, os coeficientes de variação foram de 4,98% (intraensaio) e 3,57% (interensaio). Para as análises de glicose e triglicerídeos, não foi possível o cálculo do coeficiente de variação interensaio, uma vez que todas as amostras foram processadas em um único ensaio analítico. Dessa forma, os coeficientes de variação foram calculados considerando as determinações realizadas em duplicata, resultando em valores de 0,99% para glicose e 3,7% para triglicerídeos, indicando elevada precisão analítica dos métodos empregados.

Para a interpretação dos resultados laboratoriais e classificação metabólica e endócrina dos animais, foram adotadas as seguintes faixas de referência e critérios diagnósticos, com base nas recomendações do Equine Endocrinology Group e literatura previamente publicada: concentrações basais de insulina $\leq 20 \mu\text{IU/mL}$ foram consideradas dentro da normalidade, enquanto valores superiores foram interpretados como indicativos de hiperinsulinemia e presença de SME. No teste dinâmico após desafio

oral com glicose, concentrações de insulina ≥ 45 μ IU/mL aos 60, 90 e 120 minutos foram consideradas indicativas de DI e compatíveis com SME. Adicionalmente, considerou-se como resposta fisiológica adequada o retorno das concentrações plasmáticas de glicose a valores próximos aos basais até 120 minutos após a administração do desafio. As concentrações plasmáticas de glicose em jejum foram consideradas normais quando ≤ 100 – 110 mg/dL, sendo valores superiores interpretados como sugestivos de alteração do metabolismo glicídico e maior risco metabólico [2,20].

A classificação metabólica final foi estabelecida de forma integrada, considerando as concentrações basais de glicose e insulina, bem como a resposta ao TOTG, sendo classificadas como metabolicamente saudáveis (SME–) as éguas que apresentaram concentrações basais de insulina ≤ 20 μ IU/mL e resposta adequada ao TOTG, e como portadoras de DI compatível com SME (SME+) aquelas que apresentaram hiperinsulinemia basal e/ou concentrações de insulina ≥ 45 μ IU/mL em qualquer momento após o desafio oral.

Como teste adicional foi realizada a dosagem sérica de triglicerídeos em todas as éguas. Valores < 57 mg/dL foram considerados dentro da normalidade, entre 57 e 94 mg/dL indicativos de hipertrigliceridemia associada à disfunção metabólica, e valores > 94 mg/dL compatíveis com risco aumentado para o desenvolvimento de hiperlipemia associada à obesidade [18].

As concentrações plasmáticas de ACTH foram avaliadas como critério de exclusão diagnóstica para PPID, a interpretação dos valores foi realizada de forma criteriosa, considerando a reconhecida influência da sazonalidade, particularmente em regiões de menor latitude, como o Brasil [21,22]. Embora valores de referência entre 29–35 pg/mL fora do período outonal e 47–90 pg/mL durante o outono sejam amplamente utilizados no hemisfério norte [23], no presente estudo adotou-se como critério um valor de ACTH ≤ 30 pg/mL no período invernal não-outonal. Essa escolha baseou-se em evidências prévias que indicam menor variação sazonal em regiões tropicais e subtropicais, bem como na necessidade de interpretação integrada aos achados clínicos e metabólicos dos animais avaliados.

Todas as éguas apresentaram valores de ACTH dentro do intervalo de referência adotado para o período invernal (≤ 30 pg/mL). Esse achado indica ausência de evidências laboratoriais compatíveis com PPID no momento da avaliação, permitindo excluir a influência dessa endocrinopatia como fator de confusão nos parâmetros metabólicos e reprodutivos analisados. Dessa forma, nenhum animal foi classificado como portador de PPID no momento da avaliação. Em razão da ausência de casos positivos, não foram realizadas análises comparativas quanto à influência da PPID sobre os desfechos metabólicos e reprodutivos avaliados, sendo essa variável considerada controlada no presente delineamento experimental.

2.3. *Análise estatística*

A análise estatística foi conduzida com o objetivo de avaliar a associação entre a SME, parâmetros corporais, características uterinas e desfechos reprodutivos ao longo de múltiplas estações reprodutivas, considerando a presença de medidas repetidas por animal. As análises foram conduzidas de forma conjunta, considerando todas as estações reprodutivas, e de forma estratificada por estação como análises secundárias de consistência. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software [24], empregando pacotes específicos para modelos longitudinais, regressões generalizadas. Todas as análises foram realizadas considerando nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

Os dados foram organizados em formato longo, de modo que cada linha representasse um ciclo reprodutivo por égua, permitindo a adequada modelagem da dependência intra-animal. Variáveis contínuas foram descritas por média $\pm$ desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil, conforme a distribuição dos dados, enquanto variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e relativas. A normalidade das variáveis contínuas foi avaliada pelo teste de Shapiro–Wilk [25]. Variáveis com distribuição normal foram analisadas por métodos paramétricos, enquanto variáveis que não atenderam ao pressuposto de normalidade foram analisadas por métodos não paramétricos ou por modelos que não assumem normalidade dos resíduos.

Comparações entre éguas SME⁺ e SME[−] foram realizadas utilizando o teste t de Student para amostras independentes quando a normalidade foi atendida [26]. Quando esse pressuposto não foi satisfeito, utilizou-se o teste de Mann–Whitney [27]. Essas análises foram empregadas principalmente para avaliação da população, incluindo: idade,

peso, ECC, CNS, altura de cernelha, grau de edema uterino, ACTH e insulina nos tempos T0, T60, T90 e T120.

A associação entre obesidade e classificação metabólica (SME⁻ vs. SME⁺) foi avaliada por meio do teste exato de Fisher, com estimativa da razão de chances (odds ratio – OR) para quantificar a magnitude da associação [28].

O perfil glicêmico foi comparado entre os grupos SME⁻ e SME⁺ em cada ponto temporal (T0, T60, T90 e T120) utilizando o teste t de Student para amostras independentes, assumindo variâncias iguais, com apresentação dos valores de p, diferença média entre os grupos e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%) [26].

As concentrações séricas de triglicerídeos foram comparadas entre SME⁻ e SME⁺ pelo teste t de Student para amostras independentes (variâncias iguais), com interpretação baseada no p-valor e apresentação gráfica da distribuição dos dados para avaliação da dispersão intra-grupo [26].

Para os desfechos binários ovulação (sim/não) e recuperação embrionária (sim/não), foram utilizados modelos de Equações de Estimação Generalizadas (GEE) com distribuição binomial e função de ligação *logit*, considerando estrutura de correlação *exchangeable* para lidar com medidas repetidas por égua. Os modelos incluíram como variáveis explicativas o *status* SME, o grau de edema uterino no dia da indução e a estação reprodutiva. Os resultados foram expressos como razão de chance (OR - odds ratios) e intervalos de confiança de 95% [29].

A partir dos modelos GEE binomiais, foram estimadas probabilidades ajustadas dos desfechos, permitindo interpretação clínica dos efeitos das variáveis explicativas após ajuste simultâneo para os demais fatores do modelo. O número de embriões recuperados por ciclo foi analisado por meio de modelos GEE com distribuição de Poisson, apropriados para dados de contagem com correlação intra-animal. Os resultados foram expressos como razão de taxas (RR - rate ratio), representando a razão entre o número médio esperado de embriões por ciclo entre os grupos avaliados [30].

O edema uterino foi analisado como variável ordinal, preservando sua

interpretação fisiológica como marcador da intensidade da resposta estrogênica endometrial. O grau de edema foi avaliado tanto de forma descritiva quanto como variável explicativa nos modelos GEE, permitindo estimar o efeito de cada aumento unitário no grau de edema sobre os desfechos reprodutivos.

A análise para estimar o tamanho da amostra foi realizada por meio do site desenvolvido pelo Prof. José Roberto Pereira Lauris - Professor Titular da FOB-USP (<http://estatistica.bauru.usp.br/calculoamostral/index.php>), o cálculo utilizado foi “Diferença entre 2 médias com Grupos Independentes - Teste t”, estabelecendo alfa como 5% e delta como 20% para teste de hipótese monocaudal de amostras independentes. Para a variável mais relevante do estudo (taxa de recuperação embrionária), o desvio-padrão (0,3) e a mínima diferença detectada (1) utilizados foram baseados em estudos prévios de equinos submetidos à protocolos semelhantes. De acordo com os limites supracitados, estima-se que o tamanho amostral seja de no mínimo 9 éguas, inferior ao estabelecido para o projeto.

3. RESULTADOS

A população experimental foi composta por 14 éguas idosas, distribuídas de acordo com a presença ou ausência de SME. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto à idade ($p = 0,24$), peso corporal ($p = 0,92$), ECC ($p = 0,88$), CNS ($p = 0,36$), circunferência do pescoço ($p = 0,19$) e altura de cernelha ($p = 0,34$) (Tabela 1).

Tabela 1: Tabela 1. Média $\pm$ desvio-padrão das características demográficas e morfométricas de éguas idosas classificadas como portadoras (SME+, $n = 8$) ou não portadoras (SME-, $n = 6$) de síndrome metabólica equina. As variáveis incluem idade (anos), peso corporal (kg), escore de condição corporal (escala 1–9), escore de

adiposidade cervical (0–5) e circunferência do pescoço (cm). Para todas as comparações entre grupos, foi adotado nível de significância estatística de 5% ($P < 0,05$).

	Idade (anos)	Peso (Kg)	ECC (1-9)	CNS (0-5)	Circunferência do pescoço (cm)	Altura de cernelha (cm)
SME–	24,66 ± 1,03	452,5 ± 41,8	7 ± 1,41	2,66 ± 0,81	83,16 ± 4,87	1,48 ± 0,10
SME+	23,37 ± 2,72	450 ± 49,6	7,12 ± 0,35	3 ± 0	87,37 ± 6,63	1,44 ± 0,04

SME, síndrome metabólica equina; ECC, escore de condição corporal; CNS, índice de adiposidade do pescoço.

A análise de associação pelo teste exato de Fisher indicou tendência de associação entre obesidade e ocorrência de SME ($p = 0,055$). A estimativa da razão de chances (*odds ratio*-OR) indicou maior chance de ocorrência de SME em éguas obesas, sendo aproximadamente 17 vezes maior em comparação às éguas não obesas, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Associação entre obesidade e síndrome metabólica equina (SME) em éguas idosas.

	SME– (n=6)	SME+ (n=8)	OR	p
Obesidade	3 (50%)	8 (100%)	17	0,055

SME, síndrome metabólica equina; OR, razão de chances (odds ratio). Os dados são apresentados como número de animais e porcentagem entre parênteses.

A classificação metabólica dos animais foi estabelecida de forma integrada, considerando as concentrações basais de glicose e insulina, bem como a resposta ao teste dinâmico. Com base nesses critérios, observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos SME+ e SME– quanto às concentrações basais e dinâmicas de insulina ($p < 0,05$), com valores consistentemente mais elevados no grupo classificado como SME+, conforme apresentado na Figura 3.

De forma complementar, a curva glicêmica evidenciou diferenças entre os grupos ao longo do período avaliado (Figura 4). No tempo basal, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,085$), indicando valores iniciais

comparáveis de glicose plasmática entre éguas metabolicamente saudáveis e aquelas com desregulação insulínica. Em contraste, os animais do grupo SME+ apresentaram concentrações plasmáticas de glicose significativamente mais elevadas nos tempos T60 ($p = 0,0005$), T90 ($p < 0,0001$) e T120 ($p = 0,0065$), demonstrando resposta glicêmica exacerbada e maior tempo de depuração da glicose após o TOTG, compatível com comprometimento da homeostase glicêmica nesses animais.

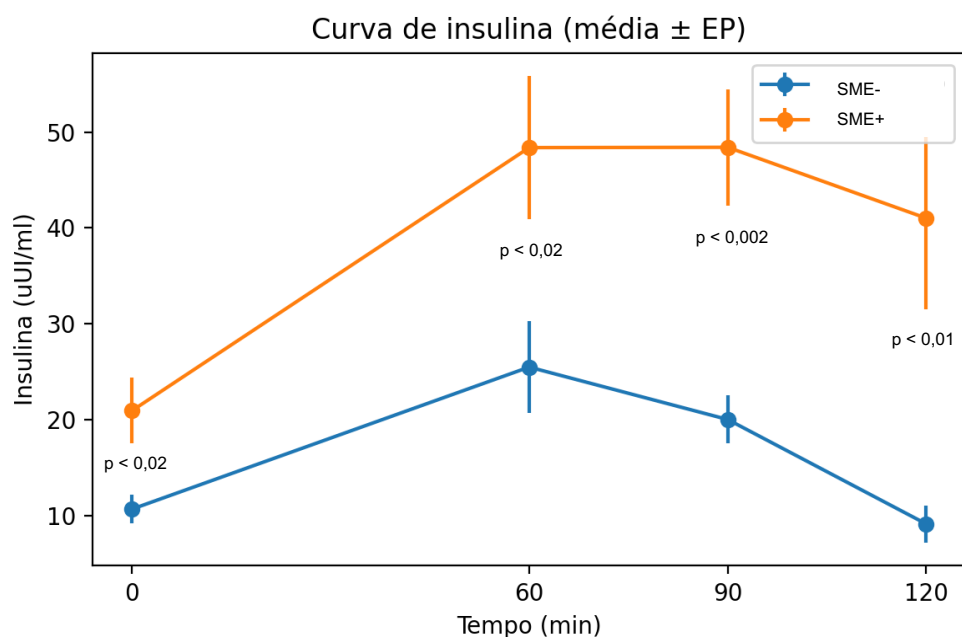


Figura 3: Concentração plasmática de insulina (média $\pm$ desvio padrão) durante o teste dinâmico em éguas idosas com (SME+, $n = 8$) e sem síndrome metabólica equina (SME-, $n = 6$). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram observadas nas concentrações basais e ao longo do período pós-estímulo ($p < 0,05$).

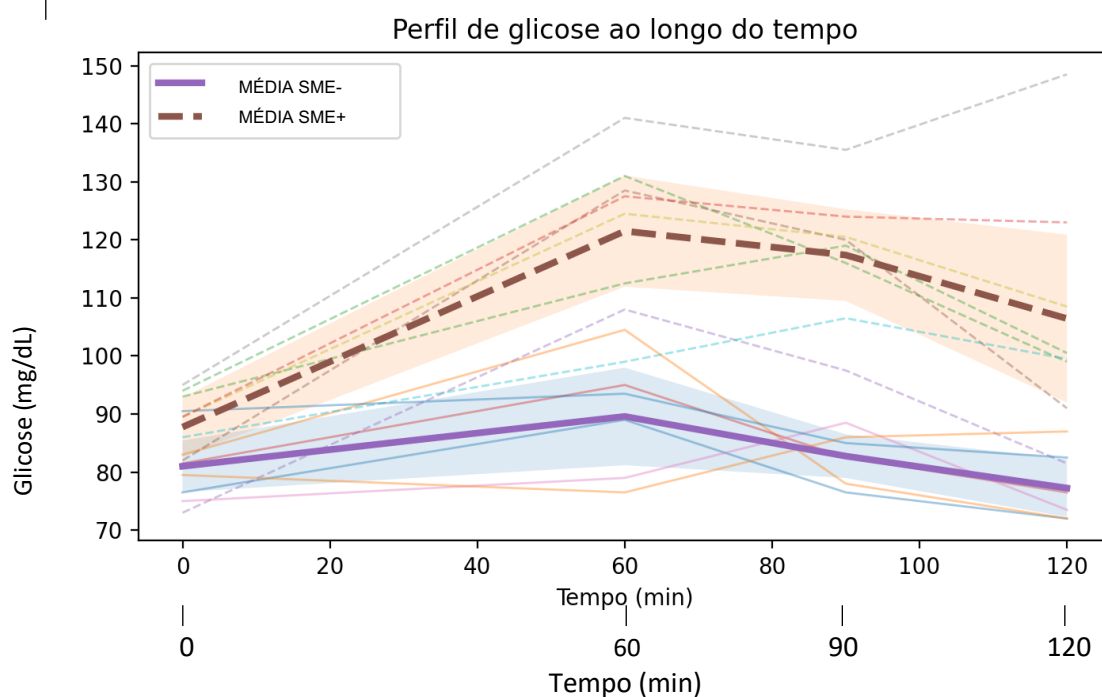


Figura 4: Perfil das concentrações plasmáticas de glicose ao longo do tempo nos grupos SME⁻ e SME⁺. Os valores representam média $\pm$ erro padrão da média. As diferenças médias entre os grupos (SME⁺ /SME⁻) e respectivos intervalos de confiança de 95% foram: T0 = 6,8 (IC95%: 0,1–12,6); T60 = 31,9 (19,9–43,5); T90 = 34,6 (26,6–42,5); T120 = 29,2 (16,2–44,6).

Em relação às concentrações séricas de triglicerídeos, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,1426$). Apesar disso, os animais do grupo SME⁺ apresentaram valores estimados mais elevados, com maior dispersão dos dados em relação ao grupo SME⁻ (Figura 5).

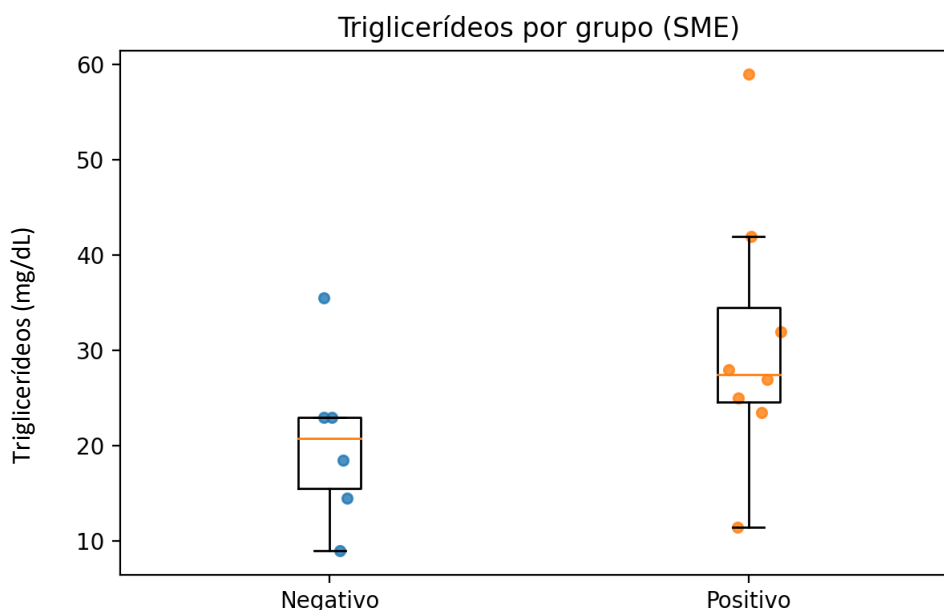


Figura 5: Distribuição das concentrações séricas de triglicerídeos nos grupos SME- e SME+. Os dados são apresentados como boxplot, indicando mediana, intervalo interquartil e valores extremos. A diferença média entre os grupos (SME+, SME-) foi de 10,4, com intervalo de confiança de 95% variando de -1,0 a 22,2 ($p = 0,1426$).

Não foram identificadas associações estatisticamente significativas entre a presença de SME e os desfechos reprodutivos avaliados. Entretanto, observou-se padrão consistente de maiores chances reprodutivas estimadas em éguas metabolicamente saudáveis (SME-). Essas éguas apresentaram 60% maior chance estimada de ovulação ($OR = 1,60$; $IC95\%: 0,61-4,21$), 51% maior chance estimada de recuperação embrionária ($OR = 1,51$; $IC95\%: 0,75-3,04$) e 44% maior chance estimada de sucesso reprodutivo ($OR = 1,44$; $IC95\%: 0,71-2,95$), quando comparadas às éguas com SME (SME+). A presença de líquido uterino não diferiu entre os grupos ($OR = 1,03$; $IC95\%: 0,59-2,15$). Embora os intervalos de confiança incluam a unidade, indicando ausência de significância estatística, os resultados demonstram tendência de melhor desempenho reprodutivo em éguas metabolicamente saudáveis (Figura 6).

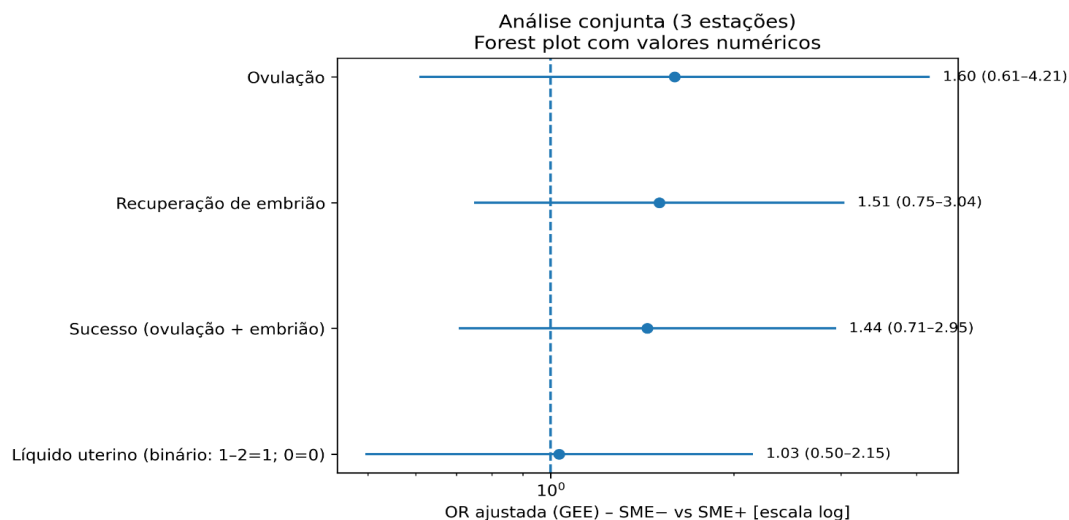
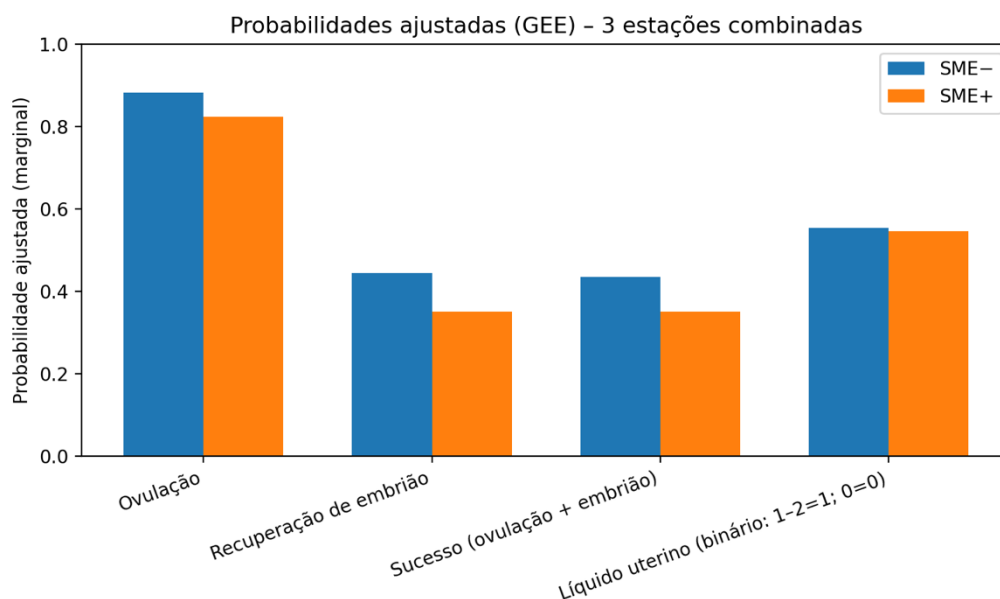


Figura 6: Razão de chances (*odds ratio* – OR) ajustada, com respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%), para os desfechos reprodutivos avaliados em éguas metabolicamente saudáveis (SME-) e com síndrome metabólica equina (SME+). A linha vertical tracejada representa OR = 1, indicando ausência de efeito.

As probabilidades ajustadas, derivadas do modelo GEE, indicaram maiores chances estimadas de ocorrência dos desfechos reprodutivos nas éguas SME- quando comparadas às éguas SME+. A probabilidade estimada de ovulação foi de aproximadamente 88% nas éguas SME- e 82% nas SME+, enquanto a probabilidade de recuperação embrionária foi de aproximadamente 45% e 35%, respectivamente. De forma semelhante, o sucesso reprodutivo apresentou maior probabilidade estimada nas éguas metabolicamente saudáveis (≈43%) em relação às éguas com SME (≈35%). Para a variável presença de líquido uterino, as probabilidades estimadas foram semelhantes entre os grupos, sem diferença clinicamente relevante (Figura 7).



1754

1755 **Figura 7:** Probabilidades ajustadas derivadas do modelo de Equações de Estimação
 1756 Generalizadas (GEE) para os desfechos reprodutivos: ovulação, recuperação embrionária,
 1757 sucesso reprodutivo e presença de líquido uterino em éguas metabolicamente saudáveis
 1758 (SME⁻) e com síndrome metabólica equina (SME⁺).

1759

1760 A média do número de embriões produzidos por ciclo foi comparada entre os
 1761 grupos por meio de modelo de regressão de Poisson, com estimativa da razão de taxas
 1762 (Rate Ratio – RR). Observou-se menor média de embriões produzidos por ciclo em éguas
 1763 com SME quando comparadas às éguas SME⁻ (Figura 8). A razão de taxas estimada
 1764 indicou redução de 18% na produção embrionária em éguas com SME (RR = 0,82);
 1765 contudo, essa diferença não atingiu significância estatística (IC95%: 0,55–1,25; p =
 1766 0,359).

1767

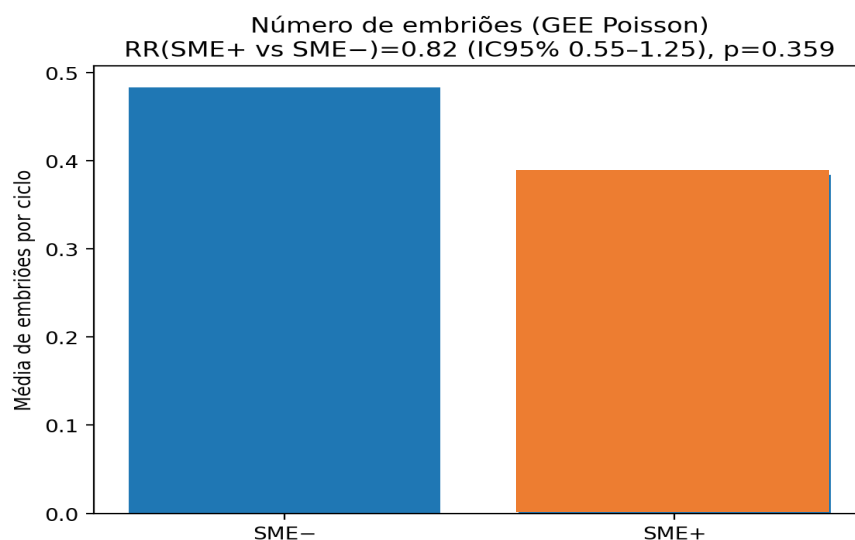


Figura 8: Média do número de embriões produzidos por ciclo em éguas sem (SME-) e com síndrome metabólica equina (SME+), analisada por modelo de regressão de Poisson.

A distribuição da qualidade embrionária, classificada em graus morfológicos G1 a G4, evidenciou predominância de embriões Grau 1 em ambos os grupos avaliados. No grupo SME-, aproximadamente 94–95% dos embriões foram classificados como Grau 1, enquanto no grupo SME+ essa proporção foi discretamente menor (≈ 91 –92%), com leve aumento relativo de embriões Grau 2; o Grau 3 ocorreu em baixa frequência em ambos os grupos e o Grau 4 só foi observado no grupo SME+, também ocorrendo em baixa frequência. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na distribuição da qualidade embrionária entre os grupos ($p = 0,92$) (Figura 9).

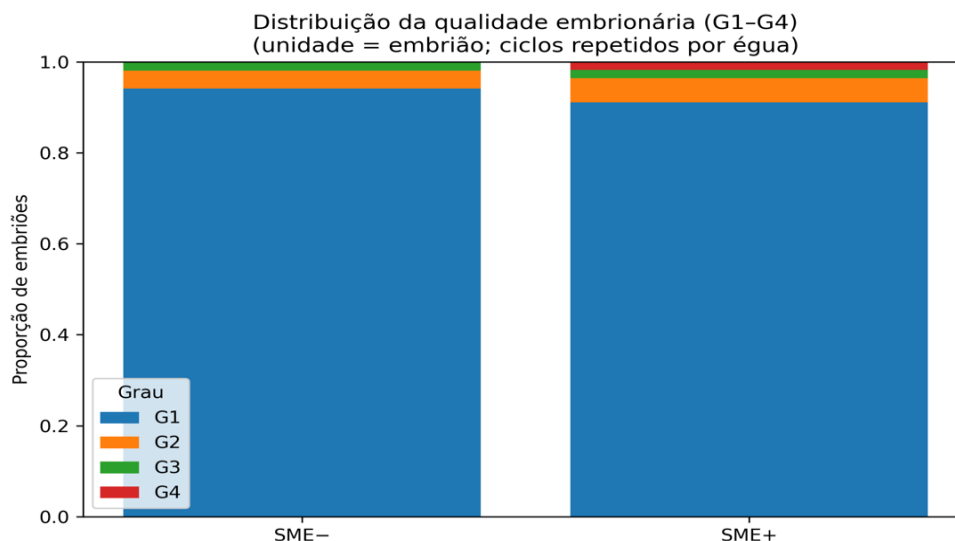


Figura 9: Distribuição proporcional da qualidade embrionária (Graus 1 a 4) em éguas sem (SME-) e com síndrome metabólica equina (SME+), considerando o embrião como unidade experimental em ciclos reprodutivos repetidos por égua.

O efeito do grau de edema uterino sobre os desfechos reprodutivos foi avaliado por meio de modelos de GEE, considerando o aumento de uma unidade no escore de edema uterino. Observou-se associação positiva e estatisticamente significativa entre o grau de edema uterino e a recuperação embrionária (Figura 10), de modo que cada incremento de uma unidade no escore aumentou em 42% a chance de recuperação embrionária (OR = 1,42; IC95%: 1,06–1,90; $p = 0,020$). Em contraste, embora o aumento do grau de edema uterino tenha sido associado a aumento numérico da chance de ovulação (OR = 1,42), essa associação não foi estatisticamente significativa (IC95%: 0,77–2,63; $p = 0,264$).

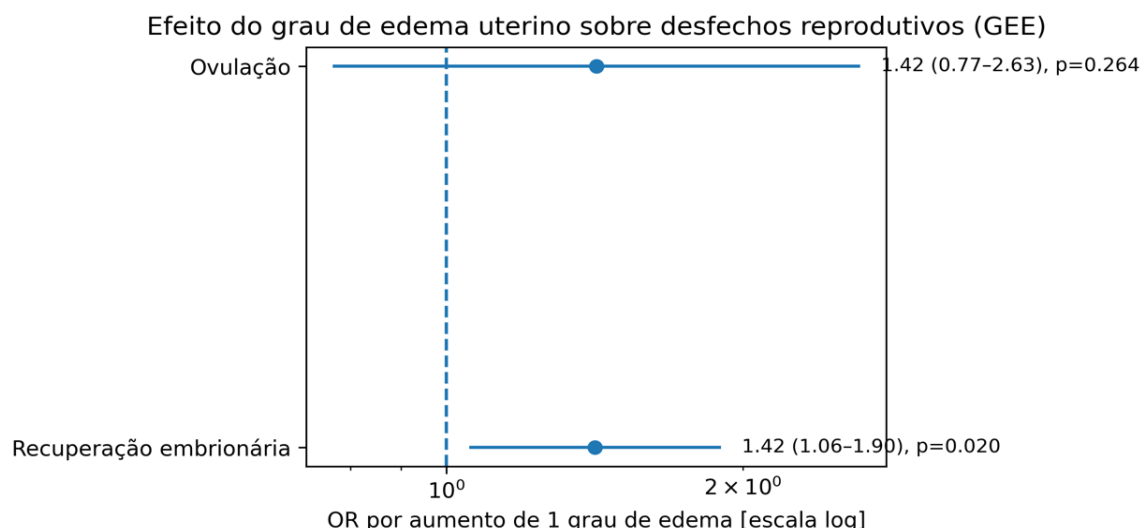


Figura 10: Efeito do grau de edema uterino sobre a ovulação e a recuperação embrionária em éguas, expresso como razão de chances (OR) por aumento de uma unidade no escore de edema uterino.

Observou-se aumento progressivo da probabilidade ajustada de ovulação com o incremento do grau de edema uterino em ambos os grupos (SME⁻ e SME⁺), sem associação estatisticamente significativa no modelo global (Figura 11A). Em relação à recuperação embrionária, verificou-se incremento gradual da probabilidade ajustada à medida que o grau de edema uterino aumentou em ambos os grupos (Figura 11B). Embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, as éguas SME⁻ apresentaram consistentemente maiores probabilidades ajustadas de ovulação e de recuperação embrionária em todos os graus de edema uterino avaliados no dia da indução.

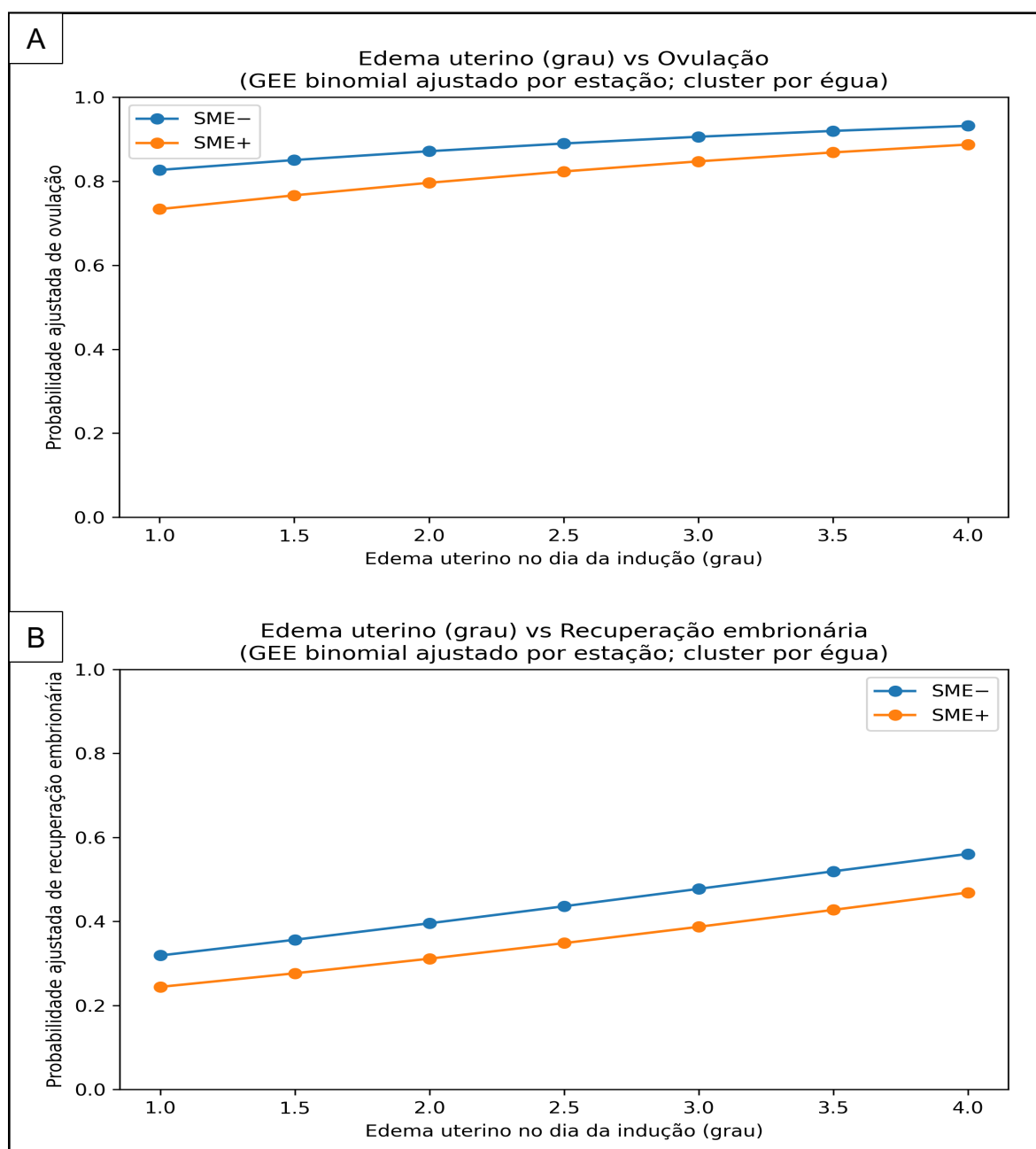


Figura 11: Probabilidade ajustada de ovulação (A) e de recuperação embrionária (B) em função do grau de edema uterino no dia da indução em éguas com (SME+) e sem síndrome metabólica equina (SME-), derivadas de modelos binomiais de Equações de Estimção Generalizadas (GEE), ajustados por estação e com agrupamento por égua.

4. DISCUSSÃO

A padronização metodológica empregada permitiu avaliar, de forma consistente, a relação entre o estado corporal e a classificação metabólica das éguas incluídas. Observou-se tendência de associação positiva entre obesidade e diagnóstico de SME, embora sem significância estatística. Apesar da ausência de significância estatística, a magnitude da associação observada, refletida pela razão de chances, sugere um efeito biologicamente relevante, compatível com o papel da adiposidade como fator predisponente à DI. Esses achados são consistentes com evidências prévias que demonstram que a obesidade constitui importante fator de risco para o desenvolvimento de DI, embora não seja, isoladamente, suficiente para determinar a ocorrência da SME, evidenciando o caráter multifatorial dessa condição e a influência de fatores adicionais, como idade, predisposição individual e estado metabólico basal [2, 17, 20].

As maiores concentrações de insulina basal e pós-desafio observadas no grupo SME+ são compatíveis com a fisiopatologia da SME, caracterizada por resistência periférica à insulina e hiperinsulinemia compensatória. O acúmulo de tecido adiposo, especialmente na região cervical, está associado a alterações endócrinas e inflamatórias, incluindo aumento da liberação de adipocinas pró-inflamatórias e redução da secreção de adiponectina, um hormônio com papel fundamental na modulação da sensibilidade à insulina e na regulação do metabolismo energético. Essa desregulação endócrina contribui para a redução da eficiência da sinalização insulinêmica nos tecidos periféricos, resultando em diminuição da captação de glicose e aumento compensatório da secreção pancreática de insulina. Como consequência, ocorre agravamento da resistência periférica e aumento da demanda secretória pancreática, sustentando o padrão de hiperinsulinemia observado [2, 17]. Além disso, equinos com SME podem apresentar resposta pancreática exacerbada ao estímulo glicídico, com elevação sustentada da insulina mesmo na ausência de hiperglicemia persistente, refletindo um estado de hiperinsulinemia compensatória que precede alterações glicêmicas mais evidentes. Esse aspecto reforça o valor diagnóstico dos testes dinâmicos na identificação precoce da DI, uma vez que a avaliação isolada da glicemia basal pode não detectar alterações metabólicas iniciais [20]. Alterações na depuração hepática e periférica da insulina também podem contribuir para a manutenção de concentrações plasmáticas elevadas desse hormônio em parte dos

animais afetados, evidenciando que tanto o aumento da secreção quanto a redução da depuração participam da fisiopatologia da síndrome [31].

De modo complementar, o comportamento da curva glicêmica reforça que as alterações metabólicas em éguas SME+ tornam-se mais evidentes após estímulo glicídico, e não necessariamente em condições basais. A ausência de diferença significativa na glicemia em jejum, associada à elevação sustentada das concentrações plasmáticas de glicose nos tempos T60, T90 e T120, sugere atraso na remoção periférica da glicose. Esse padrão é característico de estados iniciais ou subclínicos de resistência à insulina, nos quais mecanismos compensatórios mantêm a glicemia basal dentro de limites fisiológicos, enquanto a resposta pós-desafio evidencia comprometimento da homeostase glicêmica. Esse achado reforça a limitação da avaliação isolada da glicemia basal e destaca a importância de testes dinâmicos na detecção precoce de alterações metabólicas funcionais [2, 32].

Sob perspectiva fisiológica, a elevação sustentada da glicose no grupo SME+ pode ser explicada por redução da captação periférica de glicose, especialmente em tecidos muscular e adiposo, associada à disfunção da sinalização intracelular mediada pela insulina. Estudos indicam que, em contextos de hiperinsulinemia crônica, alterações na fosforilação de proteínas envolvidas na via de sinalização insulinêmica e na translocação de transportadores de glicose, como o GLUT-4, podem comprometer a eficiência da captação periférica de glicose, contribuindo para a normalização glicêmica mais lenta após estímulo glicídico [2, 20, 32]. Adicionalmente, a redução da capacidade da insulina em suprimir a produção hepática de glicose, decorrente da resistência hepática à insulina, também pode contribuir para a manutenção de concentrações glicêmicas elevadas no período pós-desafio, agravando a desregulação da homeostase glicêmica observada em animais com SME [31].

Em relação ao perfil lipídico, as concentrações séricas de triglicerídeos não diferiram significativamente entre os grupos SME⁻ e SME⁺, embora o grupo SME⁺ tenha apresentado média estimada discretamente maior e maior dispersão dos valores. Esse padrão sugere maior variabilidade metabólica entre os animais com DI, possivelmente refletindo diferentes estágios de adaptação metabólica e graus variáveis de comprometimento da homeostase energética. Esse achado é consistente com a literatura,

que descreve os triglicerídeos como um parâmetro de comportamento heterogêneo em equinos com SME, influenciado por fatores como condição corporal, dieta, idade e balanço energético, e que não constitui critério diagnóstico primário quando comparado à hiperinsulinemia e à resposta glicêmica em testes dinâmicos [2, 20]. Estudos prévios também indicam que equinos resistentes à insulina podem manter concentrações de triglicerídeos dentro da faixa de normalidade, mesmo na presença de obesidade regional e hiperinsulinemia, enquanto em pôneis e raças predispostas à obesidade generalizada podem ocorrer elevações moderadas, possivelmente relacionadas ao aumento da lipólise e ao maior fluxo hepático de ácidos graxos livres [17, 32]. Esse comportamento reforça que alterações no metabolismo lipídico podem ocorrer de forma secundária e variável, não sendo necessariamente paralelas ao grau de DI. Assim, os resultados observados sugerem que as concentrações de triglicerídeos refletem o estado energético global e a variabilidade metabólica individual, mais do que a presença de SME de forma isolada, limitando sua utilidade como marcador metabólico sensível nessa condição.

Considerando que a DI representou o principal eixo metabólico alterado no grupo SME+, investigou-se sua relação com os desfechos reprodutivos. As análises baseadas no modelo GEE indicaram tendência de melhor desempenho reprodutivo em éguas metabolicamente saudáveis (SME-), com maiores probabilidades estimadas de ovulação, recuperação embrionária e sucesso reprodutivo, definido como a ocorrência de ovulação associada à recuperação embrionária no mesmo ciclo, quando comparadas às éguas classificadas como SME+. Embora essas diferenças não tenham atingido significância estatística, a direção e a magnitude dos efeitos observados são biologicamente plausíveis e sugerem impacto funcional da DI sobre a eficiência reprodutiva. Esses achados são consistentes com evidências que associam a hiperinsulinemia crônica a alterações na função ovariana, no ambiente uterino e na competência oocitária, possivelmente mediadas por alterações na sinalização insulinêmica, esteroidogênese e ambiente metabólico sistêmico, com efeitos potenciais sobre a fertilidade e a qualidade embrionária [2, 20].

A insulina atua como um importante sinal metabólico com efeitos sistêmicos e locais sobre a fisiologia reprodutiva. Em nível neuroendócrino, a DI pode interferir no eixo hipotálamo-hipófise-ovariano, modulando a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e alterando a dinâmica de liberação das gonadotrofinas. Essas

alterações podem comprometer a sincronização e a eficiência da resposta folicular, com impacto direto sobre a dinâmica folicular e a ocorrência da ovulação. Esses mecanismos são amplamente descritos em diferentes espécies e fornecem suporte fisiológico para efeitos semelhantes em equinos [33, 34].

No ovário, a hiperinsulinemia pode alterar o equilíbrio esteroidogênico e comprometer o desenvolvimento folicular, uma vez que tecidos reprodutivos expressam receptores de insulina e compartilham vias de sinalização com o sistema do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF). Evidências indicam que a hiperinsulinemia pode reduzir a responsividade das células da granulosa ao hormônio folículo estimulante (FSH), diminuir a expressão de enzimas-chave envolvidas na síntese de estradiol, como a aromatase (CYP19A1), e alterar o ambiente esteroidogênico intrafolicular. Essas alterações podem resultar em desenvolvimento folicular subótimo, comprometimento da competência oocitária e redução do potencial de fertilização e desenvolvimento embrionário. Adicionalmente, o aumento da produção de andrógenos pelas células da teca pode contribuir para um microambiente folicular desfavorável, reforçando o impacto negativo da desregulação metabólica sobre a função ovariana [11, 34, 35, 36].

Em conjunto, esses mecanismos sustentam a hipótese de que a DI, particularmente a hiperinsulinemia crônica, contribui para maior variabilidade reprodutiva e menor eficiência em éguas afetadas. Mesmo na ausência de diferenças estatisticamente significativas, o padrão observado sugere efeito fisiológico consistente com a literatura, indicando que a DI pode representar um fator limitante da eficiência reprodutiva em éguas doadoras de embriões. Esses achados destacam a importância da avaliação metabólica como componente integrante do manejo reprodutivo, especialmente em éguas com idade avançada ou obesidade, nas quais a prevalência de alterações metabólicas é maior [17, 37, 38].

Além dos efeitos ovarianos, a hiperinsulinemia frequentemente coexiste com um estado inflamatório crônico de baixo grau associado ao tecido adiposo, caracterizado pela liberação de citocinas e adipocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6. Esse estado inflamatório sistêmico pode exercer efeitos diretos e indiretos sobre o ambiente uterino, comprometendo a perfusão endometrial, a função glandular e o equilíbrio imunológico local, fatores essenciais para a receptividade uterina e o estabelecimento da gestação

inicial. Esses mediadores inflamatórios podem alterar a regulação da resposta imune endometrial e prejudicar a interação materno-embrionária, aumentando a probabilidade de falhas reprodutivas precoces, mesmo na ausência de alterações clínicas evidentes. Embora parte dessas evidências derive de modelos experimentais e translacionais, os mecanismos descritos são compatíveis com a fisiopatologia da disfunção metabólica observada em equinos e fornecem suporte biológico para os achados observados neste estudo [2]. Nesse contexto, a tendência de maior eficiência reprodutiva em éguas SME– pode refletir um ambiente endócrino e inflamatório mais favorável ao desenvolvimento folicular, à fertilização e à manutenção embrionária inicial.

Quanto aos desfechos embrionários, a média de embriões produzidos por ciclo foi numericamente menor em éguas com SME, com redução estimada de 18%, embora sem significância estatística. Apesar da ausência de significância estatística, a amplitude dessa diferença pode ainda apresentar relevância biológica, particularmente considerando os efeitos multifatoriais da DI sobre a fisiologia reprodutiva, sugerindo possível impacto sobre a eficiência embrionária. De forma semelhante, a distribuição da qualidade embrionária foi comparável entre os grupos, com predomínio de embriões Grau 1, ainda que com discreta redução proporcional no grupo SME+. Esse padrão sugere que a avaliação morfológica embrionária isolada pode não refletir plenamente alterações funcionais associadas à competência embrionária, uma vez que embriões morfolologicamente normais podem apresentar alterações metabólicas ou moleculares subjacentes. Esses achados são consistentes com evidências que indicam que alterações metabólicas subclínicas podem comprometer o ambiente folicular e uterino sem necessariamente produzir diferenças detectáveis na avaliação morfológica inicial [2, 37].

Em éguas obesas ou com DI, alterações na expressão gênica e na sinalização de vias metabólicas em células da granulosa e do cúmulus podem modificar o microambiente folicular e comprometer a competência oocitária. Essas alterações incluem desregulação de genes envolvidos no metabolismo energético, no controle do estresse oxidativo e na comunicação parácrina entre oócito e células somáticas de suporte, processos fundamentais para a aquisição da competência oocitária. Como consequência, podem ocorrer alterações funcionais, como menor disponibilidade de substratos energéticos, comprometimento da função mitocondrial e desequilíbrio da homeostase metabólica intrafolicular. Esses fatores podem afetar eventos críticos, como a retomada da meiose, a

2009 maturação citoplasmática e o suporte metabólico necessário para o desenvolvimento
2010 embrionário inicial, contribuindo para redução da eficiência reprodutiva observada em
2011 animais metabolicamente comprometidos [38].

2012

2013 Em éguas férteis, a maioria dos embriões recuperados após lavagem uterina
2014 apresenta morfologia classificada como Grau 1 (excelente), enquanto embriões de menor
2015 qualidade ocorrem com menor frequência. Estudos avaliando programas de transferência
2016 embrionária demonstram que aproximadamente 70–80% dos embriões recuperados são
2017 classificados como Grau 1, cerca de 15–20% como Grau 2 e apenas pequena proporção
2018 como Grau 3 ou inferior [12]. Esses achados indicam que, em condições fisiológicas
2019 adequadas, o desenvolvimento embrionário inicial na espécie equina tende a produzir
2020 predominantemente embriões de alta qualidade morfológica. Além disso, embriões
2021 classificados como Grau 3 ou 4 apresentam menor viabilidade e menores taxas de prenhez
2022 após transferência, reforçando que embriões de melhor qualidade são os mais
2023 frequentemente observados e os mais relevantes para o sucesso reprodutivo [39]. No
2024 presente estudo, embora a distribuição geral da qualidade embrionária tenha sido
2025 semelhante entre os grupos, embriões classificados como Grau 4 foram observados
2026 exclusivamente em éguas com SME, sugerindo que alterações metabólicas associadas à
2027 síndrome podem afetar, ainda que de forma discreta, a qualidade embrionária e os
2028 processos iniciais do desenvolvimento embrionário.

2029

2030 Adicionalmente, a hiperinsulinemia persistente tem sido associada ao aumento do
2031 estresse oxidativo no ambiente folicular, com maior geração de espécies reativas de
2032 oxigênio (EROs) e redução relativa da capacidade antioxidante local. Esse desequilíbrio
2033 favorece dano oxidativo a lipídios, proteínas e ao DNA da mitocôndria, comprometendo
2034 a função mitocondrial, essencial para a produção de ATP por fosforilação oxidativa
2035 durante a maturação oocitária e o período pré-implantacional. A disfunção mitocondrial
2036 pode reduzir a eficiência bioenergética do oócito e do embrião inicial e afetar eventos
2037 críticos, incluindo organização do fuso meiótico, integridade celular e estabilidade
2038 metabólica nas primeiras divisões embrionárias [38, 40]. Esses mecanismos oferecem
2039 suporte para a tendência observada de menor produção embrionária em éguas com SME,
2040 sugerindo que parte do impacto reprodutivo ocorra em nível funcional e bioenergético,
2041 sem necessariamente se refletir em alterações morfológicas evidentes nas avaliações
2042 convencionais

Nesse contexto, a predominância de embriões Grau 1 em ambos os grupos reforça que a classificação morfológica embrionária, embora amplamente utilizada na prática clínica, pode não refletir completamente a competência embrionária, uma vez que alterações funcionais, metabólicas e transcriptômicas podem ocorrer mesmo na ausência de alterações morfológicas detectáveis [41, 42]. Em conjunto, os resultados sugerem que a SME pode estar associada a alterações reprodutivas sutis, particularmente em desfechos relacionados à ovulação e ao desempenho embrionário.

Em relação à avaliação do grau de edema uterino, observou-se associação positiva com a recuperação embrionária, indicando que maiores escores estiveram relacionados a maior probabilidade de sucesso nesse desfecho. Esse resultado é fisiologicamente consistente, uma vez que o edema uterino reflete a ação estrogênica sobre o endométrio e se associa a maior receptividade uterina, incluindo aumento da vascularização, da permeabilidade capilar e da atividade secretória endometrial, fatores relevantes para a fertilização e o transporte embrionário inicial [1, 43]. Além disso, o ambiente uterino periovulatório desempenha papel determinante na nutrição embrionária inicial, na modulação imunológica local e na manutenção do embrião nos primeiros dias pós-ovulação [44, 45].

A associação positiva observada entre o grau de edema uterino e a recuperação embrionária pode refletir não apenas alterações uterinas locais, mas também aspectos da dinâmica folicular e da qualidade do ambiente intrafolicular. Durante o crescimento do folículo dominante na égua, ocorre aumento progressivo da atividade esteroidogênica das células da granulosa, resultando em elevação das concentrações de estradiol circulante, hormônio responsável por induzir alterações hemodinâmicas e secretórias no endométrio que se manifestam ultrassonograficamente como edema uterino característico do estro [1, 43]. A intensidade desse edema tem sido utilizada como indicador indireto da atividade estrogênica folicular e do estágio periovulatório em éguas [46]. Paralelamente, o ambiente intrafolicular exerce papel central na aquisição da competência oocitária, regulando processos fundamentais como maturação nuclear e citoplasmática, acúmulo de RNAs maternos e manutenção da integridade da cromatina e do DNA do oócito [47, 48, 49]. Folículos com adequada função das células da granulosa e maior atividade esteroidogênica apresentam ambiente metabólico e molecular mais favorável à

comunicação cúmulo-oócito, resultando na produção de oócitos com maior competência para fertilização e desenvolvimento embrionário inicial [49]. Nesse contexto, o edema uterino observado no período periovulatório pode representar um marcador fisiológico indireto da funcionalidade do folículo pré-ovulatório e da qualidade do ambiente folicular, refletindo condições endócrinas favoráveis tanto à maturação oocitária quanto aos eventos iniciais da fertilização e do desenvolvimento embrionário em éguas.

Embora o aumento do grau de edema uterino tenha sido acompanhado por maior probabilidade estimada de ovulação, essa associação não atingiu significância estatística. Esse achado está de acordo com a literatura, na qual o edema uterino, apesar de depender da estimulação estrogênica, não constitui preditor direto de ovulação, evento determinado predominantemente pela dinâmica do eixo hipotálamo–hipófise–ovário e pelo aumento pré-ovulatório do hormônio luteinizante (LH) [46].

Adicionalmente, embora não tenha havido diferença estatística entre os grupos, as éguas SME– apresentaram consistentemente maiores probabilidades ajustadas de ovulação e recuperação embrionária em todos os graus de edema avaliados. Esse padrão sugere que o estado metabólico possa modular a eficiência funcional do endométrio, mesmo quando a resposta estrogênica aparente é semelhante. Evidências indicam que distúrbios metabólicos, como resistência à insulina e hiperinsulinemia crônica, podem interferir em mecanismos endócrinos e locais envolvidos na receptividade uterina, contribuindo para alterações reprodutivas subclínicas [20, 37, 50]. Dessa forma, o edema uterino constitui marcador funcional associado à probabilidade de recuperação embrionária, mas sua interpretação deve ser integrada ao estado metabólico da fêmea.

A ausência de diferença significativa quanto à presença de líquido uterino entre os grupos indica que, nesta amostra, não foram identificadas alterações uterinas clínicas evidentes associadas à classificação metabólica. Esse achado sugere que eventuais impactos da SME sobre a eficiência reprodutiva possam estar mais relacionados a mecanismos sistêmicos metabólicos e endócrinos do que a manifestações uterinas detectáveis por avaliações ginecológicas convencionais. Essa interpretação é compatível com evidências que descrevem a SME e endocrinopatias associadas como condições capazes de promover alterações reprodutivas potencialmente subclínicas e nem sempre identificáveis por métodos diagnósticos rotineiros [20, 50].

2111

2112 Por fim, a avaliação das concentrações plasmáticas de ACTH foi incluída como
2113 etapa essencial para exclusão diagnóstica da PPID, endocrinopatia prevalente em equinos
2114 idosos e frequentemente associada a alterações metabólicas que podem se sobrepor às
2115 observadas na SME [2, 50]. A confirmação de que todas as éguas apresentaram ACTH
2116 dentro do intervalo de referência para o período invernal conferiu maior robustez à
2117 interpretação dos resultados, ao minimizar a influência de distúrbios endócrinos
2118 concomitantes.

2119

2120 A PPID pode estar associada à hiperinsulinemia secundária, alterações na
2121 homeostase glicêmica e aumento do risco de laminite, configurando potencial fator de
2122 confusão em estudos voltados à avaliação do metabolismo energético e da resistência à
2123 insulina em equinos [22, 51, 52]. Embora seus efeitos diretos sobre a função reprodutiva
2124 não estejam completamente elucidados, alterações endócrinas sistêmicas decorrentes da
2125 disfunção hipofisária podem influenciar indiretamente o eixo reprodutivo,
2126 particularmente em éguas senescentes [9, 53]. Nesse contexto, a presença concomitante
2127 de PPID pode dificultar a distinção entre alterações metabólicas associadas à SME,
2128 obesidade ou disfunções hipofisárias subjacentes. Adicionalmente, o diagnóstico dessa
2129 endocrinopatia em países de clima tropical, incluindo o Brasil, apresenta limitações
2130 importantes devido à variabilidade sazonal das concentrações plasmáticas de ACTH e à
2131 escassez de intervalos de referência regionais amplamente validados. Essas limitações
2132 devem ser consideradas na interpretação de resultados metabólicos e endócrinos em
2133 equinos idosos, podendo representar um fator limitante na avaliação integrada entre
2134 metabolismo energético e função reprodutiva [22, 52].

2135

2136 Dessa forma, os resultados contribuem para consolidar o entendimento de que
2137 alterações metabólicas observadas em éguas idosas doadoras de embriões se associam
2138 principalmente à disfunção dos eixos glicêmico e insulinêmico, com potenciais
2139 repercussões reprodutivas subclínicas.

2140

2141 Estudos futuros que avaliem separadamente éguas acometidas por SME e por
2142 PPID poderão contribuir para a identificação de diferenças metabólicas e endócrinas
2143 específicas entre essas condições. A caracterização mais precisa desses perfis
2144 fisiopatológicos poderá facilitar a distinção diagnóstica entre as duas endocrinopatias,

particularmente em animais idosos, nos quais sinais clínicos e alterações metabólicas frequentemente se sobrepõem. Além disso, essa abordagem poderá aprimorar a acurácia diagnóstica e subsidiar estratégias mais adequadas de manejo clínico e reprodutivo na espécie equina.

5. CONCLUSÃO

O grau de edema uterino mostrou-se positivamente associado à recuperação embrionária, reforçando sua relevância como marcador da funcionalidade do folículo pré-ovulatório, da qualidade do ambiente folicular e do ambiente uterino periovulatório. Embora não tenham sido observadas associações estatisticamente significativas entre SME e os principais desfechos reprodutivos avaliados, verificou-se tendência consistente de melhores probabilidades estimadas de ovulação e recuperação embrionária em éguas metabolicamente saudáveis. Em conjunto, os resultados indicam que a SME em éguas idosas pode impactar o metabolismo de forma evidente e estar relacionada a efeitos reprodutivos sutis, destacando a importância do monitoramento metabólico e do manejo reprodutivo individualizado nessa categoria.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil (código de financiamento 001).

CONFLITO DE INTERESSES

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERÊNCIAS

- [1] Ginther OJ. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. 2nd ed. Madison (WI): Equiservices Publishing; 1992.
- [2] Frank N, Geor RJ, Bailey SR, Durham AE, Johnson PJ. Equine metabolic syndrome. *J Vet Intern Med.* 2010; 24: 467–475.

- 2175 [3] Ireland JL, McElroy SL, Davies Morel MCG. Reproductive ageing in mares:
2176 implications for fertility and assisted reproduction. *Theriogenology*. 2018; 109 :1–8.
- 2177 [4] Carnevale EM, Ginther OJ. Relationships of age to uterine function and reproductive
2178 efficiency in mares. *Theriogenology*. 1992; 37:1101–1115.
- 2179 [5] Carnevale EM, Bergfelt DR, Ginther OJ. Aging effects on follicular activity and
2180 hormone concentrations in mares. *Biol Reprod*. 1993; 49:813–820.
- 2181 [6] Losinno L, Aguero A, Lamboglia M. Factors affecting embryo production in an
2182 equine embryo transfer program. *Theriogenology*. 2000; 54:1233–1242.
- 2183 [7] Secombe CJ, Lester GD, Perkins NR, Lester NV. Prevalence and risk factors for
2184 equine metabolic syndrome in horses. *Aust Vet J*. 2018; 96:254–260.
- 2185 [8] Ribeiro BI, McElroy SL, Lopes EP, Ireland JL. Insulin dysregulation and reproductive
2186 performance in mares. *Animals (Basel)*. 2020; 10:1–15.
- 2187 [9] Ginther OJ. Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. Cross Plains
2188 (WI): Equiservices Publishing; 1995.
- 2189 [10] Squires EL, McCue PM, Vanderwall D. Reproductive management of mares. *J*
2190 *Equine Vet Sci*. 1988; 8:74–79.
- 2191 [11] McCue PM. Equine embryo transfer. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2019; 35:1–
2192 16.
- 2193 [12] McKinnon AO, Squires EL. Equine embryo transfer. *Vet Clin North Am Equine*
2194 *Pract*. 1988; 4:305–333.
- 2195 [13] Speirs VC. Clinical examination of horses. Philadelphia (PA): Saunders; 1999.
- 2196 [14] Carroll CL, Huntington PJ. Body condition scoring and weight estimation of horses.
2197 *Equine Vet J*. 1988; 20:41–45.
- 2198 [15] Wagner EL, Tyler PJ. A comparison of weight estimation methods in adult horses.
2199 *J Equine Vet Sci*. 2011; 31:706–710.
- 2200 [16] Henneke DR, Potter GD, Kreider JL, Yeates BF. Relationship between condition
2201 score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Vet J*. 1983;
2202 15:371–372.
- 2203 [17] Carter RA, Geor RJ, Staniar WB, Cubitt TA, Harris PA. Apparent adiposity assessed
2204 by neck circumference and cresty neck score is associated with insulin resistance in
2205 horses. *Vet J*. 2009; 179:278–284.
- 2206 [18] Equine Endocrinology Group (EEG). Recommendations for diagnosis and
2207 management of equine metabolic syndrome and PPID. Consensus guidelines; 2024.

- 2208 [19] Trindade PHC, et al. Comparative evaluation of corn syrups used in oral sugar tests
2209 in horses in Brazil. *J Equine Vet Sci.* 2022; 108:103787.
- 2210 [20] Durham AE, Frank N, McElroy SL, et al. Recommendations for the diagnosis and
2211 treatment of equine metabolic syndrome. *Equine Vet J.* 2019; 51:9–20.
- 2212 [21] Beech J, McClure S, Lindborg S. Seasonal variation of plasma ACTH concentration
2213 in horses. *J Vet Intern Med.* 2009; 23:121–127.
- 2214 [22] McGowan TW, Pinchbeck GL, McCutcheon LJ, et al. Equine pituitary pars
2215 intermedia dysfunction: consensus guidelines. *Equine Vet J.* 2013; 45:406–413.
- 2216 [23] Copas VE, Durham AE. Seasonal variation in plasma ACTH concentrations in
2217 horses. *Vet Rec.* 2012; 170:484.
- 2218 [24] R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R
2219 Foundation for Statistical Computing; 2024.
- 2220 [25] Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality. *Biometrika.* 1965;
2221 52:591–611.
- 2222 [26] Student. The probable error of a mean. *Biometrika.* 1908; 6:1–25.
- 2223 [27] Mann HB, Whitney DR. On a test of whether one of two random variables is
2224 stochastically larger than the other. *Ann Math Stat.* 1947; 18:50–60.
- 2225 [28] Fisher RA. On the interpretation of χ^2 from contingency tables. *J R Stat Soc.* 1922;
2226 85:87–94.
- 2227 [29] Liang KY, Zeger SL. Longitudinal data analysis using generalized linear models.
2228 *Biometrika.* 1986; 73:13–22.
- 2229 [30] McCullagh P, Nelder JA. Generalized linear models. 2nd ed. London: Chapman &
2230 Hall; 1989.
- 2231 [31] Treiber KH, Kronfeld DS, Hess TM, et al. Evaluation of genetic and metabolic
2232 predispositions to insulin resistance in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 2006; 228:1538–
2233 1547.
- 2234 [32] Bamford NJ, Potter SJ, Harris PA, Bailey SR. Breed differences in insulin sensitivity
2235 and insulin response to oral glucose in horses. *Equine Vet J.* 2015; 47:377–382.
- 2236 [33] Dupont J, Scaramuzzi RJ, Reverchon M, et al. Metabolic signals and reproduction.
2237 *Reproduction.* 2014;148: R1–R19.
- 2238 [34] Burns TA. Insulin, insulin-like growth factors and ovarian function. *Reprod Domest*
2239 *Anim.* 2016; 51:53–60.
- 2240 [35] Webb R, Nicholas B, Gong JG, et al. Mechanisms regulating follicular development.
2241 *J Reprod Fertil Suppl.* 2004; 61:85–97.

- 2242 [36] Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Downing JA, et al. The role of insulin and IGFs in
2243 ovarian function. *Reproduction*. 2011; 142:427–439.
- 2244 [37] Sessions-Bresnahan DR, Carnevale EM. The effect of metabolic syndrome on
2245 reproduction in mares. *J Equine Vet Sci*. 2014; 34:364–370.
- 2246 [38] Sessions-Bresnahan DR, et al. Metabolic influences on oocyte competence in mares.
2247 *Theriogenology*. 2016; 86:139–146.
- 2248 [39] Carnevale EM, Ramirez RJ, Squires EL, Alvarenga MA, Vanderwall DK, McCue
2249 PM. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo
2250 transfer. *Theriogenology*. 2000; 54:965–979.
- 2251 [40] Valckx SDM, et al. Obesity and insulin resistance alter mitochondrial function in
2252 oocytes. *Fertil Steril*. 2014; 102:1164–1172.
- 2253 [41] Rizos D, et al. Embryo quality beyond morphology. *Reproduction*. 2012; 144:611–
2254 624.
- 2255 [42] Carnevale EM. The mare model for follicular aging and assisted reproduction.
2256 *Theriogenology*. 2016; 86:282–291.
- 2257 [43] Samper JC. Equine breeding management and artificial insemination. 2nd ed. St.
2258 Louis (MO): Saunders; 2009.
- 2259 [44] Klein C, Troedsson MHT. Uterine function and early embryo development in the
2260 mare. *Reprod Domest Anim*. 2011; 46:224–231.
- 2261 [45] Watson ED, et al. Endometrial function in the mare. *Anim Reprod Sci*. 2012; 134:88–
2262 94.
- 2263 [46] Ginther OJ. Ultrasonography of the reproductive tract of the mare: principles and
2264 practice. 3rd ed. Cross Plains (WI): Equiservices Publishing; 2016.
- 2265 [47] Sirard MA, Richard F, Blondin P, Robert C. Contribution of the oocyte to embryo
2266 quality. *Theriogenology*. 2006; 65:126–136.
- 2267 [48] Mihm M, Evans ACO. Mechanisms for dominant follicle selection in monovulatory
2268 species. *Reprod Domest Anim*. 2008;43(Suppl 2):48–56.
- 2269 [49] Lonergan P, Fair T. Maturation of oocytes in vitro. *Annu Rev Anim Biosci*. 2016;
2270 4:255–268.
- 2271 [50] McFarlane D. Equine pituitary pars intermedia dysfunction. *Vet Clin North Am*
2272 *Equine Pract*. 2011; 27:93–113.
- 2273 [51] Schott HC. Pituitary pars intermedia dysfunction in horses. *J Vet Intern Med*. 2002;
2274 16:117–123.

- 2275 [52] Durham AE, Frank N, McCue PM, et al. Pituitary pars intermedia dysfunction:
2276 diagnosis and treatment. *Equine Vet Educ*. 2014; 26:216–223.
- 2277 [53] Burns TA, et al. Endocrine interactions in aged mares. *Theriogenology*. 2017;
2278 100:38–44.

