

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA

**COMPORTAMENTO ESTRAL E OVARIECTOMIA
LAPAROSCÓPICA EM MULAS**

FÁBIO HENRIQUE BEZERRA XIMENES

BOTUCATU, SP

Março - 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA

**COMPORTAMENTO ESTRAL E OVARIECTOMIA
LAPAROSCÓPICA EM MULAS**

FÁBIO HENRIQUE BEZERRA XIMENES

Tese apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia
Animal para obtenção do título de
Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Celso Antônio
Rodrigues

BOTUCATU- SP
Março – 2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Ximenes, Fábio Henrique Bezerra.

Comportamento estral e ovariectomia laparoscópica em
mulas / Fábio Henrique Bezerra Ximenes. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Celso Antônio Rodrigues

Capes: 50501020

1. Muar - Reprodução. 2. Ovariectomia. 3. Laparoscopia.
4. Animais - Comportamento. 4. Etologia.

Palavras-chave: Etologia; Laparoscopia; Muares;
Reprodução; Videolaparoscopia.

Nome do Autor: Fábio Henrique Bezerra Ximenes

Título: Comportamento estral e ovariectomia laparoscópica em mulas

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Celso Antônio Rodrigues

Orientador

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ-UNESP-Botucatu

Prof. Dr. Cezinande de Meira

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ-UNESP-Botucatu

Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

Membro

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ-UNESP-Botucatu

Profa. Dra. Paula Alessandra Di Filippo

Membro

Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias

LSA-CCTA-UENF-Campos dos Goytacazes

Prof. Dr. Luis Cláudio Lopes Correia da Silva

Membro

Departamento de Cirurgia

FMVZ-USP-São Paulo

Data da defesa: 02 de março de 2018.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por me dar força para encarar os desafios diários.

Aos meus pais Nonato e Francisca, por sempre me ensinarem o caminho do bem e que tudo na vida vem após muita luta e dedicação.

Ao meu filho Pedro Henrique, que apesar da distância foi um grande incentivo para os momentos difíceis.

Ao meu grande amigo e companheiro Fabrício da Silva, pela ajuda e todo apoio necessário para chegar até aqui.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Celso Antônio Rodrigues, pela amizade, por acreditar na minha capacidade e não medir esforços para a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Cezinande de Meira pelos ensinamentos e amizade.

Ao professor Dr. Rogério Antônio de Oliveira pela análise estatística e paciência em sanar minhas dúvidas.

Ao Instituto de Física de São Carlos – USP, em especial ao Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato, Thiago Balan Moretti e demais pesquisadores do CEPOF.

Aos amigos que fiz em Botucatu, em especial Thiago Yukio Nitta, José Ricardo Barbosa, Luciana França Smith Maciel e Viviane Codognoto por me ajudarem em tudo e me substituírem quando ausente.

A Universidade de Brasília – UnB por me conceder a licença para realização do curso de Doutorado, em especial a Profa. Dra. Simone Perecmanis e Prof. Dr. José Renato Junqueira Borges.

Aos Proprietários dos animais que gentilmente os emprestaram para a realização deste trabalho: Dr. Fábio de Salles Meirelles e Sra Ângela (Fazenda São Bento, Cabeceira Grande – MG), Dr. João Domingos e Dr. Erasmo Leles (Fazenda São Domingos, Luziânia – GO), Sr. José Canisio Maldaner e Dra. Tânia Luiza Maldaner (Fazenda Maldaner, Brasília – DF), Dra. Mariana Herman

(Criatório Campeões da Gameleira, Itapetininga – SP) e Sr Wagner Castro Conceição (Botucatu – SP). Muito obrigado pela consideração e confiança, sem vocês esse trabalho não teria início.

Ao professor Carlos Alberto Hussni e a Dra Juliana de Moura Alonso, pelo empréstimo do equipamento de laparoscopia, auxílio e ensinamentos durante o experimento.

Aos demais professores do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária e Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária pelos ensinamentos.

A todos os funcionários do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária e departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária pela agradável convivência e auxílio, em especial para Clotilde Gonçalves e Paulo Bonar por toda dedicação e disponibilidade durante este trabalho.

A UNESP, Campus Botucatu e ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal, por todos os momentos de grande aprendizado.

A FAPESP pela concessão de auxílio para o desenvolvimento da pesquisa (Processo: 2016/20066-4).

Enfim, a todos que contribuíram para o sucesso deste trabalho e tornaram de alguma forma meus dias melhores.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Análise de correlação linear da manifestação dos eventos de comportamento relacionados ao estro, correlação de Spearman (n=41)	48
Tabela 2	Média da frequência de manifestação dos eventos do estro	49

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1	Vista lateral e dorsal do aparelho reprodutivo da égua	18
Figura 2	Arteriografia ovariana da égua	18
Figura 3	Equipamento e instrumental de videolaparoscopia	22

Capítulo 2

Figura 1A	Apreensão do ovário com pinça laparoscópica	41
Figura 1B	Bloqueio do pedículo ovariano	41
Figura 1C	Corte e hemostasia com bisturi ultrassônico	41
Figura 1D	Aplicação do grampo de titânio	41

Capítulo 3

Figura 1	Montagem do cariótipo de uma mula do grupo experimental evidenciando n = 63	45
Figura 2	Modelo mimetizando área de rufiação das mulas	46
Figura 3	Características de comportamento durante o estro de mulas. A: abaixamento das orelhas; B: aproximação do macho; C: Movimentação dos lábios vulvares e	46

exposição do clitóris; D: Elevação da cauda; E: movimentos mastigatórios; F: micção frequente.

Figura 4	Média da frequência de manifestação de eventos de comportamento reprodutivo durante o estro. (n=41)	49
Figura 4	Visualização e fixação do ovário da mula e estruturas adjacentes	54
Figura 5	Extremidade da pipeta e bloqueio do pedículo ovariano	54
Figura 6	Corte e hemostasia com uso do bisturi ultrassônico	54
Figura 7	Hemorragia e hemostasia da artéria ovariana	55
Figura 8	Aplicação de cliques de titânio	55
Figura 9	Ovário para retirada por ampliação do acesso ventral	55
Figura 10	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de pH do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	56
Figura 11	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de densidade do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	56
Figura 12	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de proteína total (PT) do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	56

Figura 13	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de fibrinogênio do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	57
Figura 14	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de glicose do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	57
Figura 15	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de hemácias do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	57
Figura 16	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de células nucleadas do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	58
Figura 17	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de neutrófilos segmentados do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	58
Figura 18	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de macrófagos do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	58
Figura 19	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de linfócito do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	59
Figura 20	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de eosinófilos do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	59

Figura 21	Gráfico ilustrando o comportamento os valores de células mesoteliais reativas do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.	59
Figura 22	Líquido peritoneal 24 horas pós-operatório (objetiva de 100x).	60
Figura 23	Líquido peritoneal 7 dias pós-operatório (objetiva de 100x).	60
Figura 24	Líquido peritoneal 30 dias pós-operatório (objetiva de 100x).	60
Figura 25	Líquido peritoneal 60 dias pós-operatório (objetiva de 100x).	61
Figura 26	Líquido peritoneal 60 dias pós-operatório (objetiva de 100x).	61

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AM – Aproximação do macho

AO – Abaixar de orelhas

CEUA – Comitê de ética no uso de animais

CL – Corpo lúteo

E2 – Estradiol

FMVZ – Faculdade de medicina veterinária e zootecnia

IM – Imobilidade

LC - Levantamento da cauda

MF – Micção frequente

MM – Movimentos mastigatórios

MV – Movimentação dos lábios vulvares e exposição do clitóris

n – Número

p – Probabilidade

P4 – Progesterona

r^2 - Coeficiente de determinação

UNESP – Universidade Estadual Paulista – Júlio de Mesquita Filho

< - menor

> - maior

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
CAPÍTULO 1	16
1-INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	16
2- REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1- Anatomia do trato reprodutivo	17
2.2- Comportamento reprodutivo	19
2.3- Dinâmica folicular	20
2.4- Videocirurgia	21
2.5- Ovariectomia	24
2.6- Citologia do Líquido peritoneal	26
3-REFERÊNCIAS	27
 CAPÍTULO 2	 34
Artigo Científico I	34
CAPÍTULO 3	42
Artigo Científico II	42
ANEXOS	53
Anexo I	53
Anexo II	54

RESUMO

XIMENES, F.H.B. **Comportamento estral e ovariectomia laparoscópica em mulas**. Botucatu (2017), 61 p. Defesa de tese apresentada a Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária.

O comportamento das mulas, durante o estro, influencia negativamente sua função zootécnica. A ovariectomia tem se apresentado como forma de torná-las mais cooperativas. Procedimentos realizados por videocirurgia se apresentam com uma possibilidade para reduzir as complicações trans e pós-operatórias. Então, foram utilizadas 9 mulas, com idade de $7,9 \pm 3,2$ anos, pesando 352 ± 76 kg. Realizou-se estudo do comportamento reprodutivo dos animais durante a rufiação com garanhão equino, nas diferentes fases do ciclo estral. A duração do estro foi de $6,4 \pm 1,4$ dias. As ovulações ocorreram $5,3 \pm 2,6$ dias após o início dos sinais de estro. Os sinais que apresentaram maior correlação foram micção frequente (MF) e levantamento da cauda (LC) (0,79) e imobilidade (IM) e LC (0,76) enquanto que os que apresentaram menor correlação foram aproximação do macho (AM) e LC (0,26) e AM e MF (0,29). Posteriormente foi realizada a ovariectomia por videolaparoscopia e no pós-operatório foi realizado o acompanhamento clínico-laboratorial para caracterizar possíveis complicações da técnica. Para hemostasia dos vasos presentes no pedículo ovariano utilizou-se no grupo A um bisturi ultrassônico e no grupo B um aplicador de clips de laqueação de titânio. Observou-se que o grau de dificuldade da ovariectomia foi inversamente proporcional ao tamanho do ovário. O enfisema subcutâneo foi a complicação pós-operatória mais evidente, sendo observada em todo grupo (9/9), e o hemoperitônio foi considerado a complicação mais grave (1/9). Não houve diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre os grupos A e B. Após o procedimento cirúrgico os animais passaram por um período de descanso de 30 dias e foram submetidos à rufiação conforme modelo proposto por no mínimo 60 dias. Apenas 1 (1/9) animal apresentou sinal comportamentais compatíveis com

estro, porém ocorreu em um único dia e não houve repetição. As demais mulas não apresentaram mais nenhum sinal de estro durante o período estudado.

Palavras-chave: etologia, reprodução de mulas, ciclo estral, vídeocirurgia, castração

ABSTRACT

XIMENES, F.H.B. *Estrous behavior and laparoscopic ovariectomy in mules* [Comportamento estral e ovariectomia laparoscópica em mulas]. Botucatu (2017), 61 p. Tese apresentada a Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária.

The mules' behavior influences their zootechnical function negatively during the estrus. Ovariectomy is an interesting way to make these animals more cooperative. Videosurgic procedures has become a possibility to reduce operative and postoperative complications. Nine mules underwent the procedure and were followed from January to May 2017. The average age of the animals was $7,9 \pm 3,2$ years old and the weight approximately 352 ± 76 kg. A prospective evaluation of reproductive behavior was set during the ruffling of the stallion equine, along different phases of the estrus. Estrus length was $6,4 \pm 1,4$ days. Ovulation occurred 5.3 ± 2.6 days after the onset of estrus signs. The signs that presented the highest correlation were frequent micturition (MF) with tail lifting (LC) (0,79) and immobility with just LC (0,76). The least correlations were male approximation (AM) with LC and AM with MF. Subsequently, video-laparoscopic ovariectomy was performed. In post-operative days, clinical follow up and laboratory assay were performed to detect possible complications. Two groups were randomly selected for ultrasonic scalpel (group A) and titanium clips (group B) aiming the hemostasis of the vascular pedicle on the ovaries. The difficulty of the procedure was greater as smaller the ovary was. Some complications were observed. Subcutaneous emphysema was found in all mules studied, possibly caused by CO₂ blowing. On the other hand, hemo-peritoneum was uncommon (just one animal developed this phenomenon) but the most severe complication. No statistical differences were observed between groups A and B. After the surgery, the animals remained in rest for thirty days. The mules underwent ruffling

for at least sixty days. Only one animal showed estrus behavior, but during just one day. All the other mules haven't presented any estrus sign during the study.

Key-words: Ethology, mules' reproduction, estrus cycle, Videosurgery, castration

Capítulo 1

1.Introdução e Justificativa

Segundo dados do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013), o Brasil possui o maior rebanho de equinos da América Latina e o terceiro maior rebanho mundial. Somados aos muares e asininos são 8 milhões de cabeças, movimentando R\$ 7,3 bilhões (MAPA, 2013).

São denominadas mulas, fêmeas híbridas provenientes do cruzamento entre o macho asinino (*Equus asinus* – $2n = 62$) e a fêmea equina (*Equus caballus* – $2n = 64$), apresentam $2n = 63$ e são animais considerados estéreis, porém podem apresentar ciclos estrais com atividade ovariana e produção hormonal (ARAÚJO e MOYA ARAÚJO, 2015).

Historicamente os muares apresentam uma grande importância econômica para o país, com sua função no manejo diário de propriedades rurais e em cavalgadas ou provas que avaliam seu andamento e conformação. Recentemente, foi comprovado o uso das fêmeas (mulas) como receptoras de embriões de equinos e asininos (GONZÁLEZ et al, 2015).

O comportamento e a manifestação sexual dos muares são demonstrados nos animais não castrados com maior intensidade quando comparado às espécies equina e asinina, tornando estes híbridos animais irascíveis e de perigoso manejo. Apesar disso, as mulas apresentam graves alterações de comportamento, principalmente durante o estro. Nas fêmeas são frequentes os casos de ninfomania e intensificação da manifestação do cio, advindo daí a prática da castração sistemática (HERMSDORFF, 1956).

A ovariectomia, dentre outras indicações, é recomendada para inibição do estro e manipulação hormonal do ciclo estral, favorecendo o convívio em grupo e melhorando o desempenho do animal na lida ou tração (SILVA et al., 2007).

Em equinos, fêmeas submetidas à ovariectomia desenvolvem características fenotípicas masculinas e melhor desempenho no trabalho diário do que aquelas não ovariectomizadas (SILVA et al., 1998).

Várias técnicas cirúrgicas são empregadas na esterilização de fêmeas equídeas, podendo o ovário ser acessado por colpotomia, laparotomia

paramediana, celiotomia ou paralombar (SILVA et al., 2007; AZIZ et al., 2008; LEE e HENDRICKSON, 2008). Além disso, a prática da cirurgia minimamente invasiva, com uso da laparoscopia vem ganhando um campo de atuação importante na medicina veterinária, porém exige treinamento e criação ou adaptação de instrumentais oriundos de tecnologia nacional que permitam uma abordagem precisa em animais de grande porte. Existe escassez de informações e estudos relacionados aos muares, muitas vezes justificados pela dificuldade de manejo que estes animais apresentam.

Godderidge et al (2017) ressaltam que embora as mulas possam ser como um cavalo ou um jumento em muitas áreas, são únicas em outros, sendo muitas vezes negligenciadas nas pesquisas.

Tendo em vista a ética envolvendo o bem-estar animal, associado à aplicação de técnicas minimamente invasivas, com vista ao retorno precoce das funções, tem sido proposta a utilização da laparoscopia como uma abordagem cirúrgica a ser considerada (SILVA et al., 1997; FIALHO et al., 2001; ALFORD; HANSON, 2010).

O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento reprodutivo de mulas, realizar ovariectomia das mesmas através de videolaparoscopia e verificar se a técnica utilizada seria eficiente para suprimir o comportamento de estro.

2.Revisão de literatura

2.1. Anatomia do trato reprodutivo

Assim como nas éguas, as mulas apresentam o trato reprodutivo composto por 2 ovários, 2 cornos uterinos, corpo do útero, cérvix, vagina e vulva. Alguns autores consideram também a glândula mamária como parte do sistema reprodutivo (Fig. 1)

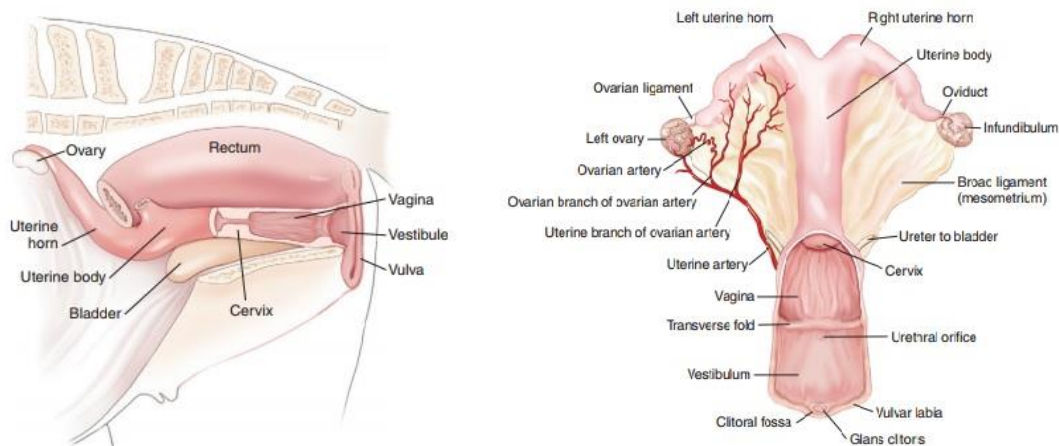


Figura 1. Vista lateral (A) e dorsal (B) do aparelho reprodutivo da égua e estruturas adjacentes (BRINSKO, S.P. et al., 2011)

Bilateralmente os ovários, as tubas uterinas e o útero são suspensos por dobras peritoneais de camada dupla que formam o ligamento largo, divididas em três porções anatômicas, denominadas mesovário, mesosalpinge e mesométrio (Fig. 1). Os ligamentos fornecem estrutura para passagem de artérias, veias, vasos linfáticos e nervos. A artéria ovárica é única, com trajeto sinuoso e espiralada. Um ramo da veia uterina acompanha a formação da artéria ovárica (Fig. 2) (NORONHA et al, 2006).

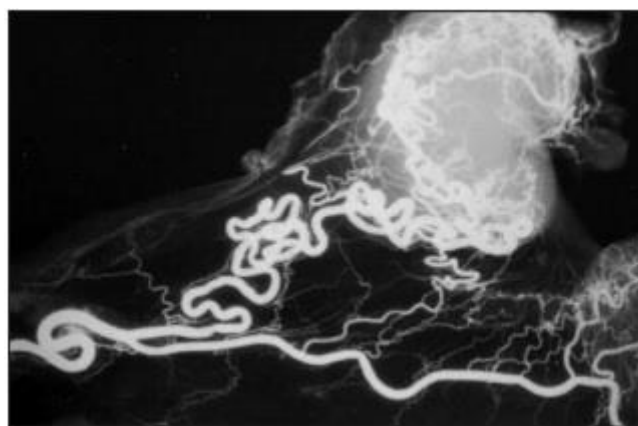


Figura 2. Arteriografia ovariana da égua (NORONHA et al, 2006).

2.2. Comportamento reprodutivo

O comportamento de identificação de éguas em estro ou não é arbitrariamente agrupado em três categorias: atratividade, proceptividade (favoritismo) e receptividade (BEACH, 1976). A primeira refere-se aos estímulos que a égua produz para estimular resposta sexuais do garanhão, a segunda refere-se aos comportamentos demonstrados pela égua em relação aos estímulos recebidos do garanhão e a terceira refere-se ao comportamento da égua que facilita a copulação com o garanhão (CROWELL-DAVIS, 2007).

Segundo Ker (2013), as características sexuais das éguas são diferentes das jumentas. As jumentas apresentam como característica da espécie a participação ativa e procura pelo macho de forma incisiva quando estão receptivas. Além de permitirem a corte, se apresentam e chegam pelo contato direto a incitá-lo ao cortejo. Quando em cio, as jumentas apresentam comportamento de aproximação do macho, justaposição das orelhas junto ao pescoço, movimentos mastigatórios ou manter a boca aberta e vocalização. Algumas vezes podem elevar a cauda, realizar eversão dos lábios vulvares e micção, sinais estes comumente encontrados em éguas no estro (HENRY et al., 1998; McDONNELL, 1998).

Em éguas, as características de comportamento em estro são: eversão dos lábios vulvares e eversão do clitóris, micção passiva, arqueamento da pelve e flexão do joelho, deslocamento lateral da cauda expondo o períneo, vocalização, comportamento calmo perante o garanhão (McCUE, 2011; CANISSO, 2009).

Segundo González et al. (2015) o conhecimento reprodutivo sobre as mulas está vinculado com a infertilidade e ausência de atividade ovariana, porém é notável a dificuldade na obtenção de material científico relacionado ao trato reprodutivo.

Em duas mulas cíclicas utilizadas como receptoras de embriões, foram identificadas característica de comportamento de estro, que se aproximavam da espécie asinina, por exemplo, movimentos de mastigação, micção frequente na aproximação do macho e demanda incisiva por macho (GONZÁLEZ et al, 2015).

A presença de folículos foi observada nos ovários de fetos de mulas (TAYLOR; SHORT, 1973). Gonzales et al. (2015) encontraram folículos antrais e corpos lúteos em ovários de mulas provenientes de abatedouros.

2.3. Dinâmica folicular (éguas e jumentas)

Dinâmica folicular é o processo contínuo de crescimento e regressão folicular que ocorre nos ovários das éguas, o qual é diretamente influenciado por fatores extrínsecos como nutrição, temperatura, estresse e fotoperíodo. De acordo com o fotoperíodo, o ciclo reprodutivo anual é dividido em duas estações, anovulatória e ovulatória. A estação anovulatória é composta de três períodos, que compreendem a transição do outono, o anestro profundo (observado em regiões temperadas) e a transição da primavera, os quais são marcados por pequena concentração sérica de LH, embora a secreção de FSH não sofra alterações substanciais. Já a estação ovulatória é marcada pelo processo de seleção folicular, o qual ocorre no fim da fase de crescimento comum em que o folículo dominante cresce em uma taxa contínua, e os folículos subordinados crescem até o momento da seleção e então regridem (GURGEL et al, 2008).

A espécie equina é considerada poliéstrica estacional, ou seja, manifesta comportamento reprodutivo durante a primavera e verão, períodos de maior luminosidade diária (AURICH, 2011). Durante o período ovulatório, as éguas apresentam atividade reprodutiva regular, sendo o ciclo estral dividido em duas fases distintas: estro (fase folicular) e diestro (fase luteal), com duração média de 21 a 22 dias e variação de 18 a 26 dias (BLANCHARD et al, 2003), já as jumentas apresentam ciclo estral com duração de 23 a 25 dias e fase luteal de 17 a 19 dias (MEIRA et al, 1995).

O estro caracteriza-se pela receptividade sexual da égua ao garanhão, estimulado pelos níveis crescentes de estrógeno produzido pelo folículo em desenvolvimento. Apresenta de 4 a 7 dias de duração, dependendo da taxa de crescimento do folículo dominante até o momento da ovulação (McCUE, 2011). No diestro, há produção crescente de P4 pelo CL, cessando as manifestações de estro. (GINTHER, 1992). O diestro apresenta duração de 14 a 15 dias, tendo pouca variação de duração quando comparado ao estro (BRINSKO et al., 2011; GINTHER et al., 2004).

2.4. Videocirurgia

2.4.1 Treinamento e curva de aprendizado em videocirurgia

O treinamento é considerado um passo crítico para todos os tipos de cirurgia, contudo dificuldades adicionais são descritas na videocirurgia devido o procedimento ser executado em um paciente tridimensional, a percepção da profundidade é limitada ao se trabalhar com um monitor bidimensional e ao posicionamento dos portais. Treinamento adequado envolverá o acompanhamento de cirurgiões habilitados na realização da técnica desejada (HENDRICKSON, 2009).

Segundo YOSHIDA et al (2008), o treinamento intensivo, os cursos de laparoscopia e a busca constante de aprimoramento técnico devem ser perseguidos para se obter os mesmos resultados alcançados na cirurgia convencional.

A curva de aprendizado pode ser definida como a expressão gráfica representativa do período de incorporação de um novo conceito. Na prática tem sido confundida com o número de procedimentos necessários para que se atinja o ponto de proficiência, sendo este o momento em que se chega à otimização do procedimento (MELO, 2004).

2.4.2 Equipamento e instrumental laparoscópico de uso geral

Existem uma variedade de instrumentais para uso em laparoscopia em equinos. O mais comum é o endoscópio rígido de 5 ou 10 mm de diâmetro e comprimento entre 30 e 60 cm, embora alguns trabalhos relatem o uso do endoscópio flexível. As óticas mais longas permitem ao cirurgião uma visão mais ampla da cavidade abdominal, porém quando a estrutura a ser visualizada está próxima ao portal laparoscópico isso pode trazer algum incômodo. O ângulo de visão para a maioria dos endoscópios está entre 0 e 30°, sendo o primeiro o mais utilizado (HENDRICKSON, D.A.; WILSON, D.G., 1996).

O equipamento e instrumental utilizado em animais de grande porte, no geral, consiste de insuflador eletrônico de CO₂, fonte de luz, cabo de iluminação, microcâmera com processador, endoscópio rígido de 10 mm de diâmetro, 57 cm de comprimento de 0° de angulação, cânula EndoTIP TM de 10 mm para acesso videoassistido, trocater de 10 mm e trocater de 5 mm, instrumental cirúrgico

laparoscópico composto por pinça hemostática, pinça de apreensão atraumática, tesoura, agulha de veres, instrumental cirúrgico convencional, monitor, sistema de gravação de imagens e computador portátil.



Figura 3. Imagem ilustrando processadora, fonte de luz, insuflador e instrumentais laparoscópicos (arquivo pessoal).

2.4.3 Equipamento e instrumental laparoscópico de uso específico

- Bisturi Ultrassônico

Trata-se de um sistema cirúrgico para realização de incisões homeostáticas, constituído por um transdutor piezelétrico de potência que converte sinal elétrico de um gerador em vibração mecânica, a qual é transmitida longitudinalmente pela haste até o tecido biológico, com isto, ocorre à desnaturação da proteína, causando corte e coagulação. O corte é realizado através de uma pinça ou tesoura.

Encontra-se em estudo o desenvolvimento de um protótipo para uso em humanos com três potências para o corte, por um grupo de pesquisadores do Instituto de Física de São Carlos (IFSC) – USP através de convênio FINEP: 01.11.0405.00, acoplado a uma pinça ultrassônica modelo Harmonic®.

Este equipamento apresenta como vantagens de utilização o corte e coagulação simultânea à baixa temperatura, um maior controle do cirurgião sobre o procedimento, diminuição do tempo cirúrgico, redução dos danos ao tecido, redução dos riscos de hemorragia, não produz fumaça e não transmite corrente elétrica através do paciente.

- *Pipeta para bloqueio do pedículo ovariano*

Com o objetivo de realizar um bloqueio preciso do pedículo ovariano, foi produzida uma pipeta de uso permanente, baseada nas especificações da pipeta de Robertson “Donor Ewes” para inseminação artificial por laparoscopia em ovelhas.

A fabricação ocorreu na oficina do IFSC, USP. O corpo da pipeta foi produzido com aço inox 316, com 33 cm de comprimento e 3 mm de diâmetro. Foi unido a este uma agulha de calibre 25 x 0,7 e um encaixe de silicone para acoplar a ponta da seringa descartável.

- *Aplicador de cliques*

O aplicador de cliques ou clipador é um instrumental laparoscópico utilizado para aplicar cliques de titânio ou outro material em vasos sanguíneos com o intuito de promover a hemostasia permanente.

Neste trabalho utilizamos o Clipador 702013 (astus medical®) e clips de laqueação de titânio – ligaclip® LT400 (Ethicon endo-surgery).

2.4.4 Laparoscopia em grandes animais

Procedimentos laparoscópicos em equinos foram descritos pela primeira vez no início da década de 1970 para estudos com reprodução (SILVA et al, 2008). Nesta espécie, são descritas algumas técnicas de abordagem laparoscópica, como o acesso pelas fossas paralombar direita ou esquerda, ou ainda pelo fórnix vaginal, todas em posição quadrupedal (TATE et al, 2012; SILVA; MEGALE, 1971).

A laparoscopia, utilizada tanto em procedimentos diagnósticos quanto cirúrgicos, permite ampla visualização das estruturas intra-abdominais, assim como a realização de punções, biópsias, drenagem ou excisão de massas intracavitárias e órgãos (SILVA, 1999; AZIZ et al., 2008).

O acesso laparoscópico pode ser realizado com o animal em decúbito dorsal, lateral ou em estação (HENDRICKSON, 2006). Estudo foram realizados para descrever a topografia laparoscópica de equinos em estação (NÓBREGA et al, 2011) e em decúbito dorsal (SILVA et al, 1997).

As vantagens das técnicas laparoscópicas incluem a redução de complicações, já que é possível uma observação completa do campo

operacional, invasividade mínima, diminuição no tempo de recuperação com menos complicações pós-operatórias e melhor aspecto cosmético após a cirurgia. Já as limitações estão relacionadas a aquisição e custo de equipamento específico, técnico especializado, dificuldade na realização dos procedimentos e a falta de familiaridade com os procedimentos realizados, podendo aumentar drasticamente o tempo cirúrgico (RODGERSON; LOESCH, 2011).

2.5 Ovariectomia

A ovariectomia consiste na remoção de um ou ambos ovários. Geralmente trata-se de uma cirurgia eletiva (RODGERSON; LOESCH, 2011). A ovariectomia em éguas é indicada quando há alterações ovarianas e em casos de distúrbios de comportamento (SEABAUGH; SCHUMACHER, 2014; HENDRICKSON, 2006; ROESSNER et al., 2015).

Diversas técnicas são descritas para realização da ovariectomia em éguas. A decisão deve levar em consideração fatores como a indicação específica para ovariectomia, tamanho do ovário afetado, preferência individual do cirurgião, condição financeira do cliente, saúde geral e temperamento do animal, disponibilidade de equipamento e expectativa do cliente (MURPHY et al, 2005; RODGERSON; LOESCH, 2011).

Independente da técnica operatória empregada na ovariectomia, alguns aspectos devem ser considerados, como a hemostasia transoperatória, a evolução da ferida cirúrgica, a recuperação do animal e retorno a atividade normal (SILVA et al., 2007).

2.5.1 Ovariectomia por laparotomia

Esta técnica é atualmente a mais empregada para realização de ovariectomia em éguas, jumentas e mulas. Pode ser realizada com o animal em posição quadrupedal, em decúbito dorsal ou lateral.

Com os animais em posição quadrupedal é realizada a partir de um acesso cirúrgico na fossa paralombar, bilateralmente e identificação manual do ovário. A extensão da incisão está relacionada ao tamanho das mãos e braço do cirurgião e tamanho do ovário a ser retirado.

Quando realizada por cirurgião treinado e com o animal sob efeito de sedação e bloqueio local, é considerada de fácil execução, pode ser realizada

fora do centro cirúrgico e não exige instrumentais específicos como no caso da laparoscopia. Apresenta como inconvenientes o fato da cavidade abdominal ficar exposta à contaminação ambiental, o tamanho da ferida cirúrgica, cicatriz e dificuldade na visualização e exposição do ovário para ligadura.

Alguns cirurgiões preferem realizar a ovariectomia com o animal em decúbito dorsal sob efeito de anestesia geral, principalmente para a retirada de tumores ovarianos de grande volume, tornando a realização mais cômoda, porém com os riscos pertinentes ao procedimento anestésico. Neste caso o acesso cirúrgico é realizado na linha média ventral retro-umbilical ou paramediana oblíqua (VAN DE GRAAF et al, 2017).

2.5.2 Ovariectomia por laparoscopia

A ovariectomia por laparoscopia pode ser realizada com o animal em decúbito dorsal ou em posição quadrupedal, sendo que a última apresenta maiores vantagens devido a excelentes visibilidade intra-operatória, hemostasia segura, redução da morbidade cirúrgica e pós-operatória, diminuição do desconforto pós-operatório, recuperação rápida e sem complicações, necessidade de menor quantidade de medicação, menor gerenciamento pós-operatório e menos gastos do que para ovariectomias realizadas sob anestesia geral (DECHANT et al, 2000).

É importante salientar que nem todo animal está apto a ser submetido a um procedimento cirúrgico em posição quadrupedal sob sedação e anestesia local, sendo importante realizar alguns testes e perguntar ao proprietário se o animal tolera ser amarrado e aceita injeções (HENDRICKSON, 2009).

O exame de ultrassonografia dos ovários antes da laparoscopia se mostra importante para a mensuração do volume ovariano, evitando assim a necessidade de posterior laparotomia (CHAGAS et al, 2017).

Dentre as principais complicações durante o procedimento de ovariectomia por laparoscopia, destaca-se a hemorragia, podendo estar relacionada com o deslizamento da ligadura realizada. É importante reduzir o tamanho do pedículo antes da aplicação da ligadura. Nos casos de hemorragia, deve ser realizada técnicas de com ligaduras adicionais, aplicação de cliques vasculares ou utilização de dispositivos eletrocirúrgicos (HENDRICKSON, 2009).

Existem várias técnicas descritas para a realização da hemostasia do pedículo e exérese ovariana em éguas, sendo algumas a partir de instrumentais desenvolvidos ou adaptados (AZIZ et al, 2008; GUEDES et al, 2016), e outros a partir de instrumentais já amplamente utilizados em videocirurgia de humanos (DECHANT; HANDRICKSON, 2000; KAMBAYASHI et al, 2014; ROCKEN et al, 2011).

2.6. Citologia do líquido peritoneal

O líquido peritoneal consiste de um ultrafiltrado sanguíneo e apresenta pH e eletrólitos semelhantes ao plasma (BACH, 1973). Apresenta como principais funções a lubrificação e proteção das vísceras. Em situações normais o líquido peritoneal de equinos é claro, levemente amarelado e de consistência serosa. O total de células nucleadas é de 5000 células/ μ L e a proteína é de 2,5 g/dL, com 24 a 60% de predominância de neutrófilos (NELSON, 1979).

A coleta do líquido peritoneal de equinos é realizada com o animal em posição quadrupedal por paracentese abdominal. Realiza-se tricotomia ampla do local a ser perfurado e faz-se antissepsia. Pode-se utilizar a punção por agulha ou a introdução de uma cânula mamária. Para o exame citológico o líquido deve ser armazenado imediatamente em tubo estéril contendo anticoagulante EDTA (BACCARIN et al, 1995; DI FILIPPO et al, 2009).

Sua coleta é considerada uma prática de fácil execução e segura para os animais, e seu exame pode fornecer inúmeras informações sobre diagnóstico, indicação terapêutica clínica ou cirúrgica e prognóstico (TULLENERS, E.P., 1983).

Os processos inflamatórios da cavidade abdominal são classificados em agudos, subagudos ou crônicos, dependendo do tempo de evolução ou ainda de acordo com a avaliação do tipo celular predominante (KOPCHA; SCHULTZE, 1991).

Nas inflamações subagudas a proporção de células neutrofílicas não degradadas é de 50 a 70% enquanto a de macrófagos é de 20 a 50% e, em inflamações crônicas, os macrófagos representam mais de 50% das células encontradas no fluido peritoneal de equinos (KOPCHA; SCHULTZE, 1991).

3. Referências

ALFORD, C.; HANSON, R. Evaluation of a transvaginal laparoscopic natural orifice transluminal endoscopic surgery approach to the abdomen of mares. **Veterinary Surgery**, v. 12, 2010.

ARAUJO, G.H.M.; MOYA-ARAUJO, C.F. Particularidades e possíveis vantagens no uso de mulas como receptoras de embriões. **Revista Brasileira de reprodução Animal**, v.39, n.1, p.220-222, 2015.

AURICH, C. Reproductive cycles of horses. **Animal Reproduction Science**, v.124, p. 220–228, 2011.

AZIZ, D.M.; BADRANY, M.S.; TAHA, M.B. Laparoscopic ovariectomy in standing donkeys by using a new instrument. **Animal Reproduction Science**, v. 107, p. 107-114, 2008.

BACCARIN, R.Y.A.; THOMASSIAN, A.; NICOLETT, J.L.M.; GANDOLFT, W.; HUSSNI, C.A.; LOPES, R.S. Alterações do líquido peritoneal de equinos com desconforto abdominal e suas relações com o tipo de lesão implantada e evolução após tratamento médico ou cirúrgico: análise de 74 casos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 32, n. 4, p. 256-265, 1995.

BACH, L.G. Exfoliative cytology of peritoneal fluid in the horse. **Veterinary Annual**, p.102-109, 1973.

BEACH, F.A. Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals. **Horm. Behav.** V.7, p.105–138, 1976.

BLANCHARD,T.L. et al. **Reproductive Physiology of the Nonpregnant Mare**. In: BLANCHARD,T.L.;VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE,C.C.; BRINSKO,S.P. RIGBY, S.L. Manual of Equine Reproduction. 3ª Ed ,Mosby, Elsevier, 2003, cap. 2, p.9-15.

BRINSKO, S.P. et al. **Reproductive Anatomy of the Mare**. In: BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER,J.; LOVE, C.C.;

HINRICHS, K. e HARTMAN, D.L. **Manual of Equine Reproduction**. 3ª Ed, Mosby, Elsevier, p.1-9, 2011.

BRINSKO, S.P. et al. **Pregnancy: Physiology and Diagnosis**. In: BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C.C.; HINRICHS, K.; HARTMAN, D.L. **Manual of Equine Reproduction**. 3ª Ed, Mosby, Elsevier, p.85-93, 2011.

CANISSO, I.F.; SOUZA, F.A.; RODRIGUES, A.L.; KER, P. G.; TOLOMELI, A.C. BRUSTOLINI, A.P.L. Noções sobre comportamento sexual de asininos. **Revista brasileira de medicina equina**, n.6, p.14-18, 2009.

CROWELL-DAVIS, S.L. Sexual behavior of mares. **Hormones and Behavior**, n.52, p.12-17, 2007.

CHAGAS, C.C.; CAPILLA, D.A.; MARTENS, A.; MEDINA, A.S.; CORTÉS, B.; SANTISTEBAN, M.; SOÁREZ, R.; VILAR, L.J.; FERNÁNDEZ, M.A. Ovariectomia bilateral por videolaparoscopia em posição quadrupedal para remoção de tumor de células da granulosa em égua. **Revista acadêmica: Ciência Animal**, n. 15, supl. 1, p. 331-332, 2017.

DECHANT, J.E.; HANDRICKSON, D.A. Standing female equine urogenital endoscopic surgery. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, n. 2, v. 16, p. 301-315, 2000.

DI FILIPPO, P.A.; SANTANA, A.E.; NOGUEIRA, A.F.S.; ANAI, L.A.; CAMPOS FILHO, E. Características celulares e bioquímicas do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do duodeno, íleo e cólon maior. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 6, v. 61, p. 1281-1289, 2009.

FIALHO, S.S.; FIGUEIRÓ, G.M.; LEHMKÜHL, R.C.; PASIN, M.; RUBIN, M.I.B.; SILVA, C.A.M. Abordagem laparoscópica na égua como meio auxiliary nas técnicas de reprodução assistida. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 38, n. 5, p. 229-232, 2001.

GINTHER, O.J. **Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects**. 2^a ed. Editora Cross Plains WI: Equiservices, 1992.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction**, v.1, p. 31-44, 2004.

GODDERIDGE, M.T.; RAGLE, C.; HEATON, K.; FARRELL, A.; TIBARY, A. Estrous Behavior in Mules – An Owner's Perspective. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.xx, p.1-4, 2017.

GONZÁLEZ, S.M.; SILVA, C.B.; MACHADO, F.Z.; GONÇALVES, G.R.; SILVA-SANTOS, K.C.; SENEDA, M.M. Granulosa cells tumor in mules. **Revista acadêmica de ciências animais**, n.13, p.89-93, 2015.

GONZÁLEZ, S.M.; GOMES, R.G.; SOUZA, A.K.; SILVA, C.B.; SILVA-SANTOS, K.C.; SENEDA, M.M. Evidences of Regular Estrous Cycles in Mules and Successful Use of These Animals as Recipients for Donkey Embryos. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.35, p.869–872, 2015.

GUEDES, R.L.; SILVA, J.B.P.; DORNBUSCH, P.T. Dispositivo para aplicação e cortes de lacres de pressão durante ovariectomia laparoscópica com éguas em estação. **Acta Scientiae Veterinariae**, n. 44, p. 1-5, 2016.

GURGEL, J. R. C.; VIANA, C. H. C.; PEREZ, E. G. A.; NICHI, M. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. **Rev Bras Reprod Anim**, v.32, n.2, p.122-132, 2008.

HENDRICKSON, D.A. Complications of Laparoscopic Surgery **Veterinary Clinics Equine Practice**, n.24, p.557-571, 2009.

HENDRICKSON, D.A. Laparoscopic cryptorchidectomy and ovariectomy in horses. **Veterinary Clinics Equine Practice**, n.22, p.777-798, 2006.

HENDRICKSON, D.A.; WILSON, D.G. Instrumentation and Techniques for Laparoscopic and Thoracoscopic Surgery in the Horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, n. 2, v. 12, 1996.

HERMSDORFF, G.E. Zootecnia Especial. In: Gênese e caracteres gerais. Imprensa Nacional do Rio de Janeiro, v.1, p.9-34, 1956.

HENRY, M.; LODI, L.D.; GASTAL, M.M.F.O. Sexual behavior of domesticated donkeys (*Equus asinus*) breeding under controlled or free range management systems. **Applied Animal behavior Science**, n.60, p.263-276, 1998.

KAMBAYASHI, Y.; TSUZUKI, N.; SEO, J.; YAMAGA, T.; TANABE, T.; UCHIYAMA, H.; SASAKI, N. Evaluation of Single-Incision Laparoscopic Ovariectomy in Standing. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34 p. 446-450, 2014.

KER, P.G. Comportamento sexual, fertilidade e taxa de recuperação embrionária em jumentas da raça Pêga ao longo do ano. 96p. 2013. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.

KOPCHA, M.; SCHULTZE, A.E. Peritoneal fluid Part I. Pathophysiology and classification of nonneoplastic effusions. **Cont. Educ. Article**, v.13, n.3, p. 519-525, 1991.

LEE, M.; HENDRICKSON, D.A. A review of equine standing laparoscopic ovariectomy. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 2, p. 105-111, 2008.

MAPA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. Acessado em: 12/05/2013.

McCUE, P.M., SCOGGIN, F.C, LINDHOLMIN, A.R.G. **Estrus** In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2^a Ed. Blackwell Publishing, cap.179, p.1716-1727, 2011.

McDONNELL, S.M. Reproductive behavior of donkeys (*Equus asinus*). **Applied Animal Behavior Science**, n.60, p.277-282, 1998.

MELO, M. A. C. Curva de Aprendizado na Videocirurgia. **Revista Brasileira de Videocirurgia**, n.2, v.3, p.111-113, 2004.

MEIRA, C.; FERREIRA, J.C.P.; PAPA, F.O.; TORNERO, M.T.T.; BICUDO, S.D. Study on the cicly in donkeys (*Equus asinus*) using ultrassonography and plasma progesterone concentrations. **Biol. Reprod. Mono**, n.1, p.403-410, 1995.

MURPHY, J.; HENDRICKSON, D.A.; HENDRIX, S. Right Flank Laparoscopic Ovariectomy of a Regressing Granulosa Thecal Cell Tumor of a Pregnant Mare: A Case Review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 25, n. 7, 2005.

NELSON, A.W. Analysis of equine peritoneal fluid. **Veterinary Clinics of North America: Large animals practice**, v.1, p.267-274, 1979.

NOBREGA, F.S.; BECK, C.A.C.; FERREIRA, M.P.; VOLL, J.; RAMOS, C.A.; SCARTON, R.B. Videolaparoscopia topográfica de equinos em estação com três diferentes massas corpóreas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 4, v. 63, p. 873-880, 2011.

NORONHA, P.B.; BORELLI, V.; FERNANDES FILHO, A. Estudo morfológico dos componentes do pedículo ovariano de éguas da raça Puro Sangue Inglês. **Rev. Inst. Ciênc. Saúde**, v.4, n.24, p.275-279, 2006.

RODGERSON, D.H.; LOESCH, D.A. **Ovariectomy** In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2^a Ed. Blackwell Publishing, cap.265, p.2564-2573, 2011.

ROESSNER, H.A.; KURTZ, K.A.; CARON, J.P. Laparoscopic ovariectomy dininishes estrus-associated behavioral problems in mares. **Journal of equine veterinary Science**, n.35, p.250-253, 2015.

ROCKEN, M.; MOSEL, P.G.; SEYREK-INTAS, K.; SEYREK-INTAS, D.; LITZKE, F.; VERVER, J.; ASTRID, B.M. Unilateral and Bilateral Laparoscopic Ovariectomy in 157 Mares: A Retrospective Multicenter Study. **Veterinary Surgery**, v. 40, p. 1009-1014, 2011.

SEABAUGH, K.A.; SCHUMACHER, J. Urogenital surgery performed with the mare standing. **Veterinary Clinic Equine**, n.30, p.191-209, 2014.

SILVA, L.A.F.; FRANÇA, R.O.; VIEIRA, D.; GARCIA, A.M.; MOURA, M.I.; SILVA, M.A.M.; SILVA, E.B.; TRINDADE, B.R.; FRANCO, L.G. Emprego da abraçadeira de náilon, do catepute e do emasculador na hemostasia preventiva de ovariectomia em éguas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 135-146, 2007.

SILVA, L.A.F.; MORAES, R.R.; FIORAVANTI, M.C.S.; EURIDES, D.; RAMOS, L.S.; ACYPRESTE, C.S. Ovariectomia em equídeos por abordagem uni ou bilateral. In: congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, 1998. Belo Horizonte. **Anais... Belo Horizonte: CBCAV**, 1998.

SILVA, L.C.L.C. Laparoscopia em equinos. **Revista Saúde Equina**, n. 14, 1999.

SILVA, L.C.L.C.; GANDOLFI, W.; ALVARENGA, J.; FANTONI, D.T. Estudo laparoscópico dos órgãos abdominais do equino por abordagem mediana ventral. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 34, n.1, p. 211-217, 1997.

SILVA, N.Q.; MEGALE, F. Peritoneoscopy in the mare. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 23, p. 91-101, 1971.

TATE, L.P; FOGLE, C.A.; BAILEY, C.S.; TATE, K.T.; DAVIS, J.W. Laparoscopic-Assisted Colpotomy for Ovariectomy in the Mare. **Veterinary Surgery**, v. 41, p. 625-628, 2012.

TAYLOR, M.J.; SHORT, R.V. Development of the germ cells in the ovary of the mule and hinny. **J. Reprod. Fert.**, v.32, p.441-445, 1973.

TULLENERS, E.P. Complications of abdominocentesis in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 182, p. 232-234, 1983.

VAN DE GRAAF, G.M.M.; ABREU, R.N.; PULZ, L.H.; BANDARRA, M.B.; RIBEIRO, L.E.B.; TONON, L.H.; CASTRO, P.H.S. Laparotomia paramediana oblíqua para ovariectomia em uma égua: relato de caso. **Revista acadêmica: Ciência Animal**, n. 15, supl. 1, p. 299-300, 2017.

YOSHIDA, R. A.; YOSHIDA, W. B.; ROLLO, H. A.; KOLVENBACH, R.; LORENA, S. E. R. S. Curva de aprendizado em cirurgia aórtica videolaparoscópica: estudo experimental em porcos. J. Vasc. Bras., v.7, n.3, p.231-238, 2008.

YOUNGQUIST, R.S; THRELFALL, W.R. **Clinical Reproductive Anatomy and Physiology of the Mare.** In: EVANS, T.J.; CONSTANTINESCU, G.M.; GARJAN, V.K. Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2^a Ed, Elsevier, p.47-67, 2007.

Capítulo 2

Artigo Científico I

Revista escolhida: Pesquisa Veterinária Brasileira

Link: <http://www.pvb.com.br/index.php?link=home>

Instrumentação e Laparoscopia para realização de Ovariectomia em Mulas¹

Fábio H. B. Ximenes^{2*}, Thiago Y. Nitta³, José Ricardo B. da Silva⁴, Juliana M. Alonso⁵, Bruna dos Santos⁶, Carlos Alberto Hussni⁷ e Rogério Antônio de Oliveira⁸ e Celso Antônio Rodrigues⁹

ABSTRACT. – Ximenes F.H.B., Nitta T.Y., Silva J.R.B., Alonso J.M., Santos B., Oliveira R.A., Hussni C.A. & Rodrigues C.A., 2018. [Instrumentation and Laparoscopy for Ovariectomy in Mules.] Instrumentação e Laparoscopia para realização de Ovariectomia em Mulas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, ICC Sul, Campus Universitário Darci Ribeiro, Brasília, DF 70297-400, Brazil. E-mail: fabiohbximenes@gmail.com

The aim of the study was the evaluation of videolaparoscopic surgery techniques for ovariectomy procedures in mules and the comparison between titanium clips and Ultrasonic scalpel for hemostatic management. Nine mules underwent the procedure and were followed up from January to May 2017. The average age of the animals was $7,9 \pm 3,2$ years old and the weight approximately 352 ± 76 kg. All the mules received sedation with Detomidine hydrochloride (Dormiun V®), added or not to butorfanol tartrate (Torbugesic®) and anesthetic blockade with Lidocaine hydrochloride 2% plus vasoconstrictor (Xylestesin®) in the site of the trocar incision. The standard laparoscopic equipment was comprising the Carbon dioxide blower, light source, microcamera and rigid endoscope. The team performed the standing position surgery. Two groups were randomly selected for ultrasonic scalpel (group A) and titanium clips (group B) aiming the hemostasis of the vascular pedicle on the ovaries. Peritoneal liquid samples were assessed about inflammatory reactivity (biochemical and cytological methods) on preoperative evaluation and in different moments on postoperative days - 12 h, 24 h, 3 d, 5 d, 7 d, 10 d, 30 d and 60 d. The length of the surgery was 225 ± 15 minutes in group A and 159 ± 52 minutes in group B. The average weight of the right ovaries was $23,46 \pm 14$ grams, with an approximate volume of $20,96 \pm 12,83$ cm³. The left ovaries weighed $43,12 \pm 30,41$ grams, with $46,17 \pm 43,11$ cm³ of average volume. The difficulty of the procedure was greater as smaller the ovary was. At the same time, some complications were observed. Most of them, secondary to laparoscope technique. Subcutaneous emphysema was found in all mules studied, possibly caused by CO₂ blowing. On the other hand, hemo-peritoneum was uncommon (just one animal developed this phenomenon) but the most severe complication. No statistical differences were observed between groups A and B, although a trend of more relevant bleeding was seen in group A. On cytological assay, the most common cellular type was neutrophils, followed by lymphocytes, macrophages and eosinophils. After the surgery, the animals remained in rest for thirty days. The mules underwent ruffling for at least sixty days. Only one animal showed estrus behavior, but during just one day. The surgical technique is quite accessible and might be replicated by other surgeons. Our main limitation was the shears coupled to transducer of the scalpel. This tool must be adapted in order to attend the procedure in a small surgical fields. In contrast, the pipette was fundamental to blockade pedicle of the ovaries successfully.

INDEX TERMS: Ovariectomy, Laparoscopy, Mules, Ultrasonic Scalpel, Video Surgery.

RESUMO. O presente estudo avaliou o uso da videolaparoscopia na realização de ovariectomia em mulas. Para tal foram utilizadas nove mulas, com idade de $7,9 \pm 3,2$ anos, pesando 352 ± 76 kg, durante o período de janeiro a maio de 2017. Os animais receberam sedação com cloridrato de detomidina (Dormiun V[®]) acrescido ou não de tartarato de butorfanol (Torbugesic[®]) e bloqueio anestésico no local de introdução dos portais com cloridrato de lidocaína 2% com vasoconstrictor (Xylestesin[®]). Foi utilizado equipamento laparoscópico padrão composto por insuflador de CO₂, fonte de luz, cabo de iluminação, microcâmara e endoscópio rígido. A cirurgia foi realizada com os animais em estação. Para hemostasia dos vasos presentes no pedículo ovariano utilizou-se no grupo A um bisturi ultrassônico e no grupo B um aplicador de clips de laqueação de titânio. A reatividade peritoneal foi avaliada por avaliação bioquímica e citológica do líquido peritoneal nos momentos pré-operatório (PO) e pós-operatório 12 h, 24 h, 3 d, 5 d, 7 d, 10 d, 30 d e 60 d. Para os animais do grupo A o tempo cirúrgico total foi de 225 ± 15 minutos, já os do grupo B foi de 159 ± 52 minutos. O peso médio do ovário direito foi de $23,46 \pm 14$ gramas e volume médio de $20,96 \pm 12,83$ cm³. O ovário esquerdo apresentou média de $43,12 \pm 30,41$ gramas de peso e volume médio de $46,17 \pm 43,11$ cm³. Observou-se que o grau de dificuldade da ovariectomia foi inversamente proporcional ao tamanho do ovário. O enfisema subcutâneo foi a complicação pós-operatória mais evidente, sendo observada em todo grupo (9/9), e o hemoperitônio foi considerado a complicação mais grave (1/9). Não houve diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre os grupos A e B, porém foi observado uma maior dificuldade de contenção de hemorragia no grupo A. Na avaliação citológica o tipo celular prevalente foi o neutrófilo, seguido por linfócitos, macrófagos e eosinófilos. Após o procedimento cirúrgico os animais passaram por um período de descanso de 30 dias e foram submetidos à rufiação por no mínimo 60 dias. Apenas 1 (1/9) animal apresentou sinal comportamentais compatíveis com estro, porém ocorreu em um único dia e não houve repetição. A técnica cirúrgica é de fácil execução e poderá ser repetida por outros cirurgiões. A pipeta utilizada para bloqueio do pedículo foi fundamental, já a tesoura acoplada ao transdutor do bisturi deverá sofrer modificações antes de ser utilizada na rotina.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Ovariectomia, Laparoscopia, Mulass, Bisturi Ultrassônico, Videocirurgia.

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, ICC Sul, Campus Universitário Darci Ribeiro, Brasília, DF 70297-400, Brasil. Pesquisa de doutorado com auxílio FAPESP. *Autor para correspondência: fabiohbximenes@gmail.com

³ Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral (FAEF), Rodovia Comandante João Ribeiro de Barros, km 420, Garça, SP 17400-000, Brasil. E-mail: thiago_nitta@hotmail.com

⁴ Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Rua Prof. Doutor Walter Maurício Correa, s/nº, Rubião Júnior, Botucatu, SP 18618-681, Brasil. E-mail: jose.ricardo_medvet@hotmail.com

⁵ Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Rua Prof. Doutor Walter Maurício Correa, s/nº, Rubião Júnior, Botucatu, SP 18618-681, Brasil. E-mail: julianamalonso@gmail.com

⁶ Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, UNESP, Rua Prof. Doutor Walter Maurício Correa, s/nº, Rubião Júnior, Botucatu, SP 18618-681, Brasil. E-mail: brunasantos.vet@hotmail.com

⁷ Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Rua Prof. Doutor Walter Maurício Correa, s/nº, Rubião Júnior, Botucatu, SP 18618-681, Brasil. E-mail: rodriguesca@fmvz.unesp.br

⁸ Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Rua Prof. Doutor Walter Maurício Correa, s/nº, Rubião Júnior, Botucatu, SP 18618-681, Brasil. E-mail: cahussni@fmvz.unesp.br

⁹ Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências (IBB), UNESP, Rua Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, 250, Rubião Júnior, Botucatu, SP 18618-689, Brasil. E-mail: rogerio@ibb.unesp.br

INTRODUÇÃO

São denominadas mulas, fêmeas híbridas provenientes do cruzamento entre o macho asinino (*Equus asinus* – $2n = 62$) e a fêmea equina (*Equus caballus* – $2n = 64$), apresentam $2n = 63$ e são animais considerados estéreis, porém podem apresentar ciclos estrais com atividade ovariana e produção hormonal (Araújo & Moya Araújo 2015).

O comportamento e a manifestação sexual dos muare são demonstrados nos animais não castrados com maior intensidade quando comparado às espécies equina e asinina, tornando estes híbridos animais irascíveis e de perigoso manejo (Hermsdorff 1956).

Os métodos de supressão do estro incluem técnicas baseadas em remoção da própria gonadada (ovariectomia), métodos para contrariar os efeitos dos estrogênios e métodos para eliminar a atividade ovariana, inibindo a secreção de gonadotropina (Pryor & Tibary 2005). A cirurgia é indicada normalmente para tratamento de doenças ovarianas ou para supressão dos comportamentos indesejados durante o período de estro, favorecendo o convívio em grupo e melhorando o desempenho do animal na lida ou tração (Holly 2015, Silva et al. 2007).

Várias técnicas cirúrgicas foram descritas para realização da ovariectomia em éguas, dentre elas o uso de abraçadeira de náilon para hemostasia do pedículo ovariano (Silva et al. 2007), eletrocoagulação (Rodgersson et al. 2011, Smith et al. 2008), grampeadores lineares (Rocken et al. 2011), morcelador (Lund et al. 2014), Laparotomia (Silva et al. 2007), laparoscopia via fossa paralombar (Dechant & Handrickson 2000), colpotomia (Tate et al. 2012) e NOTES (Pader et al. 2011).

Apesar da importância econômica e social que os muare apresentam no Brasil, existe escassez de estudos com relevância científica nesses híbridos.

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver e comparar técnicas de instrumentação e videolaparoscopia para realização de ovariectomia em mulas, utilizando para hemostasia cliques de laqueação de titânio ou bisturi ultrassônico, bem como estudar se a técnica utilizada seria eficiente para suprimir o comportamento de estro.

MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, campus de Botucatu, protocolo nº138/2016 – CEUA.

O trabalho foi conduzido nas dependências do Hospital Veterinário de Grandes Animais da FMVZ/UNESP). Para tanto, foram utilizadas 9 mulas, com idade de $7,9 \pm 3,2$ anos, pesando 352 ± 76 kg, submetidas a exame citogenético através da técnica de cultivo de linfócitos de sangue periférico e análise dos cromossomos por coloração convencional de Giemsa, objetivando caracterização da espécie híbrida. O exame de cariotipagem evidenciou $2n = 63$ cromossomos e ausência de pareamento cromossômico, o que ocorre em animais provenientes do cruzamento entre espécies distintas, confirmando que todos animais utilizados no experimento foram fêmeas muare.

Pré-operatório. No dia que precedeu a cirurgia os animais foram pesados, receberam banho, limpeza dos cascos, tricotomia das jugulares, fossa paralombar e ventral. Realizou-se exame clínico geral, ultrassonografia para avaliação e medida dos ovários e coleta de sangue periférico para realização de hemograma pré-operatório. Neste momento fez-se coleta de líquido peritoneal através de abdominocentese ventral com auxílio de cânula mamária para realização de exame físico-químico e celular.

Sedação e anestesia local. Para realizar a sedação foi utilizado o protocolo inicial com bolus de $0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$, intramuscular (IM), seguido de infusão intravenosa (IV) contínua de $0,0125 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de cloridrato de detomidina (Dormiun V). Esse protocolo, aqui denominado de protocolo 1, foi utilizado nos três primeiros animais operados. Os demais animais foram submetidos ao protocolo 2, que além dos fármacos utilizados no protocolo 1, foi acrescido da aplicação de tartarato de butorfanol (Torbugesic®), na dose de $0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$, IM.

Em cada ponto de introdução dos portais laparoscópicos realizou-se bloqueio anestésico local com aproximadamente 20 ml de cloridrato de lidocaína 2%, com vasoconstrictor (Xylestesin®), conforme descrito por Hendrickson (2006). Foi também realizado bloqueio do pedículo ovariano de ambos os lados.

Equipamento e instrumentais convencionais. O equipamento e instrumental utilizado consistiu de insuflador eletrônico de CO_2 (Astustec®), fonte de luz de Xenon de 180 W (Nova 175®), cabo de iluminação (Karl Storz Endoskope®), microcâmera com processador (Karl Storz Endoskope®), endoscópio rígido de 10 mm de diâmetro, 57 cm de comprimento de 0° de angulação (Óptica Karl

Storz Endoskope®), cânula EndoTIP™ de 10 mm para acesso videoassistido (Karl Storz Endoskope®), trocater de 10 mm (Karl Storz Endoskope®) e trocater de 5 mm (Karl Storz Endoskope®), instrumental cirúrgico laparoscópico composto por pinça, tesoura, Clipador 702013 (astus medical®) e clips de laqueação de titânio – ligaclip® LT400 (Ethicon endo-surgery), agulha de veres e instrumental cirúrgico convencional, monitor TV (Phillips®, 21,5”), sistema de gravação de imagens composto por placa de captura USB (Pixel View®) e computador portátil (Acer® 4250-0806).

Bisturi Ultrassônico. Trata-se de um sistema cirúrgico para realização de incisões homeostáticas, constituído por um transdutor piezelétrico de potência que converte sinal elétrico de um gerador em vibração mecânica, a qual é transmitida longitudinalmente pela haste até o tecido biológico, com isto, ocorre à desnaturação da proteína, causando corte e coagulação. O corte é realizado através de uma pinça. O corte do tecido é determinado pelo deslocamento longitudinal da ponta da lâmina e pela frequência de operação no espectro de 40 kHz a 60 kHz.

As principais vantagens desse equipamento estão relacionadas ao fato de não transmitir corrente elétrica ao paciente, não produzir fumaça ou odores e um maior controle do cirurgião sobre o procedimento (Moretti, 2014).

O equipamento utilizado neste trabalho é um protótipo para uso em humanos com três potências para o corte, desenvolvido por um grupo de pesquisadores do Instituto de Física de São Carlos – USP através de convênio FINEP: 01.11.0405.00, acoplado a uma pinça ultrassônica modelo Harmonic®.

Pipeta para bloqueio do pedículo ovariano. Com o objetivo de realizar um bloqueio preciso do pedículo ovariano, foi produzida uma pipeta de uso permanente, baseada nas especificações da pipeta de Robertson “Donor Ewes” (pipeta para inseminação artificial laparoscópica, Minitube®) para inseminação artificial por laparoscopia em ovelhas.

A fabricação ocorreu no laboratório do IFSC, USP. O corpo da pipeta foi produzido com aço inox 316, com 33 cm de comprimento e 3 mm de diâmetro. Foi unido a este uma agulha de calibre 25 x 0,7 e um encaixe de silicone para acoplar a ponta da seringa descartável.

Laparoscopia para Ovariectomia. Após a tranquilização e o bloqueio no local de inserção do primeiro portal, conforme descrito anteriormente, procedeu-se com a instituição do pneumoperitônio através da punção por agulha de veres ou mandril de cateter periférico 14G (Descarpac®) na fossa paralombar esquerda até a pressão média de 15 mmHg.

O primeiro acesso foi do lado direito com uso de cânula Endotip de 10 mm para introdução do endoscópio, seguido da realização de outros dois portais, sendo um para introdução da pinça de apreensão do ovário e o segundo para introdução da pipeta para bloqueio do pedículo ovariano e demais tecidos adjacentes, tesoura para dissecação e aplicador de cliques, guiados a partir da ótica introduzida no primeiro, conseguindo dessa forma uma boa triangulação.

Após a identificação, apreensão e bloqueio de todo tecido adjacente ao ovário, procedeu-se com a diérese do ligamento mesovário e mesosalpinge e hemostasia dos ramos da artéria ovariana (figura 1). Neste momento houve uma variação da técnica utilizada, dependendo do grupo que o animal pertencia (A ou B).

Grupo A: Composto por 3 animais. Corte e hemostasia realizados com uso do bisturi ultrassônico.

Grupo B: Composto por 6 animais. Corte e dissecação realizados com tesoura e hemostasia através da aplicação de cliques de laqueação de titânio.

A retirada do ovário foi realizada a partir da ampliação do acesso cirúrgico mais ventral, pelo qual se trabalhava com uma pinça de apreensão atraumática.

Após a retirada do primeiro ovário, procedeu-se a refiação da musculatura com fio do tipo absorvível Poliglactina 910 (Vicryl®) nº 1, em padrão de sutura simples interrompido e refiação da pele com fio de Nylon nº 0,60. A mesma sequência de procedimentos foi repetida para retirada do ovário contra lateral.

Imediatamente após, foram realizadas pesagem e medidas de comprimento, largura e espessura dos ovários, com auxílio de paquímetro. A partir dessas medidas calculou-se o volume ovariano.

Pós-operatório. Realizou-se acompanhamento diário dos animais, com realização de exame clínico geral, administração de analgésico a base de dipirona (Febrax®), na dose de 25 mg.kg⁻¹, BID, IV, por 3 dias, antiinflamatório não-esteroidal a base de flunixin meglumine (Desflan®) na dose de 1,1 mg.kg⁻¹, SID, IV, por 3 dias e antibiótico a base de Ceftiofur (Microfuld®) na dose de 5 mg.kg⁻¹, SID, IM, por 5 dias. O tratamento da ferida cirúrgica consistiu de limpeza com solução de Digliconato de clorexidina 0,5% (Riohex®) e aplicação de repelente a base de sulfadiazina prata, alumínio, cipermetrina e DDVP (Bactrovet prata®). A sutura de pele foi retirada 10 dias após a cirurgia. Sendo todos os dados e intercorrências registrados em ficha de acompanhamento.

Avaliação do líquido peritoneal. A coleta do líquido peritoneal foi realizada com o animal em posição quadrupedal por paracentese abdominal. Realizou-se tricotomia ampla do local a ser perfurado, fez-se antissepsia, bloqueio anestésico local e pequena incisão da pele com a ponta de uma lâmina de bisturi nº 24. Introduziu-se uma cânula mamária e o líquido extraído foi armazenado imediatamente em tubo estéril contendo anticoagulante EDTA. Neste momento fez-se também o esfregaço através da técnica de Squash, que consistia na colocação de uma gota do líquido na extremidade de uma lâmina de vidro e colocação de uma segunda lâmina sobre a primeira. É realizado um deslizamento contínuo sem exercer pressão. A lâmina era então identificada e colocada em metanol por 5 minutos para fixação.

Nos momentos pré-operatório (PO) e pós-operatório 12 h, 24 h, 3 d, 5 d, 7 d, 10 d, 30 d e 60 d, coletou-se líquido peritoneal para avaliação de marcadores de reatividade peritoneal. A avaliação foi dividida em análise bioquímica e citológica. A primeira consistiu na mensuração da densidade, pH, glicose e presença de sangue oculto através da fita reagente para urinálise Combur-Test®. Posteriormente determinou-se a proteína total (PT) com uso de refratômetro calibrado e o fibrinogênio através da técnica de precipitação pelo calor, conforme descrito por Baker (2007). Já a avaliação citológica consistiu na mensuração da quantidade de hemácias, células nucleadas, segmentados, macrófagos, linfócitos, eosinófilos e células mesoteliais reativas. Foi realizada em câmara de Neubauer, seguido de contagem diferencial manual, em objetiva de 100x.

Análise estatística. As variáveis foram descritas pela média, desvio padrão, mínima, mediana e máxima. Para avaliação dos parâmetros estudados no líquido peritoneal utilizou-se o teste de Tukey para comparação entre os momentos e entre as técnicas empregadas. Considerou-se diferenças estatísticas significativas quando o valor p for $\leq 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas no software estatístico SAS versão 9.3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais submetidos ao protocolo 2 de tranquilização apresentaram menor incômodo durante a manipulação dos ovários, redução da frequência de micção, provavelmente atribuído a analgesia promovida pelo tartarato de butorfanol. Porém, apresentaram maior grau de ataxia que aqueles submetidos ao protocolo 1. Além disso, todos os animais submetidos ao protocolo de sedação 1 necessitaram de doses extra de detomidina, sendo necessárias duas aplicações de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ em dois dos animais e três aplicações em outro.

Houve dificuldade para estabelecer o pneumoperitônio com uso da agulha de veres, apresentando maior facilidade quando foi realizado com auxílio de um mandril de cateter 14G. Em um animal não foi possível o acesso a cavidade abdominal com a cânula Endotip 10 mm.

No grupo de animais submetidos ao procedimento com uso do bisturi ultrassônico ocorreu o inconveniente de ser necessário a retirada da tesoura algumas vezes para limpeza de suas “mandíbulas”, devido ao sangramento excessivo. Em estudo realizado para ovariectomia laparoscópica em éguas, com equipamento parecido, os autores relataram evento semelhante (Alldredge & Hendrickson 2004).

Foi necessário a utilização de pinça hemostática para conter a hemorragia do pedículo ovariano. Por vezes ao aproximar a ótica do local para melhor visualização, a mesma era impregnada de sangue e dificultava o procedimento.

O tempo de realização dos procedimentos cirúrgicos foi calculado a partir da primeira incisão de entrada do portal 1 até a sutura da incisão para retirada do ovário. Para os animais do grupo A o tempo cirúrgico total foi de 225 ± 15 minutos, já os do grupo B foi de 159 ± 52 minutos. Possivelmente o maior tempo necessário no grupo A se justifique por ter sido os primeiros animais operados, iniciando assim a curva de aprendizado, e devido às dificuldades encontradas para hemostasia dos vasos. Foi observada uma diminuição de 85% no tempo cirúrgico entre a primeira e sexta cirurgia aórtica em suínos (Yoshida et al. 2008).

O peso médio do ovário direito foi de $23,46 \pm 14$ gramas e volume médio de $20,96 \pm 12,83 \text{ cm}^3$. O ovário esquerdo apresentou média de $43,12 \pm 30,41$ gramas de peso e volume médio de $46,17 \pm 43,11 \text{ cm}^3$. Observou-se que o grau de dificuldade da ovariectomia foi inversamente proporcional ao tamanho do ovário, sendo mais fácil a apreensão e divulsão de ovários grandes.

Não foi observado nenhuma dificuldade na coleta do líquido peritoneal com uso da cânula mamária.

Em um ovário houve a perda para a cavidade abdominal, porém não houve dificuldade para encontrá-lo. Segundo Hendrickson et al (2009) esse tipo de acontecimento é comum de ocorrer, sendo medida preventiva a realização de uma incisão de tamanho suficiente para retirada do ovário e a colocação de pinças adicionais quando o mesmo estiver visível. Rodgerson et al. (2001) relataram

a ocorrência de perda do ovário na cavidade abdominal em (2/25), sendo em um dos casos necessário a realização de laparotomia para recuperação do ovário.

O enfisema subcutâneo foi a complicação pós-operatória mais evidente, sendo observada em todo grupo (9/9), sendo mais perceptível a partir do segundo dia após a cirurgia e desaparecendo até o sétimo dia. Ambos os lados foram acometidos, não havendo relação com o tempo cirúrgico ou grupo a que o animal pertencia. Segundo Seabaugh & Schumacher (2014) o enfisema subcutâneo próximo ao ponto de introdução dos trocateres é comum de ocorrer em éguas.

Outro evento relevante neste estudo foi a infecção da ferida operatória, acometendo 3 animais (3/9). Em 1 animal (1/3) esta complicação foi constatada no sétimo dia pós-operatório, no acesso 3 do lado esquerdo. Neste caso apresentando deiscência da sutura de pele e parte da musculatura, presença de secreção purulenta, dor e aumento de temperatura local. Nos demais animais (2/3) a contaminação foi constatada a partir do décimo dia pós-operatório, em grau leve, acometendo apenas a pele e espaço subcutâneo. O tratamento realizado foi apenas tópico, com lavagem da ferida diariamente com digliconato de clorexidina 2% solução com tensoativos (Riohex 2% degermante®) e limpeza das partes mais profundas com peróxido de hidrogênio em solução aquosa (água oxigenada 10 volumes Rioquímica®) através de sonda uretral nº 12 (Mark Med®). Em estudo de 157 casos de ovariectomia em éguas, foi relatado 10% dos animais com infecção da ferida operatória (Rocken et al. 2011).

A complicação considerada mais grave foi o hemoperitônio, acometendo 1 (1/9) animal, pertencente ao grupo A. A partir do primeiro dia de pós-operatório o animal apresentou aumento de volume ventral do lado direito, que se estendeu para o membro pélvico direito no segundo dia. Foi observado inapetência, porém os parâmetros de frequência cardíaca, respiratória, tempo de preenchimento capilar e temperatura retal se encontravam dentro dos parâmetros fisiológicos para mulas, com exceção da coloração da mucosa que se encontrava levemente pálida. No terceiro dia o animal foi encaminhado para exame ultrassonográfico abdominal, sendo constatado grande quantidade de líquido livre na cavidade abdominal, e imediatamente após o exame realizou-se drenagem na região ventral, retirando-se 3 litros de sangue. A partir do quarto dia o animal já apresentava melhora no apetite e estado geral, restabelecendo o hematócrito a partir do décimo dia pós-operatório. Por se tratar de um animal pertencente ao grupo B, sugerimos que o clipe possa ter se desprendido do tecido e vasos do mesovário, ocasionando a hemorragia.

Após o procedimento cirúrgico os animais passaram por um período de descanso de 30 dias e foram submetidos à rufiação por no mínimo 60 dias. Apenas 1 (1/9) animal apresentou sinal comportamentais compatíveis com estro, porém ocorreu em um único dia e não houve repetição. As demais mulas não apresentaram mais nenhum sinal de estro e até o presente momento são monitoradas por seus proprietários.

Não houve diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) entre o grupo operado com uso de bisturi ultrassônico e com uso do clipador.

Na avaliação da densidade do líquido peritoneal, quando avaliamos o valor obtido no pré-operatório, em relação aos demais momentos, observou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) em todos os momentos, exceto 30 dias e 60 dias. Apresentou seu valor máximo no momento 24h para o grupo bisturi e 12h para o grupo clipe.

Em relação a Proteína Total (PT), houve diferença significativa em todos os momentos, exceto 10, 30 e 60 dias. Foi observado um pico de concentração dos valores no momento 24 h para o grupo Bisturi e 12 h para o grupo Clipe. Valadão et al. (2004) avaliou a resposta inflamatória peritoneal de equinos sadios após punção cecal percutânea, encontrando um pico de concentração de PT no momento 24 horas após o procedimento. Seabaugh et al. (2014) observaram aumento 24 horas após ovariectomia laparoscópica em éguas. Alguns autores relataram observaram aumento de PT após 24 horas, com pico 48 horas após castração (Di Filippo et al. 2016) e 24 horas após obstrução intestinal experimental em equinos (Di Filippo et al. 2009). O aumento dos níveis de PT está relacionado ao aumento da permeabilidade peritoneal devido à inflamação (Lhamas et al. 2014).

A proteína de fase aguda fibrinogênio não apresentou diferença estatística entre os momentos, porém observou-se pico de concentração no momento 24h para ambos os grupos. Para o grupo bisturi observou-se uma queda nos valores até o momento 3d e novo aumento no momento 5d, enquanto no grupo clipe observou-se queda até o momento 7d, seguida por novo aumento no momento 10d. Valente et al (2009) em estudo realizado com equinos submetidos a enterorrafia intestinal, observaram aumento do fibrinogênio no líquido peritoneal até 96 horas após o procedimento cirúrgico. Provavelmente a inflamação tecidual ocasionada pelo bisturi seja mais aguda e a presença do clipe no pedículo ovariano pode ter levado a um maior período de inflamação.

Nos parâmetros glicose e hemácias observamos diferença significativa apenas nos momentos 12 e 24 horas. Houve uma diminuição progressiva da concentração de glicose no líquido peritoneal até as 24 horas posteriores à cirurgia, seguido por elevação até atingir os valores de PO no momento 10d para o grupo bisturi e 30 dias para o grupo clipe. Foi observado comportamento parecido para o parâmetro pH. Isso se deu devido à inflamação.

Já na avaliação citológica o tipo celular prevalente foi o neutrófilo, seguido por linfócitos, macrófagos e eosinófilos. Este comportamento é semelhante ao que ocorre no líquido peritoneal de jumentos (Louro et al. 2006). As células mononucleares e linfócitos apresentaram diferença apenas no momento 24 horas, enquanto que células nucleadas, segmentados, eosinófilos e células mesoteliais reativas não apresentaram diferença entre os momentos. Os macrófagos apresentaram diferença apenas no momento 3 dias.

CONCLUSÕES

A técnica de ovariectomia por videolaparoscopia descrita aqui é de fácil execução, a partir de treinamento e experiência. O método de hemostasia fazendo uso de bisturi ultrassônico, demonstrou ser menos eficiente que o uso do clampeamento com grampos.

As mulas ovariectomizadas não apresentaram sinais de estro até 60 dias do procedimento cirúrgico.

REFERÊNCIAS

- Baker, D.C. Diagnóstico dos Distúrbios Hemostáticos. In: Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., Denicola, D., Fettman, M. J., Lassen, E. D., Rebar, A. & Weiser, G. 2007. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 1rd ed, Roca, (14): 186.
- Dechant, J.E. & Handrickson, D.A. 2000. Standing female equine urogenital endoscopic surgery. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, 2(16):301-315.
- Di Filippo, P. A., Mascarenhas, L. S., Gomes, F. R., Rodrigues, A. B. F., Carvalho, R. S. & Graça, F. A. S. 2016. Efeitos da castração sobre características físico-químicas e celulares do Líquido Peritoneal de Equinos. Veterinária Notícias, 22(2):24-32.
- Di Filippo, P.A., Santana, A.E., Nogueira, A.F.S., Anai, L.A. & Campos Filho, E. 2009. Características celulares e bioquímicas do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do duodeno, íleo e cólon maior. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 6(61):1281-1289.
- Hendrickson, D.A. 2006. Laparoscopic cryptorchidectomy and ovariectomy in horses. Veterinary Clinics Equine Practice, 22:777-798.
- Hermesdorff, G.E. 1956. Zootecnia Especial. In: Gênese e caracteres gerais. Imprensa Nacional do Rio de Janeiro, (1): 9-34.
- Roessner, H.A., Kurtz, K.A., Caron, J.P. 2015. Laparoscopic Ovariectomy Diminishes Estrus-Associated Behavioral Problems in Mares. Journal of Equine Veterinary Science 35:250-253.
- Louro, M. F. C., Dias, R. V. C. & Soto-Blanco, B. 2006. Avaliação do fluido peritoneal de asininos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(5):955-958.
- Lund, C.M., Ragle, C.A., & Lutter, J.D. 2014. Use of a motorized morcellator for elective bilateral laparoscopic ovariectomy in standing equids: 30 cases (2007-2013). Javma, 244(15):1191-1197.
- Moretti, T.B. *Desenvolvimento e caracterização do transdutor piezelétrico de potência e da pinça laparoscópica para o Projeto do Bisturi Ultrassônico Nacional*. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Pader, K., Lescun, T.B. & Freeman, L.J. 2011. Standing Ovariectomy in Mares Using a Transvaginal Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery (NOTES) Approach. Veterinary Surgery, 40:987-997.
- Pryor, P. & Tibary, A. 2005. Management of Estrus in the Performance Mare. Clinical Thechniques in Equine Practice, 4:197-209.
- Rocken, M., Mosel, P.G., Seyrek-Intas, K., Seyrek-Intas, D., Litzke, F., Verver, J. & Astrid, B.M. 2011. Unilateral and Bilateral Laparoscopic Ovariectomy in 157 Mares: A Retrospective Multicenter Study. Veterinary Surgery, 40:1009-1014.
- Rodgerson, D.H. & Loesch, D.A. Ovariectomy In: McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E. & Varner, D.D. 2011. Equine Reproduction. 2nd ed. Blackwell Publishing, 265:2564-2573.
- Seabaugh, K.A. & Schumacher, J. 2014. Urogenital surgery performed with the mare standing. Veterinary Clinic Equine, 30:191-209.

- Silva, L.A.F., França, R.O., Vieira, D., Garcia, A.M., Moura, M.I., Silva, M.A.M., Silva, E.B., Trindade, B.R. & Franco, L.G. 2007. Emprego da abraçadeira de náilon, do categut e do emasculador na hemostasia preventiva de ovariectomia em éguas. *Ciência Animal Brasileira*, 8(1):135-146.
- Smith, L.J. & Mair, T.S. 2008. Unilateral and bilateral laparoscopic ovariectomy of mares by electrocautery. *Veterinary Records*, 10(163):297-300.
- Tate, L.P, Fogle, C.A., Bailey, C.S., Tate, K.T. & Davis, J.W. 2012. Laparoscopic-Assisted Colpotomy for Ovariectomy in the Mare. *Veterinary Surgery*, 41:625-628.
- Valadão, C.A.A., Puelker, R.Z. & Souza, A.H. 2004. Características do líquido peritoneal de equinos normais **após** punção cecal percutânea. *Ciência Rural*, 34(6):1817-1820.
- Valente, P. P., Cattelan, J. W., Santana, A. E., Malheiros, E. B., Duarte, C. A., Rasera, L. & Aita, A. C. 2009. Concentrações de Fibrinogênio Plasmático, Fosfatase Alcalina sérica e do Fibrinogênio e Fosfatase Alcalina no fluido peritoneal de equinos submetidos à enterorrafias aposicional e invaginante no cólon descendente. *Nucleus Animalium*, 1(2):95-106.

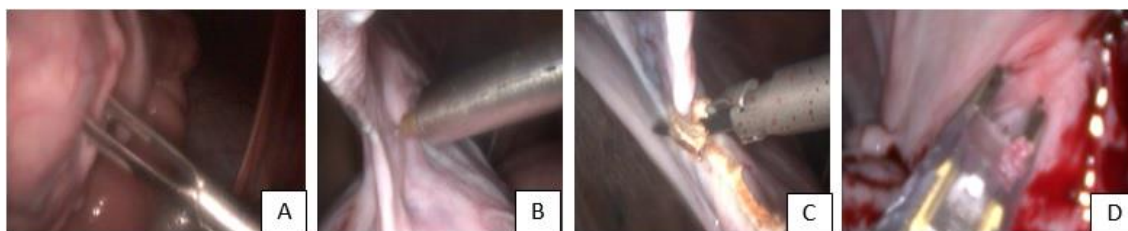


Figura 1. A: Apreensão do ovário com pinça laparoscópica; B: Bloqueio do pedículo ovariano; C: Corte e hemostasia com bisturi ultrassônico; D: Aplicação do grampo de titânio.

Capítulo 3

Revista escolhida: periódico científico Theriogenology:

Link: <<https://www.elsevier.com/journals/theriogenology/0093691x/guide-for-authors>>

COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE MULAS DURANTE O ESTRO

F.H.B.Ximenes^a

^a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu - SP

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento reprodutivo de mulas durante a rufiação com garanhão equino, nas diferentes fases do ciclo estral. Foram utilizadas 10 mulas, com idade de $7,9 \pm 3,2$ anos, pesando 352 ± 76 kg, durante o período de outubro a dezembro de 2016. A avaliação foi realizada a partir de um modelo de observação com os animais soltos. Consistiu na observação dos sinais de aproximação do macho (AM), movimentos mastigatórios (MM), abaixar de orelhas (AO), micção frequente (MF), movimentação dos lábios vulvares e exposição do clitóris (MV), levantamento de cauda (LC) e imobilidade (IM). Realizou-se exame de ultrassonografia do trato reprodutivo para avaliação do desenvolvimento folicular. Nos casos positivos avaliou-se a dinâmica de crescimento e o momento da ovulação. As variáveis foram descritas pela média, desvio padrão, mínima, mediana e máxima. Foi avaliada correlação não paramétrica de Spearman, ajustando-se um modelo de regressão de Poisson multivariado para cada evento. A duração do estro foi de $6,4 \pm 1,4$ dias. As ovulações, quando presentes, ocorreram $5,3 \pm 2,6$ dias após o início dos sinais de estro. Observou-se que a frequência de manifestação de sinais de estro, aumenta do 1º ao 4º dia de observação, seguido de um período de estabilidade entre o 4º e 5º dia e posterior declínio até o 8º dia. Os sinais que apresentaram maior correlação foram MF e LC (0,79) e IM e LC (0,76) enquanto que os que apresentaram menor correlação foram AM e LC (0,26) e AM e MF

(0,29). Das nove mulas avaliadas, 10% (1/9) não apresentou qualquer manifestação compatível com o estro.

Palavras-chave: etologia; muares; reprodução; rufiação, endocrinologia, ciclo estral.

Introdução

Muares são animais híbridos, provenientes do cruzamento entre jumentos (*Equus asinus*) e éguas (*Equus caballus*). As fêmeas são comumente chamadas de mulas e os machos de burros. Existem também os híbridos do cruzamento entre cavalos (*Equus caballus*) e jumentas (*Equus asinus*), em menor volume, que são denominados bardoto para o macho e bardota para a fêmea [1].

O Brasil ocupa a terceira posição em números de muares no âmbito mundial, com 1.269.200 cabeças, ficando atrás da China ocupante do segundo lugar e do México que detém o maior rebanho mundial de muares [5].

O registro genealógico de burros e mulas provenientes do cruzamento entre jumentos da raça Pêga é realizado por técnicos da Associação Brasileira de Criadores do Jumento Pêga (ABCJPêga), que possui um padrão definido, além de categorias que variam de acordo com a raça da reprodutora que deu origem ao luar [13].

Os muares tiveram grande importância na história do Brasil, particularmente no transporte de minérios, café e mais tardiamente açúcar. Isso se deve a rusticidade, força e inteligência desses animais [15].

Mesmo com a mecanização dos transportes, a produção de muares ainda constitui uma atividade economicamente importante no Brasil. Comumente esses animais são utilizados na tração, no manejo com o gado, e mais recentemente em provas de marcha e cavalgadas [3].

Existem relatos da dificuldade de manejo e utilização de mulas para o trabalho durante o período de estro, e algumas vezes fora dele, sugerindo que estes animais apresentam um comportamento estereotipado.

Pryor e Tibary (2005) relataram que muitas éguas podem ter o desempenho atlético prejudicado pelo estro, comportamento de agressividade e presença de dor [14].

Muitos autores produziram trabalhos completos acerca do comportamento reprodutivo de jumentas e éguas, porém não encontramos na literatura nenhum estudo sobre mulas, apenas relatos informais e sem qualquer cunho científico [2,4,7,11,12]. Segundo González et al. (2015) o conhecimento reprodutivo sobre as mulas está vinculado com a infertilidade e ausência de atividade ovariana, porém é notável a dificuldade na obtenção de material científico relacionado ao trato reprodutivo [6].

Este trabalho teve por objetivo o estudo do comportamento sexual expressado pelas mulas na presença de um garanhão, durante as diferentes fases do ciclo estral, correlacionando com os achados de dinâmica folicular e dosagem de hormônio progesterona (P4) e estradiol (E2).

Material e métodos

Seleção de animais e delineamento experimental

Este experimento foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, campus de Botucatu, protocolo nº138/2016 – CEUA.

O trabalho foi conduzido nas dependências do CERBEQ (Centro de Reprodução e Biotecnologia Equina – FMVZ/UNESP), no período de outubro a dezembro de 2016. Para tanto, foram utilizadas 10 mulas, com idade de $7,9 \pm 3,2$ anos, pesando 352 ± 76 kg, submetidos a exame citogenético, pela técnica de cultivo de linfócitos de sangue periférico e análise dos cromossomos por coloração convencional de Giemsa, a fim de caracterizar a espécie híbrida. O exame de cariotipagem evidenciou $2n = 63$ e ausência de pareamento cromossômico, o que ocorre em animais provenientes do cruzamento de espécies distintas, confirmando que todos os animais utilizados no experimento foram fêmeas muas (Figura 1).

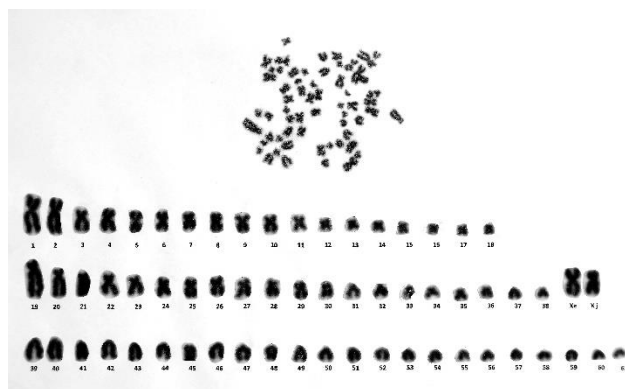


Figura 1. Montagem do cariótipo de uma mula do grupo experimental evidenciando $n = 63$.

Os animais foram mantidos em piquetes e foram submetidos a um período de adaptação de 30 dias para adequação alimentar, entre animais e ao ambiente, imunização e desverminação. O manejo nutricional baseou-se na administração de pré-secado de tifton 85 que foi oferecido duas vezes ao dia, suplemento mineral¹ e água *ad libitum*.

Após período de adaptação os animais passaram para a etapa de observação de comportamento reprodutivo que foi realizado na presença de um garanhão da espécie equina e acompanhamento da dinâmica folicular por meio de palpação e ultrassonografia transretal. Os animais foram divididos em dois grupos de cinco, de acordo com a afinidade observada entre eles, visando melhor observação do comportamento. Ambos os grupos foram avaliados diariamente, no período matutino durante 10 minutos. Os animais foram deixados livres para manifestar sinais compatíveis com estro, visto que na avaliação individual com contenção poderia manifestar sinais pouco fidedignos.

Avaliações realizadas

A avaliação consistiu da observação de sinais compatíveis com o estro. Inicialmente utilizou-se sinais característicos da espécie equina [10] e posteriormente buscou-se adaptação para mulas com base na espécie asinina [8].

Dois observadores treinados foram dispostos em locais opostos da área destinada a rufiação (Figura 2) e os dados de frequência da manifestação dos eventos de comportamento reprodutivo foram anotados diariamente, em ficha

¹ Guabiphos Centauro 80, Sales Oliveira, São Paulo - Brasil

individual (Apêndice 1). Independentemente da manifestação de sinais, todos os animais foram avaliados por todo período de estudo.

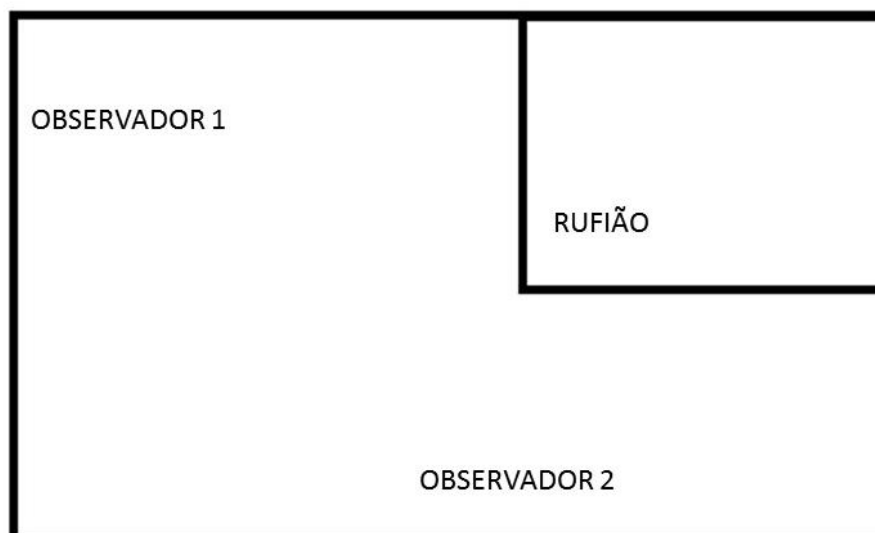


Figura 2. Modelo mimetizando área de rufiação das mulas.

Os sinais avaliados foram aproximação do macho (AM), movimentos mastigatórios (MM), abaixar de orelhas (AO), micção frequente (MF), movimentação dos lábios vulvares e exposição do clitóris (MV), levantamento de cauda (LC) e imobilidade diante do macho (IM) (Fig. 3). Nenhum evento isolado foi computado, portanto para análise dos dados considerou-se como comportamento de estro apenas quando existia associação de pelo menos dois sinais.



Figura 3. Características de comportamento durante o estro de mulas. A: abaixamento das orelhas; B: aproximação do macho; C: Movimentação dos lábios vulvares e exposição do clitóris; D: Elevação da cauda; E: movimentos mastigatórios; F: micção frequente.

Imediatamente após, os animais foram conduzidos aos bretes de contenção coletivo (Fig. 4), onde realizou-se exame do trato reprodutivo, pela palpação e ultrassonografia transretal. Avaliou-se a presença de edema uterino, dinâmica de crescimento folicular e ovulações. Apenas o ciclo que culminou na ovulação foi avaliado estatisticamente, e cada animal foi avaliado em apenas um ciclo. Para animais que não ovularam, foram avaliadas três ondas foliculares subsequentes.

Análise estatística

As variáveis foram descritas pela média, desvio padrão, mínima, mediana e máxima. Construiu-se uma tabela de correlação não paramétrica de Spearman, ajustou-se o modelo de regressão de Poisson multivariado para cada evento, para estudar as contagens dos eventos observados nos diferentes momentos. Considerou-se diferenças estatísticas significativas quando o valor p for $\leq 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas no software estatístico SAS versão 9.3.

Resultados

A duração do estro foi de $6,4 \pm 1,4$ dias, sendo que duas mulas (20%) não apresentaram comportamento de estro durante o período avaliado ou apresentaram eventos isolados e seus resultados não foram incluídos no estudo. As ovulações ocorreram $5,3 \pm 2,6$ dias após o início dos sinais de estro. Não encontramos qualquer dificuldade para realização dos exames de palpação retal e ultrassonografia.

Os valores de correlação da manifestação dos eventos de comportamento podem ser observados na Tabela 1. Tendo em vista a avaliação da expressividade da correlação linear, considera-se como correlação forte quando o coeficiente de determinação (r) for $\geq 0,5$, correlação moderada ($r \geq 0,4 < 0,5$) e correlação fraca ($r < 0,4$) [9].

Para fins de análise estatística, foram avaliados 41 dias que corresponderam a soma de todos os dias em que foram observados sinais de estro.

Tabela 1. Análise de correlação linear da manifestação dos eventos de comportamento relacionados ao estro, correlação de Spearman (n=41).

	LC	MV	MM	MF	AO	AM	IM
LC	---	0,67*	0,73*	0,79*	0,74*	0,25	0,76*
MV	0,67*	---	0,55*	0,72*	0,62*	0,36*	0,53*
MM	0,73*	0,55*	---	0,72*	0,74*	0,33*	0,70*
MF	0,79*	0,72*	0,72*	---	0,63*	0,29	0,74*
AO	0,74*	0,62*	0,74*	0,63*	---	0,45*	0,69*
AM	0,25	0,36*	0,33*	0,29	0,45*	---	0,36*
IM	0,76*	0,53*	0,70*	0,74*	0,69*	0,36*	---

LC: levantamento de cauda / MV: movimentação dos lábios vulvares / MM: movimentos mastigatórios / MF: micção frequente / AO: abaixar das orelhas / AM: aproximação do macho / IM: imobilidade

* valor de $p < 0,05$.

A partir da avaliação da estatística descritiva da manifestação dos eventos de comportamento durante o estro (Tabela 2) foi construído o gráfico (Fig. 5) com base na média. Observou-se que a manifestação aumenta do 1º ao 4º dia de observação, seguido de um período de estabilidade entre o 4º e 5º dia e posterior declínio até o 8º dia.

Tabela 2. Média da frequência de manifestação dos eventos do estro

Dia	LC	MV	MM	MF	AO	AM	IM
1	0,83	2,16	1,16	0,66	1,16	2,00	0,33
2	2,50	8,00	5,00	2,50	3,50	3,50	1,33
3	2,50	6,17	5,00	2,00	3,50	2,83	1,16
4	5,17	7,17	7,17	3,50	5,83	4,33	3,16
5	3,66	7,33	3,83	2,50	5,16	4,50	2,66
6	2,67	3,00	4,67	1,83	4,33	3,16	2,67
7	3,67	3,33	7,33	2,00	3,33	3,00	3,33
8	1,50	5,50	4,50	3,50	1,50	4,00	3,00

LC: levantamento de cauda / MV: movimentação dos lábios vulvares / MM: movimentos mastigatórios / MF: micção frequente / AO: abaixar das orelhas / AM: aproximação do macho / IM: imobilidade

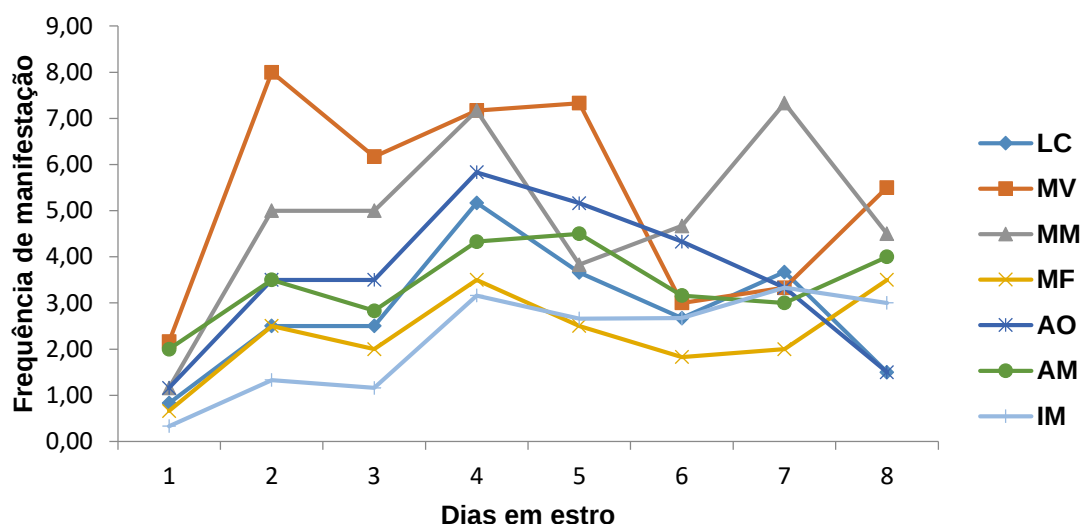


Figura 4. Média da frequência de manifestação de eventos de comportamento reprodutivo durante o estro. (N=41)

Discussão

O comportamento do estro é observado em éguas durante 5 a 7 dias, em média, com variações extremas de 3 a 12 dias, que podem estar relacionadas a fatores individuais do animal, estação de monta, proximidade do garanhão e proximidade de outros cavalos [6].

Durante o estro as éguas manifestam comportamento de levantamento da cauda, ficam paradas para serem montadas, urinam com frequência e movimentam o clitóris. Já no diestro, quando na presença do garanhão tendem a escoicear, movimentar a cauda ou abaixamento, movimentam-se, não aceitam

a monta, relinçam e abaixam a orelha [6], sendo este último evento diferente do observado nas mulas, já que abaixam as orelhas em sinal de receptividade ao garanhão.

Dentre as diversas técnicas utilizadas para avaliação do estro de éguas, a “provocação” foi descrita como eficiente para aqueles animais que não possuem interação direta. Neste caso, a égua é colocada em contato com um garanhão limitados por uma separação, podendo ser uma cerca ou a porta de uma baia. Avalia-se as respostas da égua aos estímulos do garanhão, sendo considerado comportamento compatível com diestro quando a égua tenta evitar o garanhão e as respostas agressivas como gritar e bater. Em contrapartida quando em estro a égua assumirá posição de receptividade, micção e relaxamento da musculatura da face [4].

Godderidge et al (2018) avaliaram através de questionário enviado a proprietários de mulas, quais os principais problemas enfrentados durante o estro e quais manifestações de comportamento reprodutivo, 36% micção, 21% mastigação, 17% balançar a cauda, 14% outros e 11% de problemas de desempenho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARAUJO, G.H.M.; MOYA-ARAÚJO, C.F. Particularidades e possíveis vantagens no uso de mulas como receptoras de embriões. *Revista Brasileira de reprodução Animal*, v.39, n.1, p.220-222, 2015.
- [2] CANISSO, I.F.; CARVALHO, G.R.; DAVIES MOREL, M.C.G.; GUIMARÃES, J.D.; McDONNELL, S.M. Sexual behavior and ejaculate characteristics in Pêga donkeys (*Equus Asinus*) mounting estrous horse mares (*Equus caballus*). *Theriogenology*, n.73, p.56-63, 2010.
- [3] CARVALHO, L.E. **Características físicas e fecundidade do sêmen de jumentos coletado de forma fracionada e preservado resfriado a 5°C**. 2011. 357p. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2011.
- [4] CROWELL-DAVIS, S.L. Sexual behavior of mares. **Hormones and Behavior**, n.52, p.12-17, 2007.
- [5] **Food and Agriculture Organization (FAO)**, United Nations, Rome. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>>. Acesso em: 04/03/2017.
- [6] GINTHER, O.J. Reproductive Biology in the Mare: Basic and Applied Aspects (ed 2). Cross Plains, WI, Equiservices, 1992.
- [7] GONZÁLEZ, S.M.; SILVA, C.B.; MACHADO, F.Z.; GONÇALVES, G.R.; SILVA-SANTOS, K.C.; SENEDA, M.M. Granulosa cells tumor in mules. **Revista acadêmica de ciências animais**, n.13, p.89-93, 2015.
- [8] HENRY, M.; LODI, L.D.; GASTAL, M.M.F.O. Sexual behavior of domesticated donkeys (*Equus asinus*) breeding under controlled or free range management systems. **Applied Animal behavior Science**, n.60, p.263-276, 1998.
- [9] HENRY, M.; LAGO, L.A.; MENDONÇA, L.F. Asininos: animais com características sociais e reprodutivas próprias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.4, p.223-230, 2009.
- [10] HULLEY, S.B.; CUMMINGS, S.R.; BROWNER, W.S.; GRADY, D.; HEARST, N.; NEWMAN, T. B. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. Ed.2. Porto Alegre: Editora Artmed, 2003.
- [11] McCUE, P.M., SCOGGIN, F.C, LINDHOLMIN, A.R.G. **Estrus** In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2ª Ed. Blackwell Publishing, 2011, cap.179, p.1716-1727.
- [12] McDONNELL, S.M. Reproductive behavior of donkeys (*Equus asinus*). **Applied Animal Behavior Science**, n.60, p.277-282, 1998.
- [13] McDONNELL, S.M. Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding. **Animal Reproduction Science**, n.60-61, p.211-219, 2000.

[14] MUARES. População de jumentos e muares do Brasil e outros países. Disponível em: <<http://www.mulaseburrosvbo.com.br/populacaojumentos.html>>. Acesso em: 04.04.2017.

[15] PRYOR, P.; TIBARY, A. Management of Estrus in the Performance Mare. **Clinical Thechniques in Equine Practice**, n.4, p.197-209, 2005.

[16] SUPRINYAK, C.E. Tropas conduzidas pela barreira de Itapetininga e o comportamento do mercado de muares, 1854-69. **História econômica & história de empresas**, v.9, n.2, 2006. P.49-72.

Anexo I

Tabela 1 – Valores de média e desvio padrão dos valores de avaliação bioquímica e contagem global de células

		PO	12H	24H	3D	5D	7D	10D	30D	60D
pH	Bisturi	8,3±DP Aa	7,6±DP Ab	7,8±DP Aab	8,1±DP Aab	8±DP Aab	8,1±DP Aab	8±DP Aab	8±DP Aab	8±DP Aab
	Clipe	8,4±DP Aa	8±DP Aab	7,8±DP Ab	8,2±DP Aab	8±DP Aab	7,8±DP Ab	8±DP Aab	8±DP Aab	8±DP Aab
Densidade	Bisturi	1010 ± 0 Aa	1027,3 ± 1,15 Ab	1029,3 ± 5,77 Ab	1026 ± 4 Ab	1024,7 ± 8,33 Ab	1022 ± 6 Ab	1018 ± 2 Aa	1013,3 ± 2,31 Aa	1009,3 ± 1,15 Aa
	Clipe	1009,3 ± 1,03 Aa	1027,7 ± 6,62 Ab	1026 ± 6,07 Ab	1020 ± 2,19 Ab	1021,3 ± 4,5 Ab	1020,3 ± 3,44 Ab	1019,7 ± 3,67 Ab	1012,3 ± 1,51 Aa	1010,3 ± 0,816 Aa
PT	Bisturi	0 ± 0 Aa	3,733 ± 0,231 Ab	4,6 ± 0,4 Ab	4,133 ± 0,115 Ab	3,133 ± 1,102 Ab	2,733 ± 0,945 Aa	1,13 ± 1,96 Aa	0 ± 0 Aa	0 ± 0 Aa
	Clipe	0 ± 0 Aa	3,6 ± 1,345 Ab	3,2 ± 1,688 Ab	1,533 ± 1,204 Aa	1,833 ± 1,525 Aa	1,533 ± 1,224 Aa	1,967 ± 1,015 Aa	0 ± 0 Aa	0 ± 0 Aa
Fibrinogênio	Bisturi	0 ± 0 Aa	133,3 ± 115,5 Aa	200 ± 346 Aa	133,3 ± 115,5 Aa	200 ± 200 Aa	66,7 ± 115,5 Aa	66,7 ± 115,5 Aa	0 ± 0 Aa	0 ± 0 Aa
	Clipe	0 ± 0 Aa	66,7 ± 103,3 Aa	133,3 ± 103,3 Aa	100 ± 167,3 Aa	100 ± 109,5 Aa	33,3 ± 81,6 Aa	133,3 ± 103,3 Aa	0 ± 0 Aa	0 ± 0 Aa
Glicose	Bisturi	2 ± 0 Aa	0,667 ± 1,155 Aa	0,333 ± 0,577 Aa	1 ± 1 Aa	1,333 ± 1,155 Aa	1,667 ± 0,577 Aa	2 ± 0 Aa	2 ± 0 Aa	2 ± 0 Aa
	Clipe	2 ± 0 Aa	1 ± 0,632 Aa	0,833 ± 0,753 Aac	1,333 ± 0,816 Aa	1,667 ± 0,516 Aa	1,333 ± 0,516 Aa	1,667 ± 0,516 Aa	2 ± 0 Aa	2,167 ± 0,408 Aad
Sg oculto	Bisturi	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	2,667 ± 1,528
	Clipe	3,667 ± 0,516	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	3,333 ± 1,211	3 ± 0,894
Hemácias	Bisturi	3647 ± 4607 Aa	3979800 ± 1329794 Ab	3179150 ± 1172553 Aa	1792700 ± 2973466 Aa	993300 ± 1698625 Aa	149083 ± 236569 Aa	10467 ± 8212 Aa	3150 ± 776 Aa	783 ± 1314 Aa
	Clipe	2073 ± 2694 Aa	2984850 ± 2048061 Ab	3934992 ± 1985091 Ab	1268617 ± 1009860 Aa	391618 ± 249600 Aa	105273 ± 50453 Aa	160228 ± 210519 Aa	5504 ± 8771 Aa	1983 ± 4373 Aa
Cel nucleadas	Bisturi	535 ± 383	27606 ± 19373	40442 ± 25704	33862 ± 41607	22700 ± 12257	13633 ± 6 Ab	13967 ± 8585	1687 ± 813	453 ± 205
	Clipe	640 ± 312	27956 ± 14775	67666 ± 103482	28918 ± 23173	25814 ± 15661	36297 ± 25133	37407 ± 32185	3123 ± 1495	988 ± 406
Segmentados	Bisturi	325 ± 210	21673 ± 12514	32738 ± 19552	27936 ± 36806	18075 ± 11422	10595 ± 7299	8971 ± 5807	1081 ± 621	258,8 ± 133,3
	Clipe	407 ± 263	22449 ± 13228	19403 ± 11954	22784 ± 19489	20667 ± 14316	30977 ± 24395	34008 ± 30414	1945 ± 1247	507 ± 310
Macrófagos	Bisturi	11,8 ± 4,7 Aa	224 ± 253 Aa	358 ± 330 Aa	492 ± 361 Aa	903 ± 868 Aa	356,5 ± 169 Aa	209,3 ± 121 Aa	74,9 ± 48 Aa	26,8 ± 22,4 Aa
	Clipe	27,83 ± 17,08 Aa	415 ± 283 Aa	423 ± 345 Aa	1891 ± 1774 Aac	683 ± 836 Aa	781 ± 622 Aa	457 ± 346 Aa	200,4 ± 90,8 Aad	36,33 ± 9,49 Aad
Linfócitos	Bisturi	13,9 ± 13,08	604 ± 348	809 ± 514	531 ± 260	227 ± 122,6	284 ± 277	305 ± 319	54,7 ± 35,2	2,333 ± 1,041
	Clipe	24 ± 29,5	1001 ± 721	858 ± 626	732 ± 480	604 ± 560	666 ± 638	879 ± 993	157,3 ± 107,2	143,3 ± 76,2
Eosinófilos	Bisturi	3,2 ± 5,54	391 ± 534	187 ± 216	339 ± 416	122 ± 142,8	69,7 ± 86,5	55 ± 95,3	20,7 ± 35,8	0 ± 0
	Clipe	1,15 ± 2,82	88,5 ± 141,3	858 ± 626	137,3 ± 160,4	436 ± 736	158 ± 193,9	13,88 ± 21,51	5 ± 12,25	0,75 ± 1,837
cel mesot reativas	Bisturi	0 ± 0	0 ± 0	141 ± 245	334 ± 430	29 ± 50,2	14,2 ± 24,5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Clipe	0 ± 0	0 ± 0	16 ± 39,2	32,1 ± 78,6	47,9 ± 117,2	116 ± 283	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

*Letras minúsculas representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os momentos e letras maiúsculas, entre os tratamentos.

Anexo II



Figura 4 – Visualização do ovário de mula e estruturas adjacentes. Fixação através do ligamento mesossalpinge.

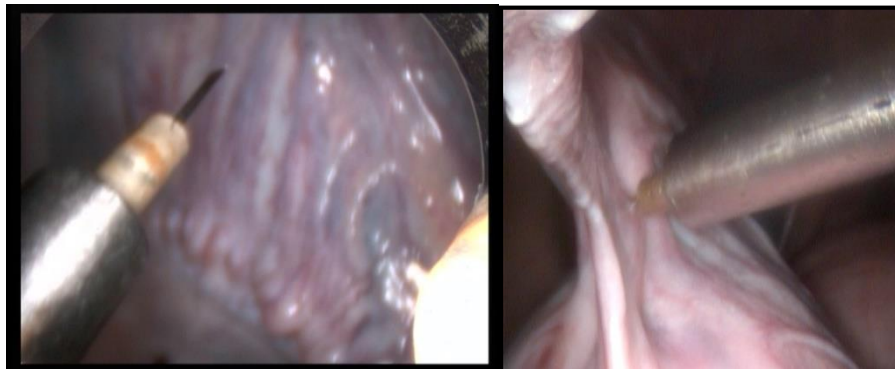


Figura 5 – Extremidade da pipeta para bloqueio do pedículo ovariano. Aplicação do bloqueio local com lidocaína 2%.

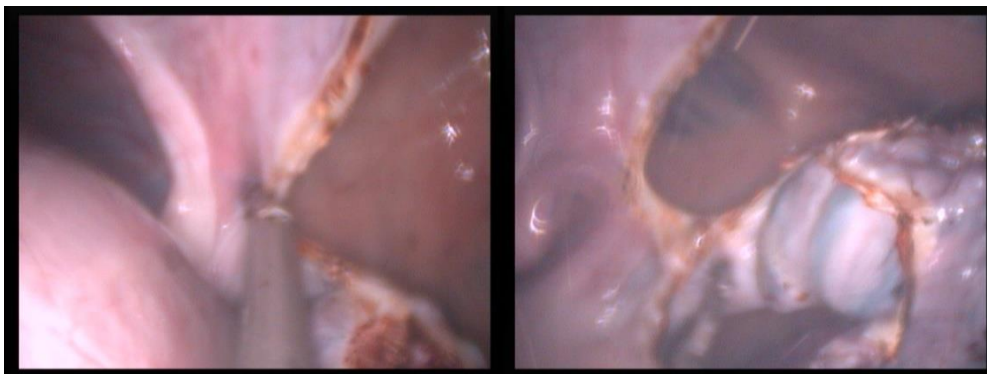


Figura 6 – Corte e hemostasia com uso do bisturi ultrassônico

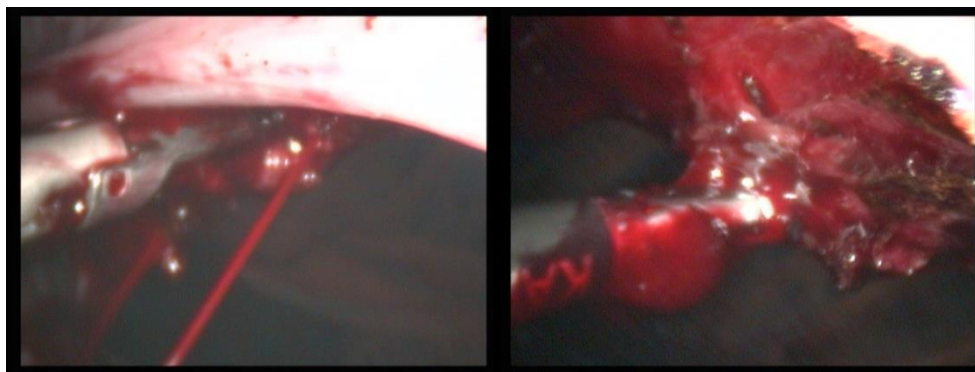


Figura 7 – Hemorragia da artéria ovariana. Hemostasia com auxílio de pinça.

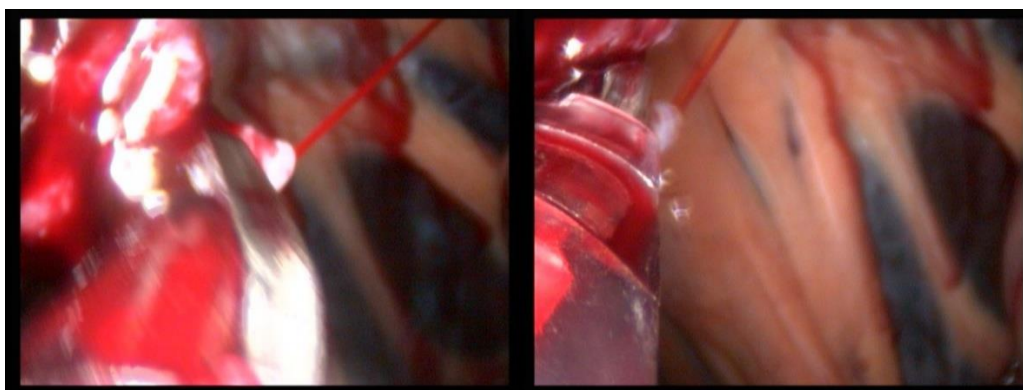


Figura 8 – Aplicação dos cliques de titânio.

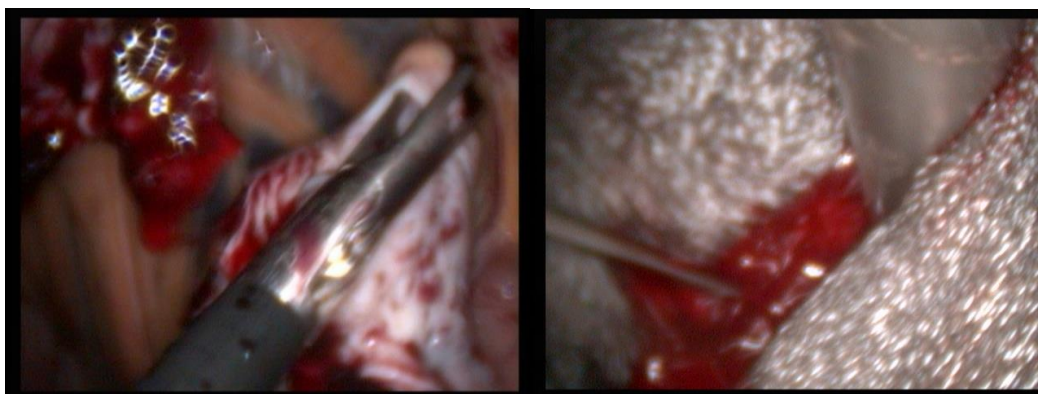


Figura 9 – Ovário após retirada, dentro do abdômem. Ampliação do acesso ventral para retirada do ovário.

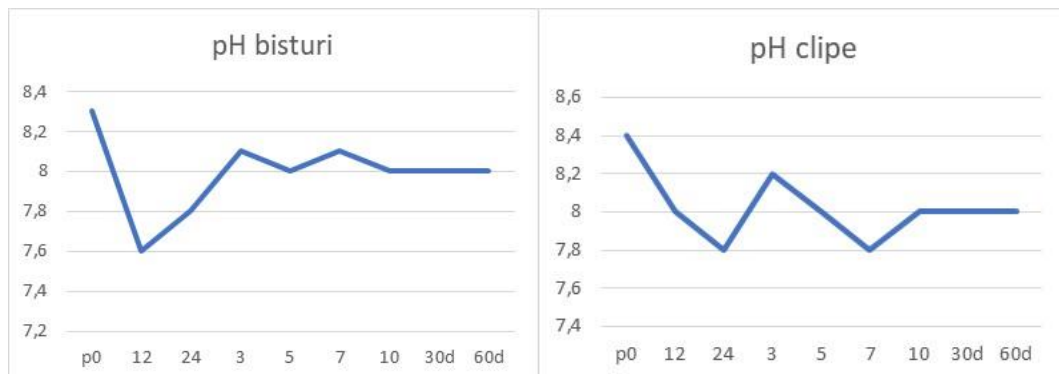


Figura 10 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de pH do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

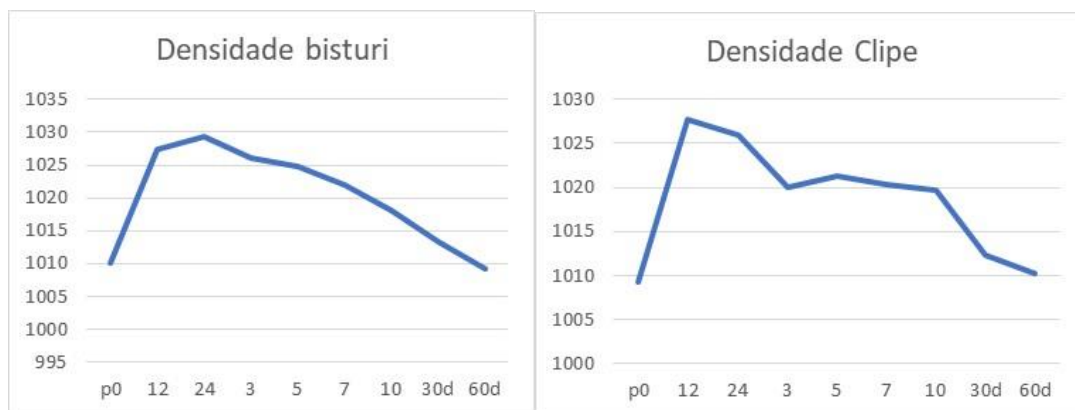


Figura 11 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de densidade do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

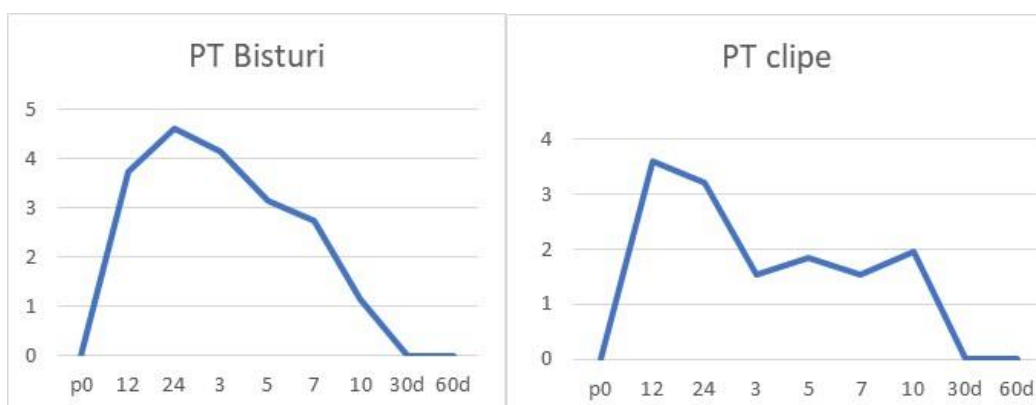


Figura 12 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de proteína total (PT) do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

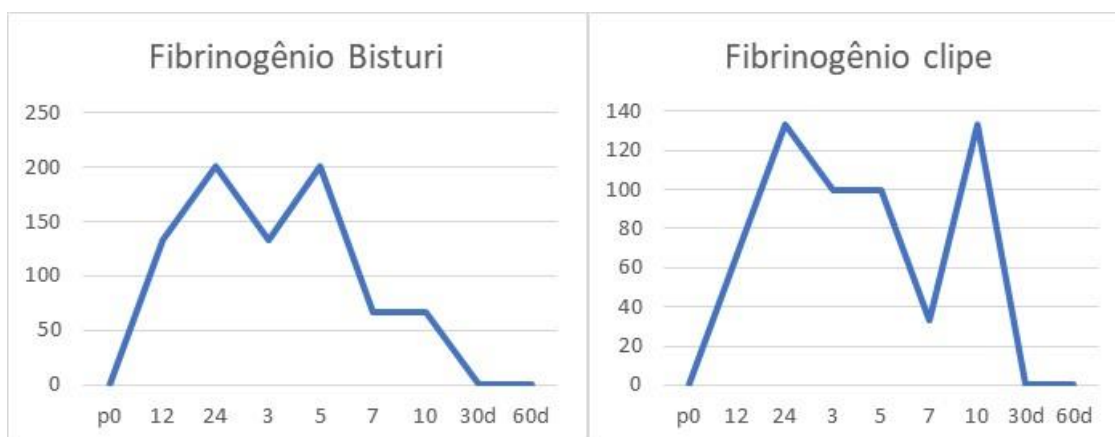


Figura 13 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de fibrinogênio do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

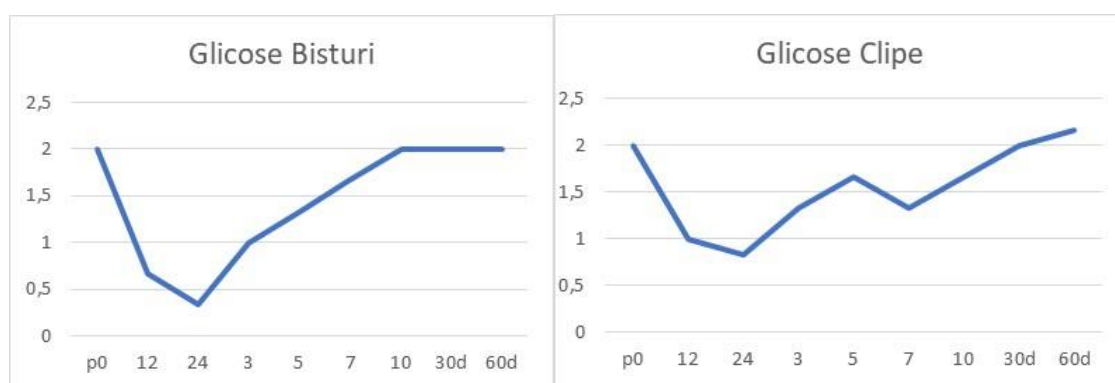


Figura 14 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de glicose do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

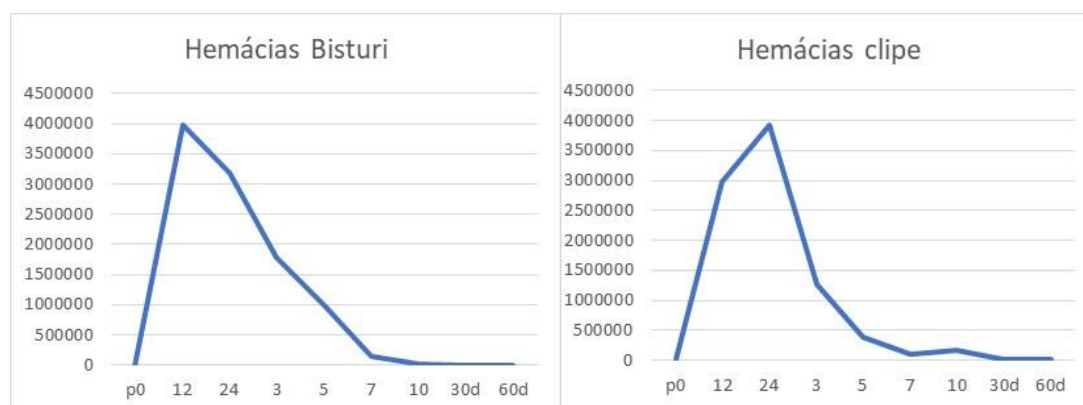


Figura 15 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de hemácias do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

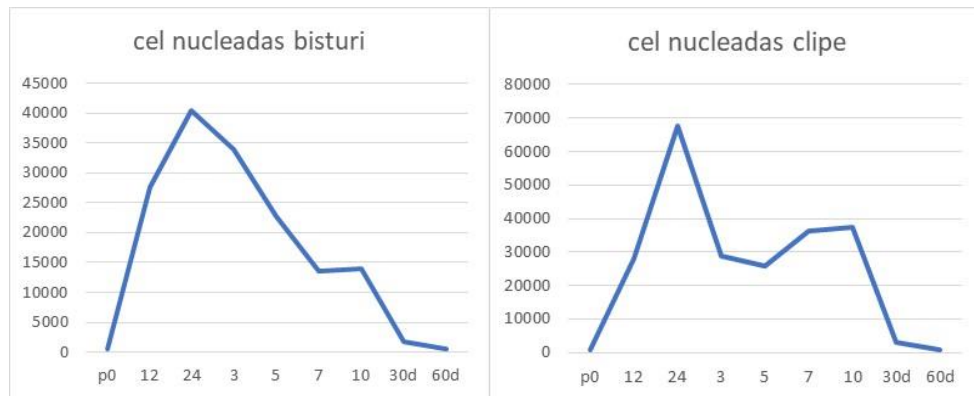


Figura 16 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de células nucleadas do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

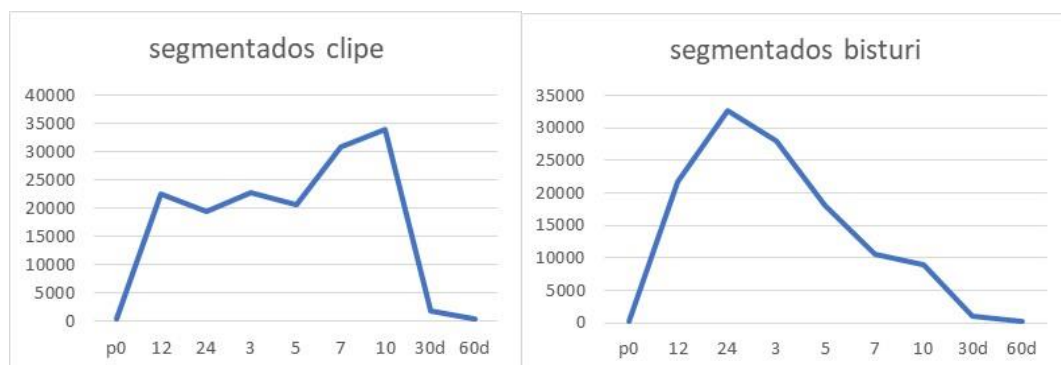


Figura 17 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de neutrófilos segmentados do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

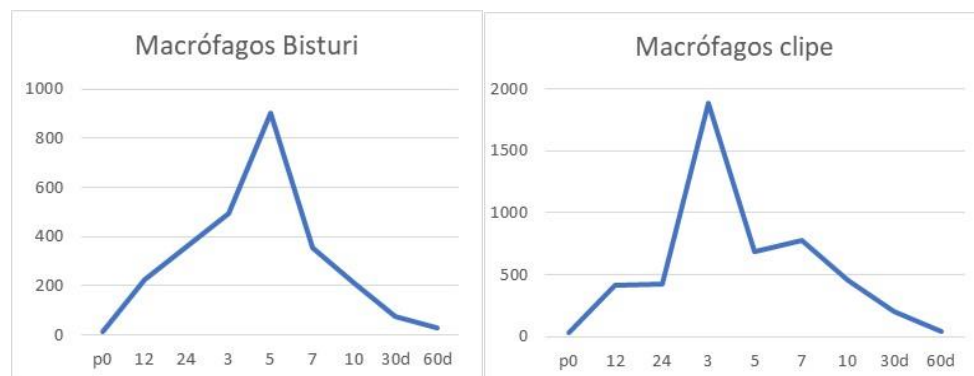


Figura 18 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de macrófagos do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

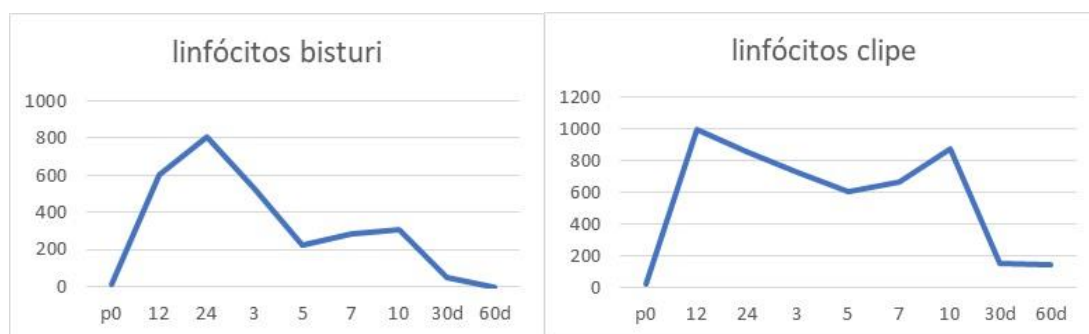


Figura 19 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de linfócito do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

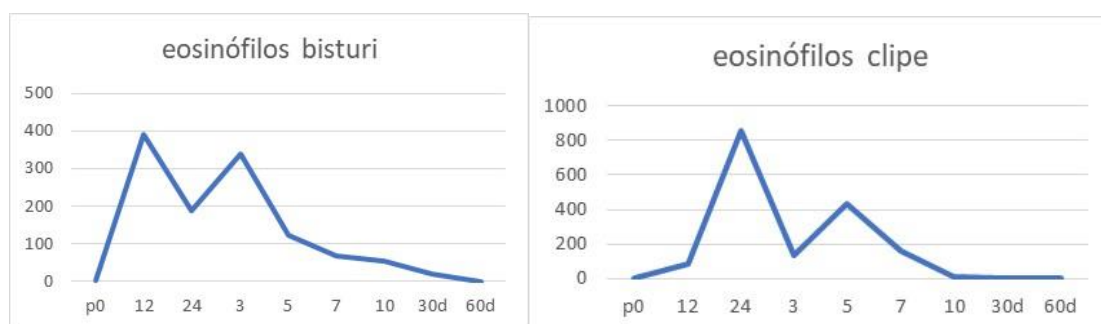


Figura 20 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de eosinófilos do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

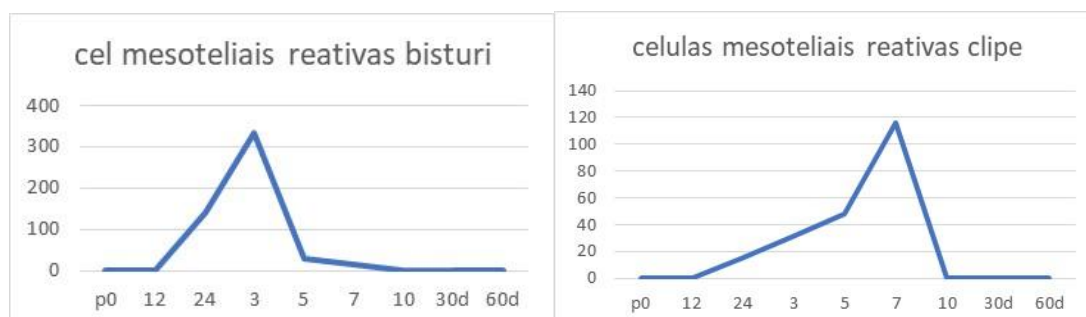


Figura 21 – Gráfico ilustrando o comportamento os valores de células mesoteliais reativas do líquido peritoneal ao longo do tempo, no grupo A e B.

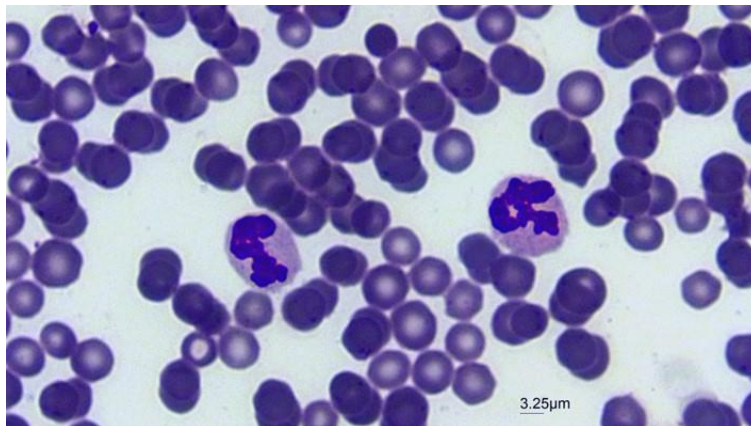


Figura 22 - Líquido peritoneal 24 horas pós-operatório (objetiva de 100x). Presença de grande quantidade de hemácias. Ao centro, dois neutrófilos segmentados.

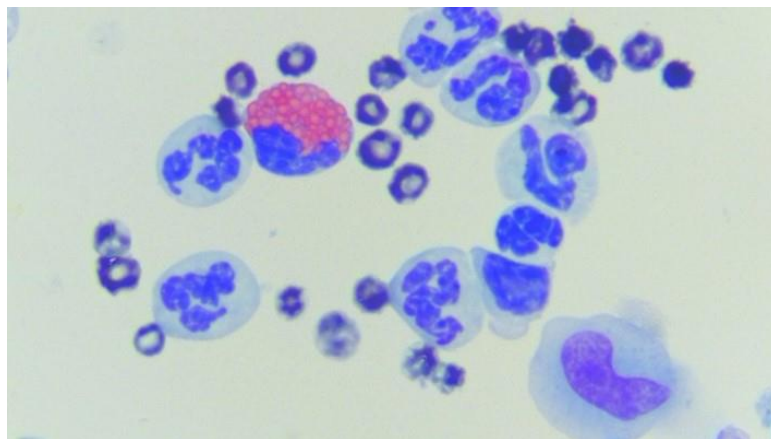


Figura 23 - Líquido peritoneal 7 dias pós-operatório (objetiva de 100x). Presença de células nucleadas com predomínio de neutrófilos segmentados, seguido em menor proporção por linfócitos típicos, células mononucleares e eosinófilos. Presença de moderada quantidade de hemácias.

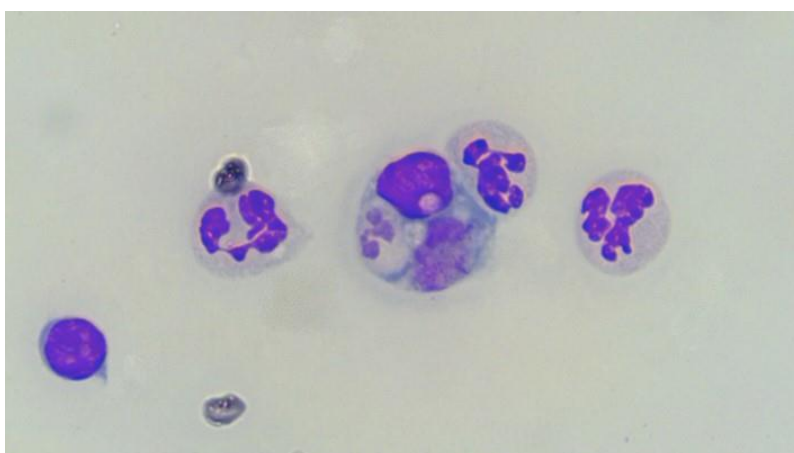


Figura 24 - Líquido peritoneal 30 dias pós-operatório (objetiva de 100x). Devido à baixa celularidade, foi utilizada a técnica de citocentrifugação para confecção das lâminas citológicas. As células nucleadas presentes são neutrófilos segmentados, linfócito e macrófago realizando leucofagocitose.

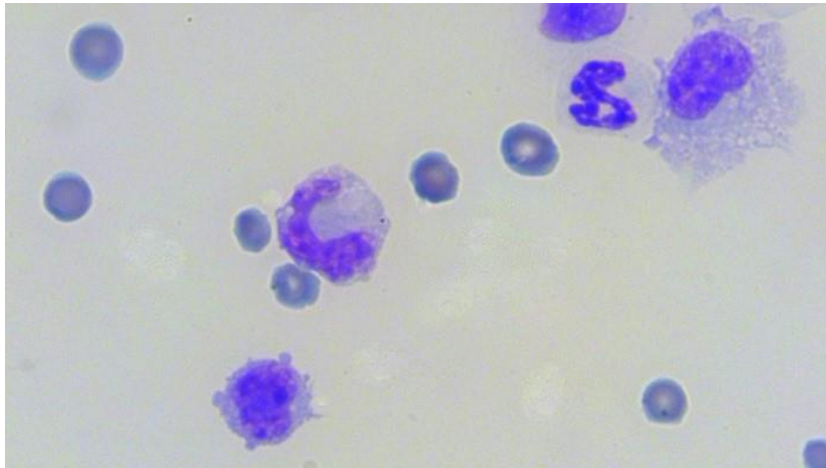


Figura 25 - Líquido peritoneal 60 dias pós-operatório (objetiva de 100x). Lâmina citológica confeccionada pela técnica de citocentrifugação. Na imagem é possível observar algumas hemácias, linfócito, neutrófilo segmentado, célula mononuclear (seta menor) e macrófago (seta maior).

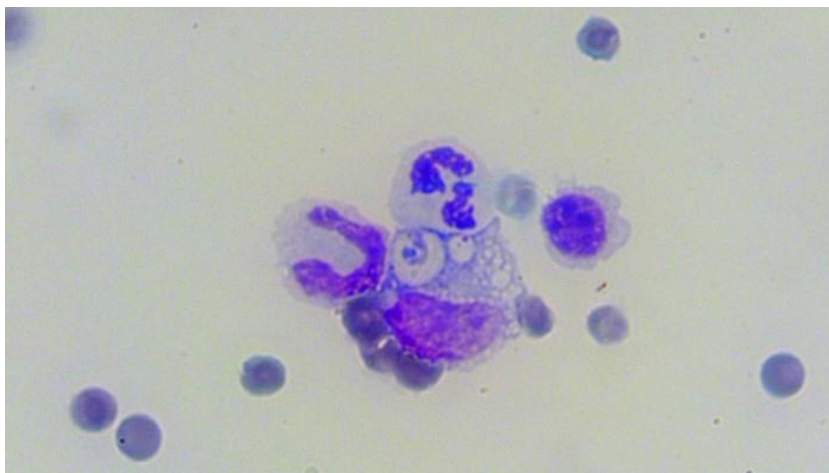


Figura 26 - Líquido peritoneal 60 dias pós-operatório (objetiva de 100x). Lâmina citológica confeccionada pela técnica de citocentrifugação. Na imagem é possível observar algumas hemácias, linfócito, neutrófilo segmentado, célula mononuclear, e ao centro macrófago com citoplasma espumoso e conteúdo amorfo fagocitado (citofagocitose).