

JOSÉ CARLOS FANTINI FILHO

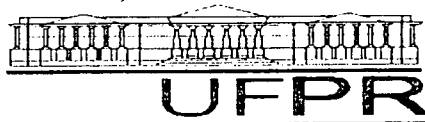
**HORMÔNIO CORIÔNICO GONADOTRÓFICO (hCG) NA FORMAÇÃO
DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO E SUA RELAÇÃO COM A TAXA DE
PRENHEZ EM BOVINOS DE CORTE.**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias, Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, Setor de Ciências
Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Ernandes Kozicki

CURITIBA

2004



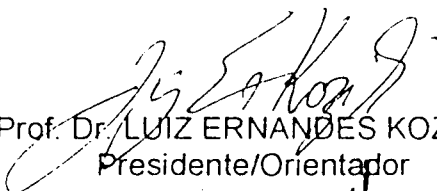
PARECER

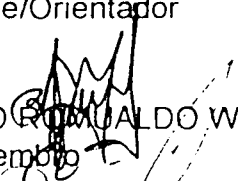
A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária **JOSÉ CARLOS FANTINI FILHO** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Dissertação, intitulada **“HORMÔNIO CORIÔNICO GONADOTRÓFICO (hCG) NA FORMAÇÃO DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO E SUA RELAÇÃO COM A TAXA DE PRENHEZ EM BOVINOS DE CORTE”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) O Candidato se houve muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 – CEPE considerou o candidato “Aprovado” concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária.

Curitiba, 19 de maio de 2004.


Prof. Dr. LUIZ ERNANDES KOZICKI
Presidente/Orientador


Prof. Dr. ROMILDO ROMUALDO WEISS
Membro


Profa. Dra. LUCIANA BATALHA DE MIRANDA
Membro

Ao meu falecido avô: Beno
Dirschnabel, por acreditar no meu
potencial.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, aos meus pais, José Carlos e Rosemari Fantini, aos meus sogros, José e Maria Gilda Fronczak e a minha namorada Maria Augusta Fronczak.

Agradeço também ao meu orientador, Luiz Hernandez Kozicki e ao professor Felipe Pohl de Souza, pela colaboração durante a realização dos trabalhos práticos e teóricos.

Aos proprietários rurais, Osni Klas e Licio Isfeld, pela cessão dos animais e das instalações para a realização dos trabalhos práticos, e de seus funcionários, Gilberto, Darci, Samuel, Francisco e Eder Carlos.

A CAPES pelo financiamento deste projeto e a UFPR pela realização desta importante etapa de minha vida profissional.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE GRÁFICOS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 RECONHECIMENTO MATERNO DA GESTAÇÃO.....	3
2.2 INTERFERON-TAU.....	5
2.3 FUNÇÃO INADEQUADA DO CORPO LÚTEO (CL).....	7
2.4 DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA.....	8
2.5 CARACTERÍSTICAS DO hCG.....	10
2.6 EFEITOS DO hCG.....	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 LOCAL, ANIMAIS E TRATAMENTOS.....	16
3.2 ULTRASSONOGRRAFIA OVARIANA.....	16
3.3 DOSAGEM DE PROGESTERONA PELO MÉTODO DA QUIMIOLUMINESCÊNCIA.....	17
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
CORPO LÚTEO ACESSÓRIO (CLA).....	19
DINÂMICA FOLICULAR E LUTEAL.....	20
CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA (P ₄).....	22
DURAÇÃO DO CICLO ESTRAL.....	26
PORCENTAGEM DE PREENHEZ.....	27
5 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA CORREÇÃO DA SUBFUNÇÃO DO CORPO LÚTEO MATERNO, SEGUNDO DIVERSOS AUTORES.....	8
TABELA 2 - ADMINISTRAÇÃO DO HORMÔNIO CORIÔNICO GONADOTRÓFICO EM DIFERENTES DIAS DO CICLO ESTRAL (DIA 0 = ESTRO), SEGUNDO DIFERENTES AUTORES.....	14
TABELA 3 - DADOS DA PORCENTAGEM DE FORMAÇÃO DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE 2.500 UI DE hCG, VIA INTRAMUSCULAR, EM NOVILHAS E VACAS DA RAÇA CARACÚ E CHAROLESA. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).....	19
TABELA 4 - VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE O DIÂMETRO MAIOR DO CLCB E DO FD DO DIA 7 E 13 APÓS A IA, DO DIÂMETRO MAIOR DO CLA E DE SEU DIÂMETRO EM RELAÇÃO AO DO CLCB DO DIA 13 APÓS A IA EM VACAS. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).....	20
TABELA 5 - VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DA IDADE DAS VACAS SOBRE O DIÂMETRO MAIOR DO CLCB DO DIA 13 APÓS A IA. PALMEIRA, (PR), 2003. (n = 62).....	22

TABELA 6 - VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DA PREENHEZ EM AMBOS OS GRUPOS, SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE P ₄ NO DIA 7, 13 E 24 APÓS A IA EM VACAS. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).....	23
TABELA 7 - VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE P ₄ NO DIA 7, 13 E 24 APÓS A IA. PALMEIRA, (PR) 2003 (n = 62).....	25

LISTA DE GRÁFICOS

GRAFICO 1 – CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE P ₄ PLASMÁTICA PARA AS VACAS DO GRUPO CONTROLE E TRATAMENTO (hCG) NOS DIAS 7, 13 E DIA 24 PRENHES E NÃO-PRENHES, APÓS A IA. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).....	24
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	- Análise de variância
CL	- Corpo lúteo
CLA	- Corpo lúteo acessório
CLCB	- Corpo lúteo do cio base
CLIA	- Quimioluminescência
E ₂	- Estradiol
FD	- Folículo dominante
GnRH	- Hormônio liberador de gonadotrofinas
hCG	- Hormônio coriônico gonadotrópico
IM	- intramuscular
LH	- Hormônio luteinizante
ME	- Mortalidade embrionária
P ₄	- Progesterona
PGF _{2α}	- Prostaglandina F2alpha
PR	- Paraná
RIA	- Radioimunoensaio
SAEG	- Sistema de análise estatística e genética
UI	- Unidades internacionais

RESUMO

No experimento foram utilizados 62 animais, sendo 31 da raça Charolesa e 31 da raça Caracú, inseminados. No dia 7 após a IA, as vacas foram divididas aleatoriamente em 2 grupos: tratado (n=32), que recebeu 2.500 UI de hCG (IM) e controle (n=30), que recebeu 1 ml de solução fisiológica estéril, (IM). Verificou-se com o ultrasson, a localização e o diâmetro: do CLCB nos dias 7 e 13 após a IA, do FD da primeira onda no 7º dia, do CLA, e do FD da segunda onda folicular. Coletaram-se amostras sanguíneas nos dias 7, 13 e 24 após a IA para a determinação da concentração de P_4 pelo método da quimioluminescência. Resultados: Trinta e um animais (96,87%) desenvolveram um CLA após a aplicação do hCG. O diâmetro do CLCB e do FD no dia 7 e 13 após a IA, não diferiram entre os grupos ($P>0,05$). O diâmetro do CLA no dia 13 após a IA diferiu ($P<0,05$) do CLCB da mesma idade nos animais tratados. Animais com 1 a 2 anos e aqueles com 5 a 6 anos de idade possuíram, respectivamente, o menor e o maior diâmetro de CLCB no dia 13 após a IA ($P<0,0001$). A concentração de P_4 no dia 7 não diferiu ($P>0,05$) entre os grupos, porém no dia 13 ($P<0,0001$) e 24 ($P<0,05$) observou-se diferença. A concentração de P_4 não diferiu ($P>0,05$) no dia 7 após a IA, entre os animais prenhes do grupo tratado e controle, assim como os não prenhes. No dia 13 a concentração de P_4 diferiu ($P<0,0001$) entre os animais prenhes do grupo tratado e controle e os não prenhes de ambos os grupos. No dia 24, observou-se diferença na concentração de P_4 ($P<0,05$) entre os animais prenhes do grupo tratado e controle, porém não foi observada diferença ($P>0,05$) entre os animais não prenhes. A duração do ciclo estral diferiu ($P<0,0001$) entre os animais tratados e controles (24,87 e 21,46 dias, respectivamente). A taxa de prenhez não diferiu ($P>0,05$) entre o grupo tratado e controle (40,62% e 23,33%, respectivamente). Pelos resultados obtidos concluímos que o tratamento com o hCG provocou a ovulação do FD da primeira onda folicular. O CLA tem um diâmetro menor do que o CLCB do mesmo ciclo ($P<0,0001$). Ocorreu um aumento na concentração de P_4 no dias 13 ($P<0,0001$) e 24 ($P<0,05$) após a IA para os animais tratados em relação aos controles. Os animais gestantes do grupo tratado tiveram maior concentração de P_4 do que os controles ($P<0,0001$). A duração do ciclo estral dos animais tratados foi prolongada em relação aos controles ($P<0,0001$). A administração de hCG aumentou a concentração de P_4 , porém não aumentou ($P>0,05$) as taxas de prenhez nos bovinos estudados.

Palavras-chave: hCG, corpo lúteo acessório, progesterona, fertilidade.

ABSTRACT

In the experiment were utilized 62 animals of Charoles (n=31) and Caracú (n = 31) breeds, artificially inseminated (AI). At 7th day after AI, the cows are aleatory divided in two groups: treated group (n=32), that receive 2.500 UI of human chorionic gonadotropin (hCG) intramuscular and control group (n=30), that receive 1.0 ml of intramuscular sterile physiologic solution. Ultrasound scanning was performed to access the location and size of the *Corpus luteum* (CL) of estrum at 7th and 13th day, dominant follicle (DF) of 1st and 2nd follicular wave at 7th and 13th day, respectively, and the diameter of accessory CL. Blood samples were collected at 7th, 13th and 24th day after AI for progesterone (P₄) analysis by chemiluminescent immunoassay. Results: Thirty one cows (96,87%) developed an accessory CL after hCG administration. The diameter of the CL from the basis estrum, DF of 1st and 2nd follicular wave at 7th and 13th day after AI weren't different (P>0,05) between the groups. The diameter of accessory CL at 13th day after AI was different (P<0,05) from the CL of the estrum with the same age, in treated group. Animals with 1-2 and 5-6 years old have, respectively, least and bigger diameter of the CL at 13th day (P<0,0001). P₄ concentrations didn't differ at 7th day (P>0,05) between the groups, however, was different at 13th day (P<0,0001) and 24th day (P<0,05) after AI. P₄ concentrations didn't differ (P>0,05) at 7th day, between treated and control pregnant and non-pregnant cows. However, at 13th day after AI, the P₄ concentrations differ (P<0,0001) between treated and control pregnant and non-pregnant cows. At 24th day, the P₄ concentrations differ (P<0,05) for treated and control pregnant cows, however didn't differ (P>0,05) between the treated and control non-pregnant cows. Estrous cycle length was different (P<0,0001) between treated and control groups (24,8 and 21,4 days, respectively). Pregnancy rate didn't differ (P>0,05) between treated and control groups (40,6 and 23,3%, respectively). We concluded that hCG treatment resulted in ovulation DF of 1st follicular wave. Accessory CL had fewer diameter than CL from basis estrum, with same age (P<0,0001). P₄ concentrations increase at 13th (P<0,0001) e 24th (P<0,05) day after AI, at treated cows with regard to control cows. Treated pregnant cows had more P₄ concentrations than control (P<0,0001). Estrous cycle length of treated cows was extended with regard to control cows (P<0,0001). The hCG administration increase P₄ concentrations, however didn't increase pregnant rates of experimental animals.

Key words: hCG, accessory CL, progesterone, fertility.

1 INTRODUÇÃO

A mortalidade embrionária (ME) é reconhecida como a maior causa de falhas reprodutivas em bovinos e perdas financeiras significativas para a indústria da carne e do leite. A ME refere-se especificamente às perdas decorrentes no período que se estende da fertilização ao completo estágio de diferenciação embrionária (em torno do 42º dia) (AYALON, 1978; DUNNE et al., 2000).

A maioria das perdas embrionárias ocorrem durante os primeiros dias após a fertilização e durante o processo de implantação (MAURER e CHENAULT, 1983), que em vacas inicia-se por volta do 22º dia de gestação (WATHES, 1992).

A ME tem sido estimada entre 20 e 40% em vacas (LÒPES-GATIUS et al., 1996) e a morte fetal ao redor de 5% (LAMBERT et al., 1991), podendo exceder a 10% (LÒPES-GATIUS et al., 1996). KASTELIC e GINTHER (1989) observaram que a morte embrionária, quando causada pela lise do CL, tem em média como intervalo para a próxima ovulação de 2,4 a 5 dias. Quando a ME é atribuída a problemas com o conceito, o intervalo médio entre a detecção da ME e da ovulação seguinte foi de 20,8 a 35 dias.

Em bovinos e em outros mamíferos o estabelecimento e a manutenção da prenhez depende da contínua secreção de P₄ pelo CL. Este processo deve continuar além do período quando a regressão luteal normalmente ocorre em ciclos reprodutivos sem a fecundação (WEISAK, 1989). Há uma ampla evidência, porém, sugerindo que uma proporção significativa de perda embrionária na maioria das espécies de mamíferos é atribuída à função luteal materna inadequada (LUKASZEWSKA e HANSEL, 1980; LAMMING et al., 1989).

A administração de fármacos, inclusive do hCG, tem sido utilizada para elevar a concentração plasmática de P₄ no intuito de reduzir a ME e possibilitar índices de prenhez superiores (BÓ et al., 1995; SCHMITT et

al., 1996a; GARCIA et al., 1999; BINELLI, 2000; SANTOS et al., 2001; BARUSSELLI et al., 2002).

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da administração de hCG no 7º dia após a IA em vacas, sobre a indução da ovulação, o número de CLAs e concentração plasmática de P_4 . Adicionalmente, pesquisou-se os efeitos do hCG sobre a taxa de concepção no 45º dia após a IA, e a determinação de P_4 sobre as taxas de prenhez em vacas e novilhas das raças Charolesa e Caracu, bem como buscou-se caracterizar as alterações provocadas pelo hCG na dinâmica folicular.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 RECONHECIMENTO MATERNO DA GESTAÇÃO

A P_4 é essencial para a manutenção da prenhez em todos os mamíferos. A vida média do CL é menor nos animais não prenhes do que nos prenhes, pois o embrião envia sinais de sua presença no útero materno, mantendo a sua função. Este processo tem sido definido como "reconhecimento materno da gestação" e pode ser obtido pela secreção de uma substância luteotrópica, como o hCG em humanos, que estimula o CL a produzir P_4 , ou o embrião pode produzir substâncias anti-luteolíticas, como o interferon-tau em ruminantes, que irá prevenir a secreção de $PGF_{2\alpha}$. Entretanto o principal efeito destas substâncias luteotrópicas é a manutenção da função luteal, havendo um aumento das evidências de que há outros efeitos sobre o endométrio que são importantes para o desenvolvimento embrionário (GOFF, 2002).

As concentrações circulantes de P_4 parecem estar correlacionadas positivamente com o reconhecimento materno da gestação (FORD, 1985; BINELLI et al., 2001). Há uma alta concentração de P_4 no leite de vacas inseminadas e prenhes, se comparado com vacas inseminadas e não prenhes (MANN et al., 1999). Isso sugere que elevadas concentrações de P_4 durante o "período crítico" são importantes para a manutenção da prenhez (BINELLI et al., 2001).

FORD (1985) define como "período crítico" no reconhecimento materno da prenhez, um período breve de 24 a 48 horas durante a prenhez inicial dos animais domésticos, quando o organismo materno responde a um embrião presente em seu útero.

Quando embriões são retirados de um útero bovino, antes do dia 16 (NORTHEY e FRENCH, 1980), a regressão do CL e subsequente estro, ocorrem em um período de duração normal. Se, contudo, os embriões

pré-implantados não forem retirados até o dia 16, o CL persiste por 5 a 6 dias além de sua normal duração.

Estas observações têm demonstrado que inicialmente o concepto é protegido pelo CL da luteólise durante o reconhecimento materno da prenhez. Este conceito é reforçado pelo fato de que a infusão intrauterina de soluções corpóreas de conceptos, obtidas durante o período de reconhecimento materno são capazes de estender a função luteal em vacas (NORTHEY e FRENCH, 1980).

Com isso, pela definição de FORD (1985) e de BINELLI et al., (2001), o período crítico para o reconhecimento materno da prenhez ocorre entre os dias 15 e 17 para as vacas. Esta definição não exclui a presença de outros sinais adicionais do embrião e/ou do útero antes ou após este período, que são necessários para o estabelecimento e manutenção da prenhez. Durante este período, o endométrio libera pulsos luteolíticos de $\text{PGF}_{2\alpha}$, a menos que o concepto envie sinais anti-luteolíticos para bloqueá-los. A manutenção da prenhez é dependente do bloqueio com sucesso da produção da $\text{PGF}_{2\alpha}$. A fisiologia do "período crítico" é complexa e multifatorial. Fatores endócrinos, celulares e moleculares, ambos de origem materna e do concepto atuam juntos para determinar se deverá ocorrer a luteólise ou a manutenção da prenhez. O entendimento da influência de tais fatores na fisiologia do "período crítico" por vários pesquisadores, gerou uma série de estratégias em favor da manutenção da prenhez, em detrimento da luteólise (BINELLI et al., 2001).

Ao redor do dia 16 do ciclo estral, o endométrio uterino inicia a liberação de pulsos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ causando a morte estrutural e funcional do CL (o processo de luteólise). A luteólise funcional resulta em um rápido decréscimo na concentração de P_4 circulante. Esta baixa concentração de P_4 permite o crescimento final do FD pré-ovulatório, seguido do estro e da ovulação. Se o ovócito não for fertilizado, o ciclo se repetirá e a luteólise ocorrerá novamente. Entretanto, se o ovócito for fertilizado, o processo

luteolítico deverá ser bloqueado para manter a prenhez (BINELLI et al., 2001).

Em bovinos, recentes estudos têm demonstrado que a ocitocina pode não ser essencial para o início da luteólise (KOTWICA et al., 1997). Entretanto, a presença do E_2 é crítica no desencadeamento da luteólise. O bloqueio da luteólise durante o "reconhecimento da prenhez" pode envolver a inibição da produção de E_2 e de seus efeitos (BINELLI et al., 2001), a ponto de que as concentrações plasmáticas de E_2 são menores em animais prenhes do que em animais ciclando (PRITCHARD et al., 1994). Contudo os mecanismos celulares e moleculares pela qual o E_2 estimula a secreção de $PGF_{2\alpha}$ não estão completamente elucidados, mas está claro o seu papel no processo da luteólise (FORD, 1985; BINELLI et al., 2001).

2.2 INTERFERON-TAU

A proteína-1 do trofoblasto, também conhecida como interferon-tau (ROBERTS et al., 1992), é um complexo de glicoproteínas secretadas em grandes quantidades pelo concepto entre os dias 17 e 22 de gestação (GEISERT et al., 1988), agindo de maneira anti-luteolítica, inibindo ou alterando o padrão de liberação endometrial da $PGF_{2\alpha}$ e removendo seus efeitos luteolíticos (HELMER et al., 1989).

A principal ação do interferon-tau é a de prevenir o aumento dos receptores de ocitocina no endométrio (SPENCER e BAZER, 1996). Adicionalmente aos efeitos do interferon-tau sobre a síntese de $PGF_{2\alpha}$, este também possui efeitos sobre a síntese de proteínas no endométrio (NAIVAR et al., 1995), podendo afetar a proliferação celular (WANG e GOFF, 2001) e tendo propriedades imunossupressivas (ASSAL-MELIANI et al., 1993) muito importantes para a manutenção da prenhez.

Um possível mecanismo pela qual a P_4 estimula a manutenção da gestação pode ser através da estimulação da secreção do interferon-tau

(BINELLI et al., 2001; BARUSELLI et al., 2002). MANN et al. (1999) demonstraram que vacas com grandes concentrações plasmáticas de P_4 durante o "período crítico" produzem conceptos que são maiores e produzem mais interferon-tau.

Sabe-se que níveis adequados de P_4 propiciam um ambiente uterino adequado ao embrião, e animais que apresentam um CL capaz de manter altos níveis de P_4 favorecem o desenvolvimento embrionário, e estes terão maior capacidade para bloquear a luteólise. O interferon-tau é conhecido por inibir a produção de $PGF_{2\alpha}$ através da síntese ou da atividade enzimática de proteínas envolvidas na produção de $PGF_{2\alpha}$. O mecanismo de ação do interferon é o JAK-STAT que faz a transdução de sinal em células epiteliais endometriais, e a ativação deste sistema promove a transcrição gênica e a síntese de proteínas que podem interferir na produção de $PGF_{2\alpha}$ (BINELLI, 2000).

Alguns embriões podem ter menor capacidade de prevenção da luteólise por apresentarem menor produção de interferon trofoblástico. Uma manobra a ser realizada, seria suplementar interferon exógeno para embriões subdesenvolvidos (MEYER et al., 1995).

Poderiam também ser realizadas algumas medidas de manejo que reduzam o estresse térmico das vacas, resultando em um aumento do tamanho do conceito durante o "período crítico" e favorecendo o reconhecimento da prenhez (HANSEN et al., 2001).

Até o momento do reconhecimento materno, a fisiologia uterina é muito similar entre animais prenhes e cíclicos. Mesmo que a síntese de $PGF_{2\alpha}$ não seja bloqueada, a luteólise será atrasada pela presença do conceito. O bloqueio da síntese de $PGF_{2\alpha}$ requer também que o alongamento do conceito (MEZIOU et al., 1983; BINELLI et al., 2001) ocupe a maior parte do corno uterino *ipsilateral* ao CL durante o "período crítico". As implicações destas observações é que a luteólise irá ocorrer mesmo na presença do conceito, se ele não tiver um tamanho suficiente.

Além disso, a secreção de fatores parácrinos derivados do concepto, como o interferon-tau, são necessários para a inibição da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (BINELLI et al., 2001).

A síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ resulta da ativação de uma cascata intracelular complexa de reações enzimáticas (BURNS et al., 1997). Para testar a hipótese de que a exposição dos tecidos do concepto diminuem a cascata de síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$, ARNOLD et al. (1999), compararam as respostas de "explants" *in vitro* obtidos de vacas cíclicas e prenhes no dia 15 após o estro, a estimulantes intracelulares da síntese da $\text{PGF}_{2\alpha}$. Indiferente de qual passo enzimático foi estimulado, o tecido das vacas prenhes sempre produziu menos $\text{PGF}_{2\alpha}$ se comparado com o tecido das vacas cíclicas. Em resumo, estratégias que favorecem a presença de conceptos alongados e funcionais e/ou inibem a síntese enzimática da $\text{PGF}_{2\alpha}$ no endométrio durante o "período crítico", podem aumentar as taxas de prenhez em bovinos (BINELLI et al., 2001).

2.3 FUNÇÃO INADEQUADA DO CORPO LÚTEO (CL)

Um fator que contribui para a perda embrionária é a função do CL (BULLMAN e LAMMING, 1978). A função inadequada do CL é caracterizada por ciclos estrais de normal duração, mas com concentração de P_4 que permanece abaixo dos níveis limiares de aproximadamente 1,0 a 1,5 ng/mL (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996b).

Para reduzir a incidência das perdas embrionárias precoces, a maioria causada por uma função de CL inadequado, muitas medidas corretivas têm sido sugeridas. Isto inclui, o uso de P_4 (suplementação) ou injeção de agentes luteotrópicos como o LH, GnRH ou hCG (TABELA 1).

TABELA 1 – ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA CORREÇÃO DA SUBFUNÇÃO DO CORPO LÚTEO MATERNO, SEGUNDO DIVERSOS AUTORES.

Autores	Hormônios utilizados
NORTHEY et al. (1985)	Suplementação com P ₄
ROBINSON et al. (1989)	Suplementação com P ₄
FLINT et al. (1990)	Suplementação com P ₄
BINELLI (2000)	Suplementação com P ₄
DONALDSON e HANSEL (1965)	LH
BÓ et al. (1995)	LH
BARUSELLI et al. (2002)	LH
NAKAO et al. (1983)	GnRH
LEWIS et al. (1990)	GnRH
RAJAMAHENDRAN et al. (1998)	GnRH
WILTBANK et al. (1961)	hCG
MORRIS et al. (1976)	hCG
EDUVIE e SEGUIN (1982)	hCG
PRICE e WEBB (1989)	hCG
WALTON et al. (1990)	hCG
RAJAMAHENDRAN e SIANANGAMA (1992)	hCG
SIANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992)	hCG
FRICKE et al. (1993)	hCG
RAJAMAHENDRAN e CALDER (1993)	hCG
SIANGAMA et al. (1994)	hCG
SIANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996ab)	hCG
SCHMITT et al. (1996ab)	hCG
KERBLER et al. (1997)	hCG
DIAZ et al. (1998)	hCG
SANTOS et al. (2001)	hCG
MARQUES et al. (2002)	hCG
NISHIGAI et al. (2002)	hCG

2.4 DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA

Um modelo para o desenvolvimento folicular em vacas leiteiras proposto por GINTHER et al. (1996) indicou que a seleção do FD se dá 2 a 3 dias após um novo grupo de folículos recrutados. O FD adquire receptores de LH ou expressão gênica para os receptores de LH entre 2 a 4 dias após a emergência da onda, quando este atinge 8 a 10 mm de diâmetro (XU et al., 1995; GINTHER et al., 1996).

Os FDs são definidos como folículos com 8 a 12 mm de diâmetro e que estão crescendo ou estão estáveis, por pelo menos 4 dias (BARROS et al., 1995; RUIZ-CORTES e OLIVEIRA-ANGEL, 1999). Pode também ser

definido como o maior folículo emergente no ovário e que tem 2 mm a mais que o segundo maior folículo e cresce linearmente (SIROIS e FORTUNE, 1988). O diâmetro do folículo ovulatório de vacas e novilhas de raças européias varia de 15 a 18 mm de diâmetro. A duração do estro em vacas européias é em torno de 18 horas e o intervalo entre início do estro e ovulação varia entre 28 a 31 horas para os taurinos (BARROS et al., 1995).

Relativamente ao tamanho dos folículos ovarianos foi verificado que o diâmetro máximo do 1º FD e do 2º FD, varia entre 15 a 20 mm em novilhas (SAVIO et al., 1988; GINTHER et al., 1989b; KNOPF et al., 1989) e em vacas de raças européias (MURPHY et al., 1990; TAYLOR e RAJAMAHENDRAN, 1991).

Uma vez iniciado, o processo de crescimento dos folículos parece ser contínuo até que ocorra atresia ou ovulação (LUCY et al., 1992; FORTUNE, 1994). Este padrão de crescimento e atresia de um grupo de folículos ovarianos é denominado onda de crescimento folicular.

Desde 1984, quando a ultrassonografia foi primeiramente relatada como um método de estudo das funções ovarianas no bovino (PIERSON e GINTHER, 1984), tem sido demonstrado que mais de 95% dos ciclos estrais são constituídos de duas ou três ondas foliculares (SAVIO et al., 1988; SIROIS e FORTUNE, 1988; GINTHER et al., 1989ab; KNOPF et al., 1989).

A proporção de animais que possuem duas ou três ondas foliculares varia entre os pesquisadores, segundo seus relatos, sendo que alguns relatam uma maioria de ciclos com duas ondas (GINTHER et al., 1989b; RAJAMAHENDRAN e TAYLOR, 1990), outros relatam ciclos com três ondas (SIROIS e FORTUNE 1988), enquanto outros autores ainda observam uma distribuição mais equilibrada (SAVIO et al., 1990, 1993; EVANS et al., 1994). Parece não estar claro uma prevalência específica para a idade ou raça quanto ao predomínio de um padrão de onda folicular sobre outro, nem que exista alguma diferença aparente na fertilidade.

Resumidamente, o padrão de ondas de desenvolvimento folicular se refere ao período de crescimento sincronizado de um grupo de folículos antrais. O padrão de ondas de desenvolvimento folicular tem sido demonstrado em todas as espécies nas quais tem sido examinado. No bovino, a emergência de uma onda folicular é caracterizada por um repentino crescimento (de 1 a 2 dias) de mais de 20 pequenos folículos que são inicialmente detectados por ultrassonografia com diâmetro de 3 a 4 mm (GINTHER et al., 1989a; VASCONCELOS, 2000).

Em ciclos estrais de duas e três ondas, a emergência da primeira onda folicular ocorre consistentemente no dia da ovulação (dia 0). A emergência da segunda onda ocorre no 9º ou 10º dia, para ciclos de duas ondas, e no 8º ou 9º dia, para ciclos de três ondas, uma terceira onda emerge no 15º ou 16º dia do ciclo estral (GARCIA et al., 1999).

Sucessivas ondas foliculares permanecerão anovulatórias até que a luteólise ocorra (BERGFELT et al., 1991). O FD presente no início da luteólise se tornará o folículo ovulatório, e a emergência da próxima onda é atrasada até o dia da ovulação subsequente. O CL começa a regredir mais cedo nos ciclos de duas ondas (dia 16) que nos ciclos de três ondas (dia 19) resultando conseqüentemente num ciclo estral mais curto (20 dias versus 23 dias, respectivamente). Portanto, a duração do ciclo estral pode favorecer uma previsão do número de ondas foliculares que uma determinada vaca tem dentro de cada ciclo (MAPLETOFT et al., 2000).

2.5 CARACTERÍSTICAS DO hCG

O hCG tem uma atividade similar a do LH e bloqueia os receptores de LH na membrana das células luteais pequenas para ativar um segundo mensageiro, que aumenta a síntese de P_4 (SANTOS et al., 2001). A formação do CL e o seu desenvolvimento são altamente dependentes do LH, e as células luteais pequenas sintetizam mais P_4 quando estimuladas pelo LH (HOYER e NISWENDER, 1985).

Durante o processo de diferenciação das células foliculares em células luteais, as células da granulosa diferem-se em grandes células luteais (SMITH et al., 1994). Não ocorre mitose durante a diferenciação das células da granulosa (ZHENG et al., 1994), e o número de células da granulosa no folículo pré-ovulatório é o mesmo número de células luteais grandes após a formação do CL (SMITH et al., 1994). Entretanto, intensa atividade mitótica é observada nas células derivadas da teca do dia 1 a 4 do ciclo estral (ZHENG et al., 1994), e é sabido que as células da teca se diferenciarão em pequenas células luteais (MEIDAN et al., 1990).

Isto sugere que as células luteais pequenas também podem originar-se de uma população de células tronco de fibroblastos luteais (NISWENDER et al., 1985) e que durante o ciclo estral as pequenas células luteais podem diferenciar-se em grandes células luteais. Este processo é controlado pela estimulação do LH (FARIN et al., 1988). Talvez a diferenciação dos fibroblastos em pequenas células luteais, a transformação de pequenas células luteais em grandes células luteais, e o aumento da atividade mitogênica das células luteais, são todas aumentadas pelo aumento da estimulação do LH pelo hCG. Isto poderia explicar o aumento do peso luteal observado nos animais tratados com o hCG, sem um decréscimo no número de pequenas e grandes células luteais por superfície de área (SCHMITT et al., 1996b). FRICKE et al. (1993) citaram que o peso do CL induzido após a administração de hCG no dia 6 do ciclo estral não difere do peso luteal do CL do cio base da mesma idade.

Para verificar o tempo de duração da vida média do hCG e do LH, SANTOS et al. (2001) determinaram que as taxas de eliminação do LH e do hCG no plasma sanguíneo humano tem mostrado duas fases que diferem entre o LH e o hCG. Durante a fase inicial rápida, o LH tem uma vida média de 21 minutos, enquanto que o hCG tem uma vida média de 5 a 9 horas. Durante a segunda fase de liberação lenta, o LH tem uma vida

média de 4 horas, enquanto que o hCG tem uma vida média de 1 a 1,3 dias.

Com isto, o hCG é caracterizado por uma vida média extensa no plasma, comparado ao LH (YEN et al., 1968). Esta diferença é devida ao grande conteúdo de ácido siálico no hCG comparado com o LH, que reduz a secreção hepática e com isto aumenta sua vida média plasmática. Injeções intramusculares em humanos permitem uma vida média maior do hCG quando comparado com a via endovenosa (RIZKALLAH et al., 1969). SEGUIN et al. (1977) relataram que uma injeção de 10.000 UI de hCG em novilhas holandesas dobrou a concentração de LH no soro, 10 horas após o tratamento.

O hCG pode ser administrado por via intramuscular, nas quantidades de 1.000 UI (GARCIA-WINDER et al., 1986; HELMER e BRITT, 1986; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1992; RAJAMAHENDRAN e CALDER, 1993; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab), 1.500 UI (KERBLER et al., 1997; NISHIGAI et al., 2002), 2.500 UI (BELTRAN et al., 2003), 3.000 UI (SCHMITT et al., 1996a), 3.300 UI (SANTOS et al., 2001), 10.000 UI (SEGUIN et al., 1977), e por via endovenosa, nas quantidades de 1.500 UI (FRICKE et al., 1993), ou uma combinação de 1.000 UI via endovenosa e 2.000 UI via intramuscular (SCHMITT et al., 1996b; DIAZ et al., 1998).

A meia-vida extensa do hCG pode melhorar a maturação do FD do dia 5 do ciclo estral e a formação de um CL com uma grande capacidade esteroidogênica. MOCK e NISWENDER (1983) relataram que os momentos para a internalização e degradação do hCG radioativo (22,8 horas) pelas células luteais ovinas são estendidas quando comparadas com o LH ovino (0,4 horas). Esta extensa ligação do hCG e a membrana das células luteais pode ser responsável pelo aumento dos efeitos estimulatórios do hCG sobre as concentrações de P_4 na subsequente fase luteal (SCHMITT et al., 1996a).

A estimulação adicional do LH pelo hCG promove a diferenciação entre as células da teca e da granulosa, em pequenas e grandes células luteais, respectivamente, e uma grande transformação de pequena para grandes células luteais (FARIN et al., 1988), que justifica 80% da produção de P_4 no CL ovino (NISWENDER et al., 1985). A grande vida média do hCG no plasma combinado com a sua persistência na superfície das células luteais, provavelmente suprime qualquer efeito dos pulsos de LH endógenos sobre os receptores das células luteais (SCHMITT et al., 1996a).

Evidências indicam que o hCG influencia proporções relativas de células luteais esteroideogênicas constituintes do CL (FARIN et al., 1988; WEISAK, 1989). Em estudos conduzidos em ovelhas (FARIN et al., 1988) e porcas (WEISAK, 1989), o hCG aumentou o número de células luteais pequenas que possuem uma maior quantidade de receptores de LH e são mais responsivas ao estímulo luteotrópico (RODGERS e O'SHEA, 1982).

A administração de hCG induz a um aumento da atividade do LH (SCHMITT et al., 1996a) por um longo período de tempo (30 horas). A secreção de LH é essencial para o desenvolvimento de um completo e funcional CL durante o metaestro (PETERS et al., 1994; BURKE et al., 1994). A persistência do hCG no plasma sanguíneo e sobre a superfície das células pode prover um suporte gonadotrófico melhor para um grande crescimento do CL induzido que é formado de um folículo que não foi induzido pelo LH (SCHMITT et al., 1996b).

2.6 EFEITOS DO hCG

O hCG promove a ovulação do FD, podendo ser administrado em diferentes momentos do ciclo estral (TABELA 2), resultando na formação de um CLA.

TABELA 2 - ADMINISTRAÇÃO DO HORMÔNIO CORIONICO GONADOTROFICO EM DIFERENTES DIAS DO CICLO ESTRAL (DIA 0 = ESTRO), SEGUNDO DIFERENTES AUTORES.

Autores	Dia do ciclo estral
SEGUIN et al. (1977)	10, 15 e 17
GARCIA-WINDER et al. (1986)	2
HELMER e BRITT (1986)	3
BREUEL et al. (1989)	4, 7 e 10
PRICE e WEBB (1989)	4,14 a 16
WALTON et al. (1990)	5
SIANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992)	0, 7 e 14
RAJAMAHENDRAN e SIANGAMA (1992)	7
FRICKE et al. (1993)	6
RAJAMAHENDRAN e CALDER (1993)	7
SIANGAMA et al. (1994)	7
SCHMITT et al. (1996ab)	5
SIANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996ab)	7
KERBLER et al. (1997)	5
DIAZ et al. (1998)	5
SANTOS et al. (2001)	5
BELTRAN et al. (2003)	5
MARQUES et al. (2002)	7
NISHIGAI et al. (2002)	1 e 6

Relatos dos efeitos do hCG sobre as concentrações de P_4 variam consideravelmente. Alguns experimentos demonstram aumentos significativos das concentrações periféricas de P_4 (HELMER e BRITT, 1986; BENNETT et al., 1989; BREUEL et al., 1989; WALTON et al., 1990; SIANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1992; FRICKE et al., 1993; RAJAMAHENDRAN e CALDER, 1993; SCHMITT et al., 1996ab; KERBLER et al., 1997; DIAZ et al., 1998; SANTOS et al., 2001; MARQUES et al., 2002; NISHIGAI et al., 2002; BELTRAN et al., 2003), já outros tem falhado em demonstrar o aumento da concentração de P_4 na circulação periférica (DE

LOS SANTOS-VALADEZ et al., 1982; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab).

BARUSELLI et al. (2000, 2001) e MARQUES et al. (2002) observaram que a concentração plasmática de P_4 parece estar diretamente correlacionada à taxa de concepção de receptoras de embrião.

O momento da injeção intramuscular é determinada (TAYLOR e RAJAMAHENDRAN, 1991) pela presença de folículos dominantes nestes momentos.

Habitualmente o hCG tem sido utilizado para melhorar a função do CL inadequado, porém este uso tem se caracterizado por resultados inconsistentes, proporcionando aumentos significantes nas taxas de prenhez no primeiro serviço em alguns trabalhos (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1992; SANTOS et al., 2001; BELTRAN et al., 2003) e não apresentando melhorias significativas em outros (HELMER e BRITT, 1986; SCHMITT et al., 1996a; KERBLER et al., 1997).

HELMER e BRITT (1986) somente observaram melhorias nas taxas de concepção de vacas holandesas no segundo serviço, após o uso do hCG no dia 3 do ciclo estral. MARQUES et al. (2002) e NISHIGAI et al. (2002) observaram um aumento significativo na taxa de prenhez de receptoras que receberam, respectivamente, uma aplicação de hCG no dia 6 e 7 após a inovulação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL, ANIMAIS E TRATAMENTOS

O presente trabalho foi realizado em duas fazendas no município de Palmeira (PR), sendo utilizadas 27 vacas pluríparas e 4 novilhas da raça Charolesa, com idade média de 5,28 e de 1,75 anos, respectivamente e 24 vacas pluríparas e 7 novilhas da raça Caracú, com idade média de 5,91 e 2,25 anos, respectivamente. Todos os animais foram submetidos a IA no início da estação de reprodução, utilizando-se o primeiro cio natural, porém somente foram verificadas as taxas de prenhez resultantes da primeira IA. Esses animais foram divididos aleatoriamente em: grupo tratado (n= 16 animais da raça Caracú e 16 animais da raça Charolesa) que recebeu uma injeção intramuscular de 2.500 UI de hCG (Vetecor, Calier do Brasil, SP) no dia 7 após a IA e grupo controle (n= 15 animais da raça Caracú e 15 animais da raça Charolesa) que recebeu uma injeção intramuscular de 1 mL de solução fisiológica estéril no 7º dia após a IA, como placebo.

Os animais recebiam como fonte alimentar, pastagens de azevém e um suplemento de sal mineral de acordo com a categoria de produção.

3.2 ULTRASSONOGRAFIA OVARIANA

Os ovários das vacas foram escaneados por ultrassonografia transretal (aparelho - ALOKA-ECHO CAMERA-SSD-210 DXII), com um transdutor linear de 5 Mhz (ALOKA), no 7º e no 13º dia após a IA (dia 0 = estro), segundo os procedimentos básicos descritos na literatura (REEVES et al., 1984; PIERSON et al., 1988). No 7º dia após a IA, o primeiro exame ultrassonográfico foi realizado para a verificação da localização e diâmetro maior do CLCB e do FD da primeira onda de desenvolvimento folicular. Um segundo exame ultrassonográfico foi realizado no 13º dia

após a IA, para a verificação da formação e diâmetro maior do CLA, do diâmetro maior do CLCB e do diâmetro maior do FD da segunda onda de desenvolvimento folicular. O diagnóstico de prenhez foi realizado por toque retal no 45º dia após a IA.

3.3 DOSAGEM DE PROGESTERONA PELO MÉTODO DA QUIMIOLUMINESCÊNCIA

Juntamente com os exames ultrassonográficos, foram realizadas coletas de sangue dos animais do grupo tratado e controle no 7º, 13º e no 24º dia após a IA. As amostras foram armazenadas em frascos vacutainers (Becton Dickinson, Vacutainer Systems, Rutherford, N.J), posteriormente centrifugadas a 1.800 x g por 15 minutos, e congeladas à temperatura de 20°C negativos.

As concentrações plasmáticas de P₄ foram mensuradas utilizando-se um kit de CLIA (Immulite, Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, Califórnia). Este kit foi validado para medições de P₄ plasmática canina (KUTZLER et al., 2003) e humana (PAZZAGLI, 1981), demonstrando alta correlação ($r^2 = 0,975$ e $r^2 = 0,96$, respectivamente) com o RIA, método este amplamente conhecido e consolidado.

O teste de P₄ pela quimioluminescência, quantifica as concentrações de P₄ até 60 ng/mL com uma concentração detectável mínima (sensibilidade analítica) de 0,15 ng/mL. Este teste possui alta especificidade para a concentração de P₄ (BROWN, 1977).

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos experimentos realizados para avaliar o efeito dos diferentes tratamentos e idades na dinâmica folicular, concentração de P_4 , porcentagem de prenhez e duração do ciclo estral, foram comparados utilizando-se a ANOVA do SAEG (EUCLYDES, 1982). As diferenças de médias foram comparadas pelo teste de Tukey para o nível de 5%. Inicialmente, os dados foram submetidos à análise de heterogenicidade das curvas, sendo realizada a análise de covariância somente quando constatado homogenicidade das curvas. A idade dos animais foi agrupada nas seguintes classes: 1-2 anos; 2-3 anos; 3-4 anos; 4-5 anos; 5-6 anos e 6> anos. Devido a heterogenicidade das variâncias, os resultados encontrados para a concentração plasmática de P_4 foram transformados pelo método de extração da raiz quadrada dos dados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

CORPO LÚTEO ACESSÓRIO (CLA)

Dos 32 animais do grupo tratado com hCG no dia 7 após a IA, 31 desenvolveram um CLA (96,87%), e destes, oito desenvolveram dois CLA (25,80%), e um animal desenvolveu três CLA (3,22%), resultantes da ovulação do FD e do maior folículo subordinado da primeira onda de desenvolvimento folicular (TABELA 3).

TABELA 3 - DADOS DA FORMAÇÃO DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE 2500 UI DE hCG, VIA INTRAMUSCULAR, EM NOVILHAS E VACAS DA RAÇA CARACÚ E CHAROLESA. PALMEIRA (PR), 2003 (n = 62).

Crítérios (%)	Tratamento (n=32)	Controle (n=30)
Animais que desenvolveram um CLA.	96,87% (31)	-
Animais que desenvolveram dois CLAs.	25,80% (8)	-
Animais que desenvolveram três CLAs.	3,22% (1)	-

CLA = Corpo Lúteo Acessório.

Estes resultados são concordantes com os achados de outros pesquisadores (FRICKE et al., 1993; RAJAMAHENDRAN e CALDER, 1993; SIANANGAMA et al., 1994; SCHMITT et al., 1996ab; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab; KERBLER et al., 1997; DIAZ et al., 1998; SANTOS et al., 2001; NISHIGAI et al., 2002) que em seus experimentos observaram a formação do CLA em 83,33 a 100% dos animais tratados com hCG após a IA.

SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a) observaram que a administração de hCG no dia 7 resultou na ovulação do 1º FD em 5 vacas, de um total de 6 animais, as quais ovularam tanto o FD quanto o segundo maior folículo e tiveram dois CLAs após o tratamento com hCG.

DINÂMICA FOLICULAR E LUTEAL

Na TABELA 4 são apresentados os dados dos 62 animais para as características; diâmetro maior do FD e do CL no 7º e no 13º dia após a IA, assim como o diâmetro maior do CLA.

TABELA 4 - VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE O DIÂMETRO MAIOR DO CLCB E DO FD DO DIA 7 E 13 APÓS A IA, DO DIÂMETRO MAIOR DO CLA E DE SEU DIÂMETRO EM RELAÇÃO AO CLCB DO DIA 13 APÓS A IA EM VACAS. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).

	Tratamentos	Medias	Desvio-Padrão	Valor F	Coef. Variação
Diâmetro maior do CLCB no 7º dia após a IA.	hCG	21,28 ^a	4,40	0,128	21,798
	Controle	20,37 ^a	3,86		
Diâmetro maior do CLCB no 13º dia após a IA.	hCG	21,37 ^b	3,74	2,772	15,369
	Controle	19,88 ^{bc}	3,44		
Diâmetro maior do CLA.	hCG	18,36 ^c	3,72	4,120	22,238
	Controle	-	-		
Diâmetro maior do FD no 7º dia após a IA.	hCG	15,20 ^d	4,28	3,570	26,302
	Controle	13,42 ^d	3,19		
Diâmetro maior do FD no 13º dia após a IA.	hCG	13,70 ^e	3,19	0,888	27,229
	Controle	13,42 ^e	3,70		

^{a,b,c,d,e} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

CLCB = Corpo Lúteo do Cio Base.

O diâmetro maior do CLCB no 7º e 13º dia após a IA e o diâmetro maior do FD no 7º e 13º dia após a IA não diferiram entre os grupos ($P > 0,05$), confirmando os achados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a), os quais trabalhando com vacas holandesas no pós-parto, não verificaram diferenças no diâmetro do CLCB e FD no 7º e 13º dia após a IA, para os animais tratados com hCG e controles. O CLA foi detectado no 13º dia após a IA e foi diferenciado do CLCB devido ao seu diâmetro ser menor e ecogenicidade reduzida neste estágio de desenvolvimento. O diâmetro do CLA e do CLCB (18,3 mm e 21,3 mm, respectivamente) diferiram entre os animais tratados ($P < 0,05$) no 13º dia após a IA (TABELA 4), corroborando os resultados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996ab), DIAZ et al. (1998) e MARQUES et al. (2002), os quais também observaram semelhantes diferenças entre os dois tipos de CL.

SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996b) atribuíram ao tamanho menor do CL induzido (CLA) pelo hCG observado em seus trabalhos, ao desenvolvimento inadequado do folículo ovulatório. A maturação e o desenvolvimento do folículo ovulatório ocorre durante a fase folicular, período que é caracterizado por P_4 basal (IRELAND e ROCHE, 1983). A sincronia desses eventos tem importante papel no crescimento, maturação final e ovulação do FD do proestro. Portanto, o aumento da concentração de P_4 e a falta do aumento transitório de gonadotrofinas imediatamente antes da ovulação do FD da primeira onda, podem explicar o menor diâmetro do CL induzido comparado com o CL do cio base da mesma idade (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996b).

Com relação ao efeito da idade dos animais sobre as características de diâmetro maior do FD e do CLCB nos dias 7 e 13 após a IA e do diâmetro maior do CLA (TABELA 5), observou-se que os animais com idade de 1 a 2 anos, tiveram o menor CLCB (14,4 mm) no 13º dia após a IA, diferindo ($P < 0,0001$) dos animais com idade de 2 a 3 anos (21,4 mm), de 4 a 5 anos (21,0 mm), de 5 a 6 anos (23,1 mm) e com mais de 6 anos

(21,6 mm). O diâmetro maior do CLCB dos animais com 3 a 4 anos (19,28 mm) não diferiram dos demais grupos ($P>0,05$), corroborando os resultados de KERBLER et al. (1997) (18,0 mm), DIAZ et al. (1998) (22,8 mm) e MARQUES et al. (2002) (19,2 mm) ao avaliarem a dinâmica luteal de novilhas de corte meio sangue e novilhas holandesas.

TABELA 5 – VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DA IDADE DAS VACAS SOBRE O DIÂMETRO MAIOR DO CLCB DO DIA 13 APÓS A IA. PALMEIRA (PR), 2003 (n = 62).

	IDADE (anos)	Médias	Desvio-Padrão	Valor F	Coef. Variação
Diâmetro maior do CLCB no 13º dia após a IA.	1 a 2	14,40 ^b	1,64	4,457	15,369
	2 a 3	21,44 ^a	0,82		
	3 a 4	19,28 ^{ab}	0,92		
	4 a 5	21,02 ^a	1,12		
	5 a 6	23,10 ^a	1,30		
	6 <	21,63 ^a	0,82		

^{a,b} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si ($P<0,0001$).

CLCB = Corpo Lúteo do Cio Base.

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA (P₄)

Na TABELA 6 observa-se que as concentrações médias de P₄ plasmática no dia 7 (1,50 ng/mL e 1,50 ng/mL) não diferiram entre os animais não-prenhes e prenhes de ambos os grupos ($P>0,05$), assim como a concentração plasmática de P₄ do dia 13 (3,70 ng/mL e 4,15 ng/mL) ($P>0,05$), respectivamente. A concentração plasmática média de P₄ no dia 24 após a IA, diferiu ($P<0,0001$) entre os animais não-prenhes e prenhes (0,30 ng/mL e 5,50 ng/mL), respectivamente. Estes resultados são confirmados por HENRICKS et al. (1970), ao não observarem

diferença na concentração média de P₄ no dia 7, para as vacas não lactantes prenhes e não-prenhes da raça holandesa. No dia 13 a concentração média de P₄ aumentou para 5,70 ng/mL e 3,50 ng/mL, para vacas prenhes e não-prenhes e no dia 24 após a IA, a concentração de P₄ foi de 4,90 ng/mL e 0,40 ng/mL, para as vacas prenhes e não-prenhes, respectivamente, corroborando nossos resultados.

SANTOS et al. (2001) observaram que a concentração de P₄ no dia 14 após a IA, influenciou a taxa de concepção no dia 28 (P<0,001) após a IA. A concentração plasmática de P₄ nas vacas prenhes foi de 3,1 ng/mL, maior que as vazias no dia 28 (P<0,001) após a IA, concordando com os achados deste experimento, no qual a concentração plasmática média de P₄ no dia 24 após a IA, foi de 0,30 ng/mL e 5,50 ng/mL (P<0,0001) para os animais não-prenhes e prenhes, respectivamente.

TABELA 6 – VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DA PREENHEZ EM AMBOS OS GRUPOS, SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA (P₄) NO DIA 7, 13 E 24 APÓS A IA EM VACAS. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).

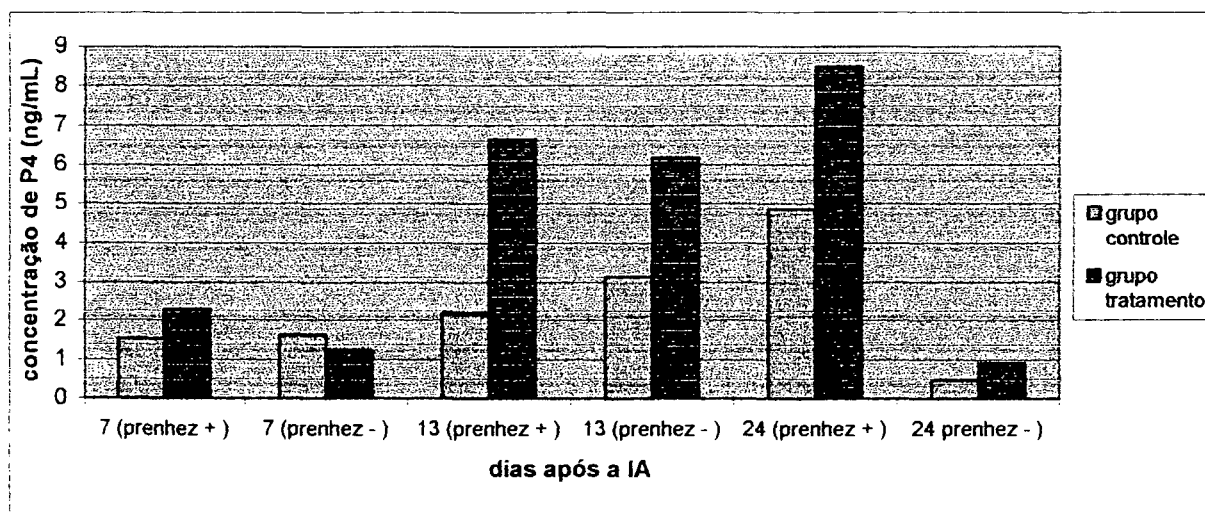
	Prenhez	Média	Desvio-Padrão	Valor F	Coef. Variação
Concentração de P ₄ no 7 ^o dia após a IA.	Negativo	1,50 ^a	0,84	3,085	24,155
	Positivo	1,50 ^a	1,33		
Concentração de P ₄ no 13 ^o dia após a IA.	Negativo	3,70 ^b	3,69	0,676	32,196
	Positivo	4,15 ^b	3,39		
Concentração de P ₄ no 24 ^o dia após a IA.	Negativo	0,30 ^c	0,98	85,910	33,956
	Positivo	5,50 ^d	4,76		

^{a,b,c,d} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si (P<0,0001).

Observa-se no GRÁFICO 1 que as concentrações médias de P_4 plasmática no dia 7 (1,52 ng/mL e 2,29 ng/mL) não diferiram ($P>0,05$) entre os animais prenhes dos grupos controle e tratado assim como a concentração de P_4 (1,62 ng/mL e 1,23 ng/mL) entre os animais não-prenhes dos grupos controle e tratado, respectivamente. No dia 13 após a IA, observou-se diferença estatística ($P<0,0001$) entre os animais prenhes do grupo controle e tratado (2,18 ng/mL e 6,64 ng/mL), e também entre os animais não-prenhes do grupo controle e tratado (3,13 ng/mL e 6,17 ng/mL), respectivamente. A concentração plasmática de P_4 no dia 24 diferiu (4,85 ng/mL e 8,47 ng/mL) entre os animais prenhes do grupo controle e tratado ($P<0,05$), respectivamente, corroborando os achados de KERBLER et al. (1997) ao observarem concentrações de P_4 no dia 7 (6,3 ng/mL e 8,3 ng/mL) ($P>0,05$) e 13 (9,0 ng/mL e 13,5 ng/mL) ($P<0,001$) nas novilhas cruzadas de corte gestantes do grupo controle e tratado, respectivamente.

Não foi observada diferença na concentração plasmática de P_4 no dia 24 após a IA (0,47 ng/mL e 0,91 ng/mL) para os animais não-prenhes dos grupos controle e tratado, respectivamente.

GRAFICO 1 - CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE P_4 PLASMÁTICA PARA AS VACAS DO GRUPO CONTROLE E TRATAMENTO (hCG) NOS DIAS 7, 13 E DIA 24 PRENHES E NÃO-PRENHES, APÓS A IA. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).



Na TABELA 7 são apresentados os dados de concentração de P₄ no dia 7, 13 e 24 após a IA, dos 62 animais das raças Charolesa e Caracú.

TABELA 7 - VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA (P₄) NO DIA 7, 13 E 24 APÓS A IA EM VACAS. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).

	Tratamentos	Medias	Desvio- Padrão	Valor F	Coef. Variação
Concentração de P ₄ no 7º dia após a IA.	hCG	1,74 ^a	1,09	0,010	24,155
	Controle	1,56 ^a	1,03		
Concentração de P ₄ no 13º dia após a IA.	hCG	6,53 ^b	3,85	14,473	32,196
	Controle	2,86 ^c	1,90		
Concentração de P ₄ no 24º dia após a IA.	hCG	4,28 ^d	3,16	4,796	33,956
	Controle	2,64 ^e	1,83		

^{a,b,c} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si (P<0,0001).

^{d,e} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

Observa-se na TABELA 7 que as concentrações médias de P₄ plasmática no dia 7 (1,74 ng/mL e 1,56 ng/mL) não diferiram entre os grupos (P>0,05) tratado e controle, respectivamente, corroborando os resultados encontrados por SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992) e SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a).

Por sua vez a concentração plasmática média de P₄ no dia 13 após a IA, diferiu (P<0,0001) entre os animais do grupo tratado e controle (6,53 ng/mL e 2,86 ng/mL, respectivamente). No dia 24 após a IA, a concentração plasmática de P₄ diferiu (P<0,05) entre os animais do grupo

tratado e controle (4,28 ng/mL e 2,64 ng/mL), corroborando os resultados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992) ao verificarem diferença na concentração de P₄ no dia 24 após a IA, para vacas holandesas em lactação do grupo tratado com hCG e controle (14,0 ng/mL e 8,0 ng/mL) (P<0,001), respectivamente. Estes resultados confirmam os achados de MARQUES et al. (2002) ao observarem diferença na concentração de P₄ no dia 13 após a IA, entre os animais do grupo tratado e controle (8,42 ng/mL e 4,83 ng/mL, respectivamente) (P<0,0001).

A maior concentração plasmática de P₄ no dia 13 e 24 em prol dos animais do grupo tratado deveu-se provavelmente à secreção adicional de P₄ pelo CLA, estando nossos resultados de acordo com os achados de MARTIN et al. (1990) e SCHMITT et al. (1996ab). FRICKE et al. (1993) relatam que neste estágio do ciclo estral, além da secreção adicional de P₄ pelo CLA, ocorre também a estimulação do CLCB.

DURAÇÃO DO CICLO ESTRAL

A duração média do ciclo estral das vacas e novilhas tratadas (n=19) e controles (n=23) foi, respectivamente, de 24,8 e 21,4 dias (P<0,0001), diferindo dos resultados encontrados por DIAZ et al. (1998), ao administrarem 3.000 UI de hCG (IM) no dia 5 do ciclo estral, observando-se duração média de 22,9 e 22,1 dias para novilhas holandesas tratadas e controles (P>0,10), respectivamente.

HELMER e BRITT (1986) ao administrarem 1.000 UI (IV) de hCG, observaram em novilhas e vacas holandesas, duração média de ciclo estral de 20,0 e 20,6 dias, respectivamente, bastante desiguais, portanto, dos resultados encontrados em nosso experimento. SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992) administraram 1.000 UI (IV) no dia 7 após a IA em vacas holandesas em lactação e observaram duração de 24,1 e 23,2 dias, para as vacas tratadas e controles (P>0,05), respectivamente, diferindo portanto, dos resultados de nosso experimento.

SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a) observaram em outro experimento, duração de 23,3 e 22,4 dias, para as vacas tratadas com hCG e controles, respectivamente. MARQUES et al. (2002) administraram hCG em novilhas cruzadas e observaram duração de ciclo estral de 23,17 e 21,17 dias, para as vacas tratadas e controles, respectivamente. Estes autores não confirmaram aumento significativo na duração do ciclo estral dos animais tratados com hCG, diferindo por conseguinte, dos resultados encontrados neste experimento.

DE LOS SANTOS-VALADEZ e colaboradores (1982) reportaram que mais de 60% de vacas meio sangue de corte que receberam tratamento com hCG mas não tornaram-se gestantes, tiveram ciclos estendidos para mais de 24,5 dias, quando comparadas com 24% de vacas que não receberam hCG.

PORCENTAGEM DE PREENHEZ

Das 32 vacas tratadas com hCG no dia 7 após a IA, 13 (40,62%) foram diagnosticadas positivas e 19 (59,37%) diagnosticadas como vazias. Em relação aos animais controles, 7 (23,33%) das 30 vacas se tornaram prenhes e 23 (76,66%) foram diagnosticadas como vazias.

Não houve aumento significativo na taxa de prenhez das vacas tratadas com hCG em relação às vacas controles (40,62% e 23,33%, respectivamente) ($P > 0,05$), apesar do aumento significativo nas concentrações de P_4 plasmática após a administração de hCG no 7 dia após a IA. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por KERBLER et al. (1997) os quais não obtiveram aumentos significativos nas taxas de prenhez de novilhas de corte, utilizando 1.500 UI de hCG, via intramuscular, assim como os de HELMER e BRITT (1986) e SCHMITT et al. (1996a) que também não obtiveram aumentos significativos em novilhas e vacas holandesas, respectivamente. Contudo diversos pesquisadores observaram melhorias significativas nas taxa de prenhez de

vacas leiteiras lactantes tratadas quando submetidas ao tratamento com hCG após a IA (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1992; SANTOS et al., 2001; BELTRAN et al., 2003). Como se pode observar, os relatos entre os pesquisadores igualmente não são unânimes para essa variável, sinalizando a realização de outros experimentos.

5 CONCLUSÃO

As conclusões encontradas neste experimento em relação ao uso do hCG na formação do CLA e taxa de prenhez em bovinos de corte quando comparados com o grupo controle foram:

- O tratamento com o hCG foi eficaz (96,87%) na indução da ovulação do FD da primeira onda folicular.

- O CL formado pela ovulação do FD da primeira onda, após o tratamento com hCG é menor do que o CLCB do mesmo período, medido no 13º dia após a IA ($P < 0,0001$).

- Houve um aumento significativo na concentração plasmática de P_4 nos dias 13 ($P < 0,0001$) e 24 ($P < 0,05$) após a IA, em prol dos animais do grupo tratamento.

- A duração do ciclo estral foi estendido nos animais do grupo tratamento ($P < 0,0001$).

- Não houve aumento significativo sobre a taxa de prenhez dos animais tratados ($P > 0,05$), porém estes resultados sinalizam uma considerável tendência a um incremento nas taxas de prenhez após o uso de hCG.

REFERÊNCIAS

AYALON, N. A review of embrionic mortality in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 54, p. 483-493, 1978.

ARNOLD, J. D.; BINELLI, M.; VONK, J.; ALEXENCO, A. P.; DROST, M.; THATCHER, W. W. Intracellular regulation of endometrial PGF_{2α} production in dairy cows during early pregnancy and following treatment with recombinant interferon-tau. **Domestic Animal Endocrinology**, New York v. 18, p. 199-216, 1999.

ASSAL-MELIANI, A.; CHARPIGNY, G.; REINAUD, P.; MARTAL, J.; CHAOUAT, G. Recombinant ovine trophoblastin (roTP) inhibits ovine, murine and human lymphocyte proliferation. **Journal Reproductive Immunology**, Shannon, v. 25, p.149-165, 1993.

BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PINHEIRO, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte v.19, n. 1-2, p. 9-22, 1995.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; BO, G. A.; COSTA NETO, W. P. GRANDINETTI, R. R. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P₄ e taxa de prenhez. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 28, p. 218, 2000.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O. MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R.; BO, G. A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. **Theriogenology**, New York, v. 55, p. 355, 2001.

BARUSELLI, P. S.; BÓ, G. A.; MARQUES M. O.; MADUREIRA, E. H. Farmacologia aplicada à reprodução bovina. Palestra proferida no **II SIPARA** (simpósio paranaense de atualização em reprodução animal), Londrina, 12 jun. 2002.

BENNETT, W.A.; GONZALEZ, L.V.; STUART, M.J.; FUGUAY, J.W. Effects of human chorionic gonadotropin pretreatment on endocrine, cytological and prostaglandin F_{2α} receptor patterns of the bovine corpus luteum. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.19, p. 179-189, 1989.

BELTRAN, M. P.; VASCONCELOS, J. L. M.; SANTOS, R. M.; DEMETRIO, D. G. B.; BARROS, C. M.; WECHSLER, F. S. Efeito do tratamento com GnRH ou hCG no dia 5 após a IA nas taxas de concepção em vacas Holandesas lactantes durante o verão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n. 3, p.440-442, Jul./Set., 2003.

BERGFELT, D. R.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Continued periodic emergence of follicular waves in nonbred progesterone-treated heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 24, p. 193-204, 1991.

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 1., 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2000. p. 99-114.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 56, p. 1451-1463, 2001.

BÓ, G. A.; ADAMS G. P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.39, p. 93-204, 1995.

BREUEL, K. F.; SPITZER, J. C.; HENRICKS, D. M. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 67, p.1564-1572, 1989.

BROWN, J. B. Timing of ovulation. **Medical Journal of Australia**, North Sydney, v. 2, p. 780-783, 1977.

BULLMAN, D. C; LAMMING, G. E. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing a cyclicity in dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 54, p. 447-458, 1978.

BURKE, C. R.; MIHM, M.; MACMILLAN, K. L.; ROCHE, J. F. Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 35, p. 27, 1994.

BURNS, P. D.; GRAF, G. A.; HAYNES, S. H.; SILVIA, W. J. Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF₂α synthesis in bovine endometrium: roles of phospholipases C and A₂. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v. 14, p. 181-191, 1997.

DE LOS SANTOS-VALADEZ, S.; SEIDEL JR, G. E.; ELSDEN, R. P. Effect of hCG on pregnancy rates in embryo transfer recipients. **Theriogenology**, New York, v.17, p. 85, 1982.

DIAZ, T.; SCHMITT, E. J. P.; DE LA SOTA, P. L.; THATCHER, M. J.; THATCHER, W. W. Human chorionic gonadotropin induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 76, p. 1929-1936, 1998.

DONALDSON, L. E.; HANSEL, W. Prolongation of life span of the bovine corpus luteum by single injection of bovine luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 48, p. 903-904, 1965.

DUNNE, L. D.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 58, p. 39-44, 2000.

EDUVIE, L. O.; SEGUIN, B. E. Hábeas luteum function and pregnancy rates in lactating dairy cows given human chorionic gonadotropin at mid diestrus. **Theriogenology**, New York, v. 17, p. 415-422, 1982.

EUCLYDES, R. F. **Sistema de análise estatística e genética (SAEG)**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Central de Processamento de Dados, 1982. 68p.

EVANS, A. C. O.; ADAMS, G. P.; RAWLINGS, N. C. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 100, p. 187-194, 1994.

FARIN, C. E; MOELLER, C. L; MAYAN, H.; GAMBONI, F.; SAWYER, H. R.; NISWENDER, G. D. Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 38, p. 413-421, 1988.

FLINT, A.P.F.; HEARN, J. P.; MICHAEL, A.E.; The maternal recognition of pregnancy in mammals. **Journal of Zoology**, Cambridge, v. 221, p. 327-341, 1990.

FORD, S. P. Maternal recognition of pregnancy in the ewe, cow and sow: vascular and immunological aspects. **Theriogenology**, New York, v. 23, p. 145-159, 1985.

FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 50, p. 225-232, 1994.

FRICKE, P. M.; REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A. Effect of human chorionic gonadotropin administered early in the estrous cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 71, p. 1242-1246, 1993.

GARCIA, A.; VAN DER WEIJDEN, G. C.; COLENBRANDER, B.; BEVERS, M. M. Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: a review. **Veterinary Record**, London, v. 145, p. 334-340, 1999.

GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P. E.; DEAVER, D. R.; SMITH, V. G.; LEWIS, G. S.; INSKEEP, E. K. Endocrine profiles associated with life span of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 62, p. 1353-1362, 1986.

GEISERT, R. D.; ZAVY, M. T.; BIGGERS, B. G.; GARRET, J. E.; WETTEMANN, R. P. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 16, p. 11-25, 1988.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOFF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine oestrous cycles. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 20, p. 187-200, 1989a.

GINTHER, O. J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 887, p. 223-230, 1989b.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 55, p. 1187-1194, 1996.

GOFF, A. K. Embryonic Signals and Survival. **Reproduction Domestic Animal**, Berlin, v. 37, p. 133-139, 2002

HANSEN, P. J.; DROST, M.; RIVERA, R. M.; PAULA-LOPES, F. F.; AL-KATANANI, Y. M.; KRININGER, C. E.; CHASE, C. C. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology**, New York, v. 55, p. 91-103, 2001.

HELMER, S. D.; BRITT, J. H. Fertility of dairy cattle treated with human chorionic gonadotropin (hCG) to stimulate progesterone secretion. **Theriogenology**, New York, v. 26, p. 683-695, 1986.

HELMER, S. D.; HANSEN, P. J.; THATCHER, W. W.; JOHNSON, J. W.; BASER, F. W. Intrauterine infusion of highly enriched bovine trophoblast protein-1 complex exerts an antiluteolytic effect to extend corpus luteum lifespan in cycle cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 87, p. 89-101, 1989.

HENRICKS, D. M.; DICKEY, J. F.; NISWENDER, G. D. Serum luteinizing hormone and plasma progesterone levels during the estrous cycle and early pregnancy in cows. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 2, p. 346-351, 1970.

HOYER, P. B.; NISWENDER, G. D. The regulation of steroidogenesis is different in the two types of ovine luteal cells. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 63, p. 240-248, 1985.

YEN, S. S. C.; LITTLE, L. B.; PEARSON, O. H. Disappearance rates of endogenous luteinizing hormone and chorionic gonadotropin in man. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Bethesda, v. 28, p. 1763, 1968.

IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: changes in concentrations of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins in follicles. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 57, p.157-167, 1983.

KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 194, p. 922-928, 1989.

KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 47, p. 703-714, 1997.

KNOPF, K.; KASTELIC, J. P.; SCHALLENBERGER, E.; GINTHER, O. J. Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v. 6, p. 111-119, 1989.

KOTWICA, J.; SKARZYNSKI, D.; BOGACKI, M.; MELM, P.; STAROSKA, B. The use of an oxytocin antagonist to study the function of ovarian oxytocin during luteolysis in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 48, p. 1287-1299, 1997.

KUTZLER, M. A.; MOHAMMED, H. O.; LAMB, S. V.; MEYERS-WALLEN, V. N. Accuracy of canine parturition date prediction from the initial rise in preovulatory progesterone concentration. **Theriogenology**, New York, v. 60, p. 1187-1196, 2003.

LAMBERT, E.; WILLIAMS, D. H.; LYNCH, P. B. et al. The extent and timing of prenatal loss in gilts. **Theriogenology**, New York, v. 36, p. 655-665, 1991.

LAMMING, G.E.; DARWASH, A.O.; BACK, H.L. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 37, p. 245-252, 1989.

LEWIS, G. S.; CALDWELL, D. W.; REXROAD Jr, C. E.; DOWLEN, H. H.; OWEN, J. R. Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 73, p. 66-72, 1990.

LÓPES-GATIUS, F.; LABERNIA, J.; SANTOLARIA, P. et al. Effect of reproductive disorders previous to conception on pregnancy attrition in dairy cows. **Theriogenology**, New York, v. 46, p. 643-648, 1996.

LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, R. L.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

LUKASZEWSKA, J.; HANSEL, W. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 59, p. 485-493, 1980.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; ROBINSON, R. S.; WATHES, D. C. The regulation of interferon-t production and uterine hormone receptors during pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 54, p. 317-328, 1999.

MAPLETOFT, R. J.; BO, G. A.; ADAMS, G. P. Avanços na manipulação do ciclo estral de doadoras e receptoras nos programas de transferência de embriões em bovinos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da Universidade do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 28, n.1, p. 24-45, 2000.

MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; BO, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian ultrasonography and plasma progesterone concentration in *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers administered different treatments on day 7 of the estrous cycle. **Theriogenology**, New York, v. 57, n.1, p. 548, 2002.

MARTIN, T. L.; SWANSON, L. V.; APPELL, L. H.; ROWE, K. E.; STORMSHAK, F. Response of the bovine corpus luteum to the increased secretion of luteinizing hormone induced by exogenous gonadotropin releasing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v. 7, p. 27, 1990.

MAURER, R. R.; CHENAULT, J. R. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 56, p. 1186, 1983.

MEIDAN, R.; GIRSH, E.; BLUM, O.; ABERDAM, E. In vitro differentiation of bovine theca and granulosa cells into small and large luteal like cells: Morphological and functional characteristics. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 43, p. 913, 1990.

MEYER, M. D.; HANSEN, P. J.; THATCHER, W. W.; DROST, M.; BADINGA, L.; ROBERTS, R. M.; LI, J.; OTT, T. L.; BAZER, F. W. Extension of corpus luteum life span and reduction of uterine secretion of prostaglandin F_{2α} of cows in response to recombinant interferon-tau. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 78, p. 1921-1931, 1995.

MEZIOU, W.; CHARDON, P.; FLECHON, J. E.; KALIL, J.; VAIMAN, M. Expression of B₂ – microglobulin on preimplantation pig embryos. **Journal of Reproduction Immunology**, Shannon, v. 5, p. 73-80, 1983.

MOCK, E. J.; NISWENDER, G. D. Differences in the rate of internalization of 125I-labeled human chorionic gonadotropin, luteinizing hormone, and epidermal growth factor by ovine luteal cells. **Endocrinology**, Bethesda, v. 113, p. 259, 1983.

MORRIS, L. M.; GONZALEZ-PADILLA, E.; NISWENDER, G. D.; WILTBANK, J. N. Peripheral progesterone levels in pregnant and non-pregnant heifers following use of hCG. **Theriogenology**, New York, v. 6, p. 367-378, 1976.

MURPHY, M. G.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. P. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckle cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 90, p. 523-533, 1990.

NAIVAR, K. A.; WARD, S. K.; AUSTIN, K. J.; MOORE, D. W.; HANSEN, T. R. Secretion of bovine uterine proteins in response to type I interferons. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 52, p. 848-854, 1995.

NAKAO, T.; NARITA, S.; TANAKA, K.; HORN, H., SHIRIKAWA, J.; NOSHIRO, H.; SAGA, N.; TSUNODA, H.; KAWATA, K. Improvement of first-service pregnancy rate in cows with gonadotropin-releasing hormone analogue. **Theriogenology**, New York, v. 20, p. 111-119, 1983.

NISHIGAI, M.; KAMOMAE, H.; TANAKA, T. Improvement of pregnancy rate in japanese black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. **Theriogenology**, New York, v. 58, p. 1597-1606, 2002.

NISWENDER, G. D.; SCHWALL, R. H.; FITZ, T. A.; FARIN, C. E.; SAWYER, H. R. Regulation of luteal function in domestic ruminants: New concepts. **Recent Progress in Hormone Research**, Bethesda, v. 41, p. 101, 1985.

NORTHEY, D. L.; FRENCH, L. R. Effect of embryo removal and intrauterine infusion of embryonic homogenates on the lifespan of the bovine corpus luteum. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 50, p. 298-302, 1980.

NORTHEY, D. C.; BARNES, F.L; EYESTONE, W.H.; FIRST, N.L.; Relationship of serum progesterone, luteinizing hormone and the incidence of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. **Theriogenology**, New York, v. 23, p. 214, 1985.

PAZZAGLI, M.; KIM, J. B.; MESSERI, G.; MARTINAZZO, D.; KOHEN, F.; FRANCESCHETTI, F.; TOMMASI, A.; SALERNO, R.; SERIO, M. Luminescent immunoassay (LIA) for progesterone in a heterogeneous system. **Clinica Chimica Acta**, Shannon, v. 115, p. 287-297, 1981.

PETERS, K. E.; BERGFELD, E. D.; CUPP, A. S.; KOJIMA, F. N.; MARISCAL, V.; SANCHEZ, T.; WEHRMAN, M. E.; GRATJAN, H. E.; HAMERNIK, D. L.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea (CL) but is not required to maintained CL function in heifers. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 51, p. 1248, 1994.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenology**, New York, v. 21, p. 495-504, 1984.

PIERSON, R. A.; KASTELIC, J. P. GINTHER, J. O. Basic principles and techniques for transretal ultrasonography in cattle and horses. **Theriogenology**, New York, v. 29, p. 3-20, 1988.

PRICE, C.A.; WEBB, R. Ovarian response to hCG treatment during the estrous cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 86, p.303-308, 1989.

PRITCHARD, J. Y.; SHRIEK, F. N.; INSKEEP, E. K. Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. **Theriogenology**, New York, v. 42, p. 247-259, 1994.

RAJAMAHENDRAN, R.; TAYLOR, C. Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 22, p. 171-180, 1990.

RAJAMAHENDRAN, R.; SIANANGAMA, P.C. Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 95, p. 577-584, 1992

RAJAMAHENDRAN, R.; CALDER, M. D. Superovulatory responses in dairy cows following ovulation of the dominant follicle of the first wave. **Theriogenology**, New York, v. 40, p. 99-109, 1993.

RAJAMAHENDRAN, R.; AMBROSE, J. D.; SCHMITT, E. J. P.; THATCHER, M. J.; THATCHER, W. W. Effects of buserelin injection and deslorelin (GnRH-Agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, follicle and corpus luteum dynamics in holstein cows. **Theriogenology**, New York, v. 50, p. 1141-1155, 1998.

REEVES, J. J.; RANTANEN, N. W.; HAUSER, M. Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. **Theriogenology**, New York, v. 21, p. 485-494, 1984.

RIZKALLAH, T.; GURPIDE, E.; VAN DE WIELE, R. L. Metabolism of hCG in man. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Bethesda, v. 29, p. 92, 1969.

ROBERTS, R. M.; CROSS, J. C.; LEAMAN, D. W. Interferons as hormones of pregnancy. **Endocrine Reviews**, Bethesda, v. 13, p. 432-452, 1992.

ROBINSON, N.A.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 72, p. 202-207, 1989.

RODGERS, R.J.; O`SHEA, J.D. Purification, morphology and progesterone production and content of three types of luteal cells isolated from the corpus luteum of sheep. **Australian Journal of Biological Sciences**, East Melbourne, v. 35, p. 441-445, 1982.

RUIZ-CORTES, Z. T.; OLIVEIRA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 54, p. 211-220, 1999.

SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W. W.; POOL, L.; OVERTON, M. W. Effect of human chorionic gonadotrophin on luteal function and reproductive performance of high producing lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 79, p. 2881-2894, 2001.

SAVIO, J. P.; KEENAN, L.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 83, p. 663-671, 1988.

SAVIO, J. D.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. P. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 88, p. 581-591, 1990.

SCHMITT, E. J. P.; DIAZ, T.; BARROS, C. M.; DE LA SOTA, R. L.; DROST, M.; FREDRIKSSON, E. W.; STAPLES, C. R.; THORNER, R.; THATCHER, W. W. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 74, p. 1074-1083, 1996a.

SCHMITT, E. J. P.; BARROS, C. M.; FIELDS, M. J.; DIAZ, T.; KLUGE, J. M.; THATCHER, W. W. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotrophin releasing hormone agonist or human chorionic gonadotrophin on day five of the estrus cycle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 74, p. 1915-1929, 1996b.

SEGUIN, B. E.; OXENDER, W. D.; BRITT, J. H. Effect of human chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone on corpus luteum function and estrous cycle duration in dairy heifers. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 38, p. 1153, 1977.

SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy rates in cows. **Theriogenology**, New York, v. 38, p. 85-96, 1992.

SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R.; HARVEY-CLARK, C. Are corpórea lútea induced by human chorionic gonadotropin (hCG) given on day 7 of the bovine estrous cycle functional?. **Theriogenology**, New York, v. 41, p. 293, 1994.

SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R. Effect of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on follicular dynamics and cycle length in cows. **Theriogenology**, New York, v. 45, p. 583-592, 1996a.

SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R. Characteristics of corpus luteum formed from the first wave dominant follicle following hCG in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 45, p. 977-990, 1996b.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 39, p. 308-317, 1988.

SMITH, M. F.; MC INTOSH, E. W.; SMITH, G. W. Mechanisms associated with corpus luteum development. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 72, p. 1857, 1994.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Ovine interferon tau suppresses transcription of the estrogen receptor and oxytocin receptor genes in the ovine endometrium. **Endocrinology**, Bethesda, v. 137, p. 1144-1147, 1996.

TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics and corpus luteum growth and function in pregnant versus non-pregnant dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 74, p. 115-123, 1991.

VASCONCELOS, J.L. Controle do estro e da ovulação visando a inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de leite. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 1., 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2000. p. 115-157.

WALTON, J.S.; HOLBERT, G.W.; ROBINSON, N.A.; LESLIE, K.E. Effects of progesterone and human chorionic gonadotropin administration five days post insemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 54, p. 305-308, 1990.

WANG, B.; GOFF, A. K. Progesterone modulated induction of apoptosis by interferon-tau in cultured epithelial cells of bovine endometrium. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 64, p. 543, 2001.

WATHES, D. C. Embryonic mortality and uterine environment. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 134, p. 321-325, 1992.

WEISAK, T. Effect of pregnancy, injection of estradiol benzoate or hCG on steroid concentration and release by pig luteal cells. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 86, p. 247-254, 1989.

WILTBANK, J. N.; ROTH LISBERGER, J. A.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of human chorionic gonadotropin on maintenance of the corpus luteum and embryo survival in the cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 20, p. 827-829, 1961.

XU, Z.; GARVERICK, H. A.; SMITH, G. W.; SMITH, M. F.; HAMILTON, S. A.; YOUNGQUIST, R. S. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptors messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 53, p. 951-957, 1995.

ZHENG, J.; FRIC'KE, P. M.; REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A. Evaluation of growth, cell proliferation, and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 51, p. 623, 1994.