

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA
(hCG) NO DIA 4 APÓS A IATF SOBRE TAMANHO, FUNÇÃO LUTEAL E
TAXA DE PREENHEZ EM VACAS DE CORTE EM LACTAÇÃO

DIEGO XAVIER THEDY
Médico Veterinário/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia
Área de concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março, 2014

CIP - Catalogação na Publicação

Xavier Thedy, Diego

Efeito da administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) no dia 4 após a IATF sobre o tamanho, função luteal e taxa de prenhez em vacas de corte em lactação / Diego Xavier Thedy. -- 2014.

75 f.

Orientador: João Batista Souza Borges.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Fertilidade. 2. Sobrevivência embrionária. 3. Função luteal. 4. Hormonioterapia. I. Souza Borges, João Batista, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DIEGO XAVIER THEDY
MÉDICO VETERINÁRIO

DISSERTAÇÃO


Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

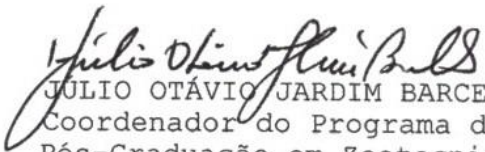
MESTRE EM ZOOTECNIA


Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 31.03.2014
Pela Banca Examinadora

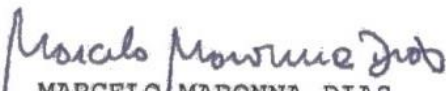
Homologado em: 17.06.2014
Por



JOÃO BATISTA SOUZA BORGES
EPG Zootecnia/UFRGS
Orientador


JULIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia


CARLOS SANTOS GOTTSCHALL
ULBRA


PAULO RICARDO LOSS AGUIAR
ULBRA


MARCELO MARONNA DIAS
UFRGS


PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

AGRADECIMENTOS

À comissão coordenadora do Programa de Pós Graduação em Zootecnia.

Ao CnPQ pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. João Batista Borges, pelos ensinamentos ao longo de minha caminhada, não apenas durante a pós-graduação, mas desde os tempos de bolsista voluntário na Unidade de Reprodução de Bovinos. Lembrarei com muito carinho o tempo que passamos juntos. Um exemplo de profissional e um grande professor.

Aos colegas da Unidade de Reprodução de Bovinos, pelo apoio durante a execução desse projeto.

Ao Dr. Marcelo Maronna Dias por apresentar-se sempre solícito, disponibilizando locais para a execução dos experimentos.

Em especial, àqueles sem os quais não seria possível a realização desse experimento: Percílio, Paulinho, Nico e Jair, funcionários da Estação Experimental Agronômica (UFRGS). Seu Joãozinho, André, Pingo e seu Luís funcionários das fazendas Porteira Velha, Ressaco e Vitória no município de Mostardas.

DEDICATÓRIA

Dedico essa etapa de minha vida àquele que muito significou à sua profissão, meu Vô Admar (*In memoriam*). Homem que considerava a ortodontia uma de suas paixões.

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA (hCG) NO DIA 4 APÓS A IATF SOBRE TAMANHO, FUNÇÃO LUTEAL E TAXA DE PREENHEZ EM VACAS DE CORTE EM LACTAÇÃO¹

Autor: Diego Thedy

Orientador: João Batista Borges

Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da aplicação de hCG no quarto dia após a inseminação a tempo fixo (IATF) sobre o tamanho do corpo lúteo (CL) existente, a indução de CL acessórios, a concentração de progesterona (P4) sérica e taxa de prenhez de vacas de corte em lactação. Nos três experimentos, vacas de corte multíparas (n=569), cruzas *Bos taurus*, com período pós-parto entre 45 e 70 dias, foram sincronizadas com a administração de 2mg de benzoato de estradiol i.m. e a inserção de um dispositivo intravaginal contendo 0,750g de P4 (Dia -9). Sete dias após, administraram-se 150 µg de D-cloprostenol e 0,5 mg de cipionato de estradiol, i.m., no momento da retirada do dispositivo (Dia -2). Sessenta vacas de corte em lactação foram divididas aleatoriamente em dois grupos: hCG (n=30) tratadas com 1500UI i.m. de hCG e Controle (n=30) injetadas com 1,5 mL de solução salina i.m. no dia 4 depois do estro (Dia 0). Realizaram-se coletas sanguíneas dos animais para mensuração da concentração sérica de P4 nos Dias 4, 7, 10 e 14 do ciclo estral. Para acompanhamento da dinâmica ovariana, sessenta animais foram divididos aleatoriamente nos grupos hCG (n=30) ou Controle (n=30) e receberam o mesmo protocolo hormonal como citado anteriormente. No Dia 0, os ovários foram examinados por ultrassonografia transretal para determinar o diâmetro do folículo ovulatório; no Dia 4, o diâmetro do FD e presença do CL e no Dia 7 para mensurar a área luteal do CL e a presença de CL acessório. Quinhentas e sessenta e nove vacas (hCG, n= 269 e Controle, n= 300) foram inseminadas a tempo fixo 52-56 horas depois da retirada dos implantes de P4 e tratadas no Dia 4, conforme o protocolo descrito. O diagnóstico de prenhez foi realizado por ultrassonografia 30 dias após a IATF. Os resultados observados, mostraram que vacas tratadas com hCG no Dia 4 apresentaram maiores concentrações sérica de P4 no Dia 7, comparadas com as do grupo Controle (4,45 vs. 3,37ng/mL, respectivamente; p<0,05), mas níveis semelhantes de P4 nos Dias 10 e 14. Os animais do grupo hCG apresentaram CL com maior (p<0,01) área luteal no Dia 7, em relação ao grupo Controle (3,52 cm² vs. 2,66 cm², respectivamente) e uma incidência de 29,6 % de indução da ovulação do FD presente no Dia 4. Observou-se uma taxa de prenhez maior (p=0,071) no grupo tratado com hCG (53,9%) comparando-se com as vacas não tratadas (46,3%). Conclui-se que a administração de hCG no quarto dia do ciclo estral promove o aumento da área do CL, melhora função luteal, pode induzir a formação de CL acessório e tende a aumentar a taxa de prenhez de vacas de corte em lactação.

Palavras-chaves: *bos taurus*, concentração de progesterona, corpo lúteo.

¹Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (75 p.) Março, 2014.

EFFECT OF ADMINISTRATION OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN (hCG) ON DAY 4 AFTER F-TAI ON SIZE, AND LUTEAL FUNCTION AND PREGNANCY RATE IN LACTATING BEEF COWS²

Author: Diego Thedy

Advisor: João Batista Borges

Abstract

The aim of this study was to determine the effects of injection of hCG on the fourth day after the TAI on the size of the existing corpus luteum (CL), the induction of CL accessories, the concentration of progesterone (P4) levels and the possibility of increasing the rate of pregnancy of lactating beef cows subjected to synchronization of estrus and ovulation. Multiparous beef cows (n= 569), *Bos taurus* crossbred with postpartum between 45 and 70 days were synchronized by administration of 2mg of estradiol benzoate im and the insertion of an intravaginal device containing 0,750g of P4 (Day -9). Seven days later, were administered 150mg of D- cloprostenol 0.5 mg of estradiol cypionate, im, at the time of device removal (Day -2). Sixty lactating beef cows were randomly divided into two groups: hCG (n= 30) treated with im 1500UI hCG and Control (n= 30) injected with 1.5 ml of saline im on day 4 after estrus (Day 0). There were blood collections of animals for measurement by radioimmunoassay of serum P4 on Days 4, 7, 10 and 14 of the estrous cycle. To evaluate the ovarian dynamics, sixty animals (hCG, n= 30 and Control, n = 30) received the same hormonal protocol and were uniformly distributed into groups according to the diameter of the ovulatory follicles on day 0 (estrus). On Day 0, the ovaries were examined by transrectal ultrasonography to determine the diameter of the ovulatory follicle, on Day 4, the diameter of the dominant follicle (DF) and the presence of CL on Day 7 to measure the area of the luteal CL and the presence of accessory CL. Five hundred and sixty-nine cows (hCG, n= 269 and Control, n= 300) were inseminated at a fixed time 52 to 56 hours after removal of the P4 devices treated on Day 4, according to the protocol described previously. The diagnosis of pregnancy were performed by ultrasonography 30 days after TAI. The results demonstrate that cows treated with hCG on Day 4 showed higher serum concentrations of P4 on Day 7, compared with the control group (4.45 vs. 3.37ng/mL, respectively, (p<0.05), but similar levels of P4 on Days 10 and 14. The animals of hCG group had greater (p<0,01) luteal area on Day 7, compared to the Control group (3.52cm² vs. 2.66cm², respectively) and a 29.6% incidence of induction DF ovulation present on Day 4. We observed a higher rate of pregnancy (p= 0.071) in the group treated with hCG (53.9%) comparing with untreated cows (46.3%). We conclude that administration of hCG on the fourth day of the estrous cycle increase the CL area, improves luteal function, can induce the formation of accessory CL and tends to increase the pregnancy rate of lactating beef cows.

Key words: *bos taurus*, corpus luteum, progesterone concentration.

²Master of Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (75 p.) March, 2014.

SUMMÁRIO

	Pág
CAPÍTULO I	13
Introdução geral.....	15
Revisão bibliográfica	16
Formação e desenvolvimento do CL.....	16
Características das células luteais e endoteliais.....	17
Função luteal.....	18
Hormônio luteinizante e hormônio do crescimento como reguladores endócrinos.....	19
Regulação da síntese de progesterona.....	19
Luteólise.....	20
Reconhecimento materno da prenhez.....	21
Tamanho do CL e sua relação com a produção de progesterona.....	22
Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG).....	23
Influência da progesterona sobre a sobrevivência embrionária.....	23
Influência do hCG sobre a taxa de prenhez.....	25
Hipótese.....	27
Objetivos.....	27
Objetivos específicos.....	27
CAPÍTULO II.....	29
Resumo.....	31
Abstract.....	32
Introdução.....	32
Materiais e métodos.....	33
Animais e locais.....	33
Escore de condição corporal.....	34
Tratamentos hormonais.....	34
Coleta sanguínea e concentração de progesterona.....	34
Exames ultrassonográficos.....	35

	Pág
Diagnóstico de prenhez.....	36
Análise estatística.....	36
Resultados e Discussão.....	36
Conclusões.....	40
Agradecimentos.....	41
Referências.....	41
Tabelas e Figuras.....	44
CAPÍTULO III.....	47
Considerações finais.....	49
Referências bibliográficas.....	50
Apêndices.....	59
Análises estatísticas.....	59
Vita.....	75

LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 1. Efeito da administração de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) no Dia 4 após a IATF em vacas de corte lactantes sobre as concentrações de progesterona (ng mL^{-1}) nos Dias 4, 7, 10 e 14.....	44
Tabela 2. Diâmetro do folículo ovulatório (mm) e taxa de ovulação de vacas de corte tratadas com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) ou solução salina, no dia 4, após a IATF.....	44
Tabela 3. Folículo dominante (mm), área do CL (cm^2) e taxa de ovulação acessória em vacas de corte tratadas com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) ou solução salina, no dia 4, após a IATF.....	44

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Diagrama do protocolo de sincronização de estro para IATF, aplicação de hCG ou salina, avaliações ultrassonográficas e coletas de amostras de sangue. hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana; BE - Benzoato de estradiol; CE – Cipionato de estradiol; PGF – Prostaglandina F2 α ; P4 – Progesterona; CS – coleta sanguínea; US – ultrassonografia.....	45
Figura 2. Taxas de prenhez 30 dias após a IATF em vacas de corte em lactação tratadas com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) ou solução salina no dia 4 após a IATF, por localidade (local 1, p=0,258; local 2, p=0,133) e total (p=0,071).....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ANGPT	Angiopietina
BE	Benzoato de estradiol
CE	Cipionato de estradiol
CL	Corpo lúteo
cm ²	Centímetros quadrados
D	Dia
ECC	Escore de condição corporal
E2	Estradiol
ESR1	Receptores para estradiol
FD	Folículo dominante
FGF	Fator de crescimento básico de fibroblastos
g	Gramas
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
IATF	Inseminação artificial a tempo fixo
IFN- τ	Interferon-tau
i.m.	Intramuscular
HDL	Lipoproteína de alta densidade
kDa	Quilo Dalton
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio Luteinizante
mg	Miligramas
μ g	Microgramas

MHz	Mega-hertz
mm	Milímetros
mL	Mililitros
n	Número
ng	Nanogramas
OXTR	Receptor para ocitocina
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
PKA	Proteína quinase A
PKC	Proteína quinase C
mRNA	Ácido ribonucleico-mensageiro
StAR	Proteína reguladora aguda da esteroidogênese
UI	Unidades internacionais
US	Ultrassonografia
VEGFA	Fator A de crescimento endotelial
α	Alfa
β	Beta

CAPÍTULO I

Introdução geral

O corpo lúteo é uma glândula transitória formada a partir da ovulação. As células foliculares, da granulosa e da teca, dão origem às células luteais grandes e pequenas, respectivamente. O corpo lúteo possui a função de produzir e secretar progesterona. A progesterona influencia os eventos reprodutivos associados com o estabelecimento e manutenção da gestação. Elevadas concentrações de progesterona imediatamente após a concepção estimula a alongação do embrião, aumento da produção de interferon-tau e pode resultar em melhores taxas de prenhez em ruminantes (Garret *et al.*, 1988, Satterfield *et al.*, 2006; Carter *et al.*, 2008).

Vacas submetidas à inseminação artificial possuem baixos índices de prenhez em relação às altas taxas de fertilização. Isso indica que a perda embrionária é um importante fator que leva a diminuição da fertilidade em rebanhos e é claramente um evento multifatorial. Aspectos nutricionais, estresse calórico, amamentação ou alta produção leiteira são descritos como fatores de risco que contribuem para a ocorrência das perdas gestacionais em bovinos. Além desses fatores, falhas na produção de progesterona têm sido relacionadas com a mortalidade embrionária. É descrito que a maioria das perdas gestacionais ocorrem durante o início do desenvolvimento embrionário, aos 7-16 dias. Havendo uma forte relação entre as concentrações de progesterona entre o 4° e 7° dia do ciclo estral com a sobrevivência embrionária. No entanto, a simples elevação da progesterona não garante o estabelecimento da prenhez. Concentrações abaixo ou acima da ótima no início do desenvolvimento embrionário ou uma baixa taxa de aumento da progesterona durante esse período estão negativamente associadas a sobrevivência embrionária (Stronge *et al.*, 2005; O'Hara *et al.*, 2013).

A suplementação com progesterona, administração de hCG ou de GnRH têm sido empregadas com intuito de prevenir perdas embrionárias relacionadas com a função luteal, no entanto, esses tratamentos apresentam considerável variação nos resultados obtidos (Nishigai *et al.*, 2002). Os experimentos que avaliam os efeitos do hCG sobre os parâmetros hormonais e reprodutivos variam na dose e momento de administração. Santos *et al.* (2001) demonstraram um aumento na taxa de prenhez em vacas sincronizadas com protocolo OvSynch pela administração de 3300UI de hCG no 5° dia após a inseminação. O efeito sobre a taxa de prenhez foi pronunciado naqueles animais com balanço energético negativo e que perderam peso entre a inseminação e o diagnóstico de gestação. Hanlon *et al.* (2005) reportaram um aumento nas concentrações de progesterona no 12° dia após a inseminação utilizando 1500UI de hCG no 5° dia do ciclo estral, no entanto, sem melhora nas taxas de prenhez. Da mesma maneira, Chagas e Silva & Lopes da Costa (2005) demonstraram não haver diferença sobre as taxas de prenhez entre animais tratados com hCG no 7° dia do ciclo em comparação ao grupo controle.

Revisão bibliográfica

Formação e desenvolvimento do corpo lúteo

O corpo lúteo (CL) é uma glândula endócrina transitória responsável, principalmente, pela produção de progesterona que regula a duração do ciclo estral, é fundamental para o desenvolvimento embrionário e para o estabelecimento da gestação.

Segundo Wiltbank *et al.* (2012), o folículo possui ambiente intersticial avascular e os componentes séricos são fornecidos diretamente às células da granulosa e ao oócito contido no compartimento folicular. Porém, após o pico de liberação do hormônio luteinizante (LH), ocorre a degradação da base da membrana folicular e há um crescimento intenso de vasos sanguíneos neste compartimento. O processo de luteinização das células foliculares resulta em mudanças morfológicas e bioquímicas. Durante o seu crescimento, o CL passa por um período de desenvolvimento extremamente rápido que envolve a hipertrofia, a proliferação e a diferenciação das células esteroideogênicas, em um processo que é acompanhado de intensa formação de novos vasos sanguíneos nesta estrutura. O CL possui tecido heterogêneo constituído de células endoteliais, células esteroideogênicas, fibroblastos, células musculares e imunológicas (Reynolds *et al.*, 1994). O CL é o único tecido nos indivíduos adultos que apresenta períodos regulares de crescimento (angiogênese), funcionalidade e regressão (luteólise).

O período de crescimento inicial é seguido pela remodelação tecidual e intensa atividade metabólica das células luteais, resultando na produção de progesterona. No CL maduro, as células parenquimatosas estão em contato com um ou mais capilares (Acosta & Miyamoto, 2004). O CL bovino é uma estrutura altamente vascularizada e produz diversos fatores angiogênicos, tais como o fator A de crescimento endotelial (VEGFA) e o fator de crescimento básico de fibroblastos (FGFb). Os fatores VEGF e FGF exibem alta expressão durante o início da fase luteal, diminuindo significativamente durante a metade da fase luteal à regressão (Shirasuna *et al.*, 2012). O VEGFA, principal fator angiogênico, possui ação mitogênica para células endoteliais e estimulador da vascularização endotelial (Connolly, 1991). Dependendo da divisão, podem formar-se 4 tipos de isoformas diferentes de VEGF. A análise da transcrição dos genes dos VEGF demonstra que o folículo e o CL expressam predominantemente as isoformas menores (VEGF120 e VEGF164).

O VEGF é predominantemente localizado nas células luteais grandes e há indícios de que o VEGF atua como um quimioatrativo para surgimento das células endoteliais (Berisha *et al.*, 2000).

Assim como o VEGF, o FGF também é um importante fator angiogênico, possuindo função no crescimento e na diferenciação celular. As atividades dos FGF são mediadas através alta afinidade dos receptores tirosina quinase (FGFR-1 a FGFR-4; Miyamoto *et al.*, 2009).

A expressão dos genes do FGF-1 no CL bovino aumenta significativamente durante a metade da fase luteal. Em contraste, a expressão para FGF-2 está aumentada durante a fase inicial (dias 1-2), os receptores do FGF estão aumentados nos primeiros 4 dias e diminuem a partir desse momento. As concentrações de FGF no tecido está aumentado durante o início (dias 5-7)

e fim da fase luteal. Durante estágios iniciais (dias 1-4), há uma forte expressão do FGF-2 no citoplasma das células endoteliais dos capilares e células musculares das arteríolas. Em contraste, FGF-1 é muito baixo no citoplasma das células luteais grandes no início da fase luteal. Dessa maneira, a localização dos FGF-1 e FGF-2 sugerem diferentes funções desses fatores no CL (Schams *et al.*, 2002).

Segundo Yamashita *et al.*, (2008) a neutralização dos VEGFA e FGF2 pela utilização de anticorpos durante a fase luteal inicial, leva a uma supressão da expressão do mRNA para esses fatores, assim como inibe a proliferação das células endoteliais e a concentração plasmáticas de P4.

As angiopoietinas (ANGPT) são extremamente importantes na angiogênese ovariana. ANGPT1 e ANGPT2 são essenciais para a desestabilização dos vasos existentes, assim como para a maturação dos novos vasos (Wulff *et al.*, 2000). A estabilidade vascular é determinada pelo balanço da ligação das ANGPT1 e ANGPT2 aos receptores. O predomínio de ANGPT1 induz o recrutamento de pericitos dando estabilidade vascular, no entanto, o ANGPT2 inibe completamente esse efeito, levando à desestabilização (Goede *et al.*, 1998). No CL bovino, há uma maior expressão de mRNA de ANGPT1 no terço final da fase luteal, já para o ANGPT2 não há mudanças durante a fase luteal (Tanaka *et al.*, 2004). Segundo Yamashita *et al.* (2008), o tratamento com anti-VEGFA inibe a proporção de ANGPT2/ANGPT1 no CL bovino, sugerindo que o VEGFA pode desestabilizar os capilares intraluteais coincidindo com a expressão para a ANGPT2.

Características das células luteais e endoteliais

Existem três grupos celulares principais que formam o CL: as células esteroidogênicas grandes, as células luteais esteroidogênicas pequenas e as células endoteliais vasculares. Além destas, existem outros tipos celulares no CL, como os fibroblastos, outras células vasculares e as células imunológicas (Pate e Keyes, 2001).

As células luteais grandes ocupam grande parte do volume do CL, cerca de 40% do volume total, porém, representam apenas 3,5% do número total de células luteais (Oschea *et al.*, 1989). Segundo Parkinson *et al.* (1994) as células luteais grandes ocupam cerca de 40% do volume luteal entre o 8° e o 12° dia do ciclo estral. No 16° dia do ciclo estral chegam a ocupar 60% do volume, aumentando para quase 70% depois do 19° dia. Essas células medem 20-30µm, hipertrofiam-se porém, não se multiplicam, produzem grandes quantidades de progesterona, não são responsivas à estimulação de LH (Farin *et al.*, 1986) e secretam mais de 85% da progesterona produzida.

A origem celular das grandes células luteais tem sido atribuída a células da granulosa, sendo baseada nas avaliações temporais sequenciais do CL após a ovulação, luteinização e desenvolvimento, porém, sua origem tem sido questionada por diversos pesquisadores (Wiltbank *et al.*, 2012). Durante o processo de diferenciação que dá origem à célula luteal grande, o diâmetro da célula da granulosa de 10µm, antes do pico pré-ovulatório de LH, aumenta para 38µm quando se torna uma célula luteal grande inteiramente funcional. Sendo que para esse aumento de diâmetro, considera-se um aumento de 50 vezes no volume celular (Wiltbank, 1994). O número de células luteais grandes é similar

ao número de células da granulosa no folículo ovulatório (Smith *et al.*, 1994), reforçando a ideia de que as células da granulosa se diferenciam em células luteais grandes sem hiperplasia, mas com hipertrofia substancial.

As células luteais pequenas desenvolvem-se a partir das células da teca do folículo. Em bovinos, as células luteais pequenas possuem cerca de um décimo do volume das células luteais grandes (3.000 vs. 30.000 μm^3). No entanto, estima-se que por grama de tecido, existam 100 milhões de células luteais pequenas, comparado a 13,8 milhões de células luteais grandes. Dessa maneira, as células luteais pequenas ocupam um volume de 27,7% do CL entre os dias 8 e 12 do ciclo estral (Oshea *et al.*, 1989).

Existem distinções morfológicas entre as células esteroideogênicas, como núcleo esférico presente nas células grandes, porém, irregular nas pequenas. Também é observada a presença de retículo endoplasmático rugoso e grânulos secretores nas células luteais grandes, que estão ausentes nas pequenas (Wiltbank, 1994). As células luteais pequenas apresentam grandes quantidades de receptores para LH, em relação às células luteais grandes, porém, menores quantidades de receptores para estradiol (E2) e prostaglandina F2 α (PGF2 α ; Fitz *et al.*, 1982).

No CL maduro, cerca de 60% das células luteais esteroideogênicas são diretamente adjacentes a um capilar (Niswender *et al.*, 1994). O CL tem um dos maiores fluxos de sangue por massa de tecido no corpo (Wiltbank, 1994).

O fluxo sanguíneo aumentado no CL é essencial, não somente para a secreção e liberação de progesterona do CL para a circulação sistêmica, mas também para a entrega eficiente de hormônios, nutrientes e substrato para células luteais (Shirasuna *et al.*, 2010). Os capilares luteais são altamente fenestrados e permitem a troca entre as células luteais e a corrente sanguínea, resultando também em grande permeabilidade para as proteínas séricas. Dessa maneira, a alta taxa de fluxo sanguíneo luteal, superfície exagerada da área da membrana plasmática no lado vascular das células luteais e a natureza da alta permeabilidade dos capilares luteais permitem a eficiente troca de proteínas e hormônios entre as células luteais e o fluxo sanguíneo (Wiltbank *et al.*, 2012).

Função luteal

Após a ovulação, as células da granulosa e da teca, que sintetizavam estrógenos, são reorganizadas para formarem o CL e passam a sintetizar progesterona. Essa mudança de especialidade, ocorre pela diminuição da expressão da enzima P450_{arom}, que converte androstenediona em estrógeno pelas células da granulosa, determinando o início da luteinização das células foliculares. Para que a progesterona seja sintetizada, além da diferenciação celular, é necessário um aumento na expressão das enzimas que convertem o colesterol em progesterona e de proteínas que transportam o colesterol para o interior da membrana mitocondrial. No interior desta membrana o colesterol, interage com a enzima P450_{scc}, que o cliva e gera pregnolona (Bertan *et al.*, 2006). A pregnolona é o precursor da progesterona e essa conversão é realizada pela ação da β -hidroxiesteróide desidrogenase ($\Delta^5 \Delta^4$ isomerase-3 β -HSD). Dessa maneira, a produção de progesterona no CL é caracterizada pelo aumento na expressão das enzimas que convertem colesterol em progesterona

e pelo decréscimo na expressão das enzimas que convertem progesterona em estradiol.

Hormônio luteinizante e hormônio do crescimento como reguladores endócrinos

Nos animais domésticos, o hormônio luteinizante (LH) e hormônio do crescimento (GH) são os hormônios luteotróficos primários que permitem o desenvolvimento e função do CL. É observado um aumento do número de receptores para o LH e GH entre os 5-18 dias do ciclo estral (Schams & Berisha, 2004).

O LH é o principal hormônio estimulador da produção de progesterona pelas células luteais pequenas (Niswender *et al.*, 2000). O mecanismo pelo qual o LH estimula a secreção de P4 envolve a formação de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), ativação de PKA, e subsequente aumento na produção de progesterona. No entanto, o padrão pulsátil do LH sobre o desenvolvimento e a função luteal normais não é claramente entendido. Em bovinos, o tratamento com o antagonista do GnRH durante o desenvolvimento luteal prejudica a funcionalidade do CL, indicando que a liberação pulsátil do LH é necessária para esse processo (Peters *et al.*, 1994). Em ovelhas, o tratamento com antagonista durante a manutenção luteal teve poucos efeitos sobre a secreção de progesterona. Dessa maneira, a liberação pulsátil do LH parece ser necessária para o desenvolvimento luteal em ruminantes, porém, não é determinante para a secreção de P4, diferentemente do que ocorre em primatas (Niswender *et al.*, 2000).

Os receptores para GH estão localizados principalmente nas células luteais grandes. O GH tem sido identificado como um estimulador da secreção de progesterona e ocitocina pelo CL bovino *in vitro* (Lieberman & Schams, 1994) e responsável pela manutenção e pelo desenvolvimento do CL *in vivo* (Juengel *et al.*, 1997).

Regulação da síntese de progesterona

O colesterol é transportado aos ovários através de lipoproteínas (HDL e LDL), sendo o precursor necessário para síntese esteroidogênica. A primeira etapa da esteroidogênese ocorre nas mitocôndrias, sendo que o transporte do colesterol para o interior da membrana parece ser um dos possíveis limitantes para a síntese da progesterona. A principal proteína responsável pelo transporte do colesterol do citoplasma para o interior da membrana mitocondrial é a *Steroidogenic Acute Regulatory Protein* (StAR). (Rekawiecki *et al.*, 2008). A proteína StAR é sintetizada como uma proteína de 37 kDa que contém uma sequência alvo na mitocôndria (Stocco & Sodeman, 1991) e sítios de fosforilação das PKA e PKC (Niswender, 2002).

Segundo Papadopoulos *et al.* (1997), a fosforilação da PBR pela PKA aumenta o transporte do colesterol e esse receptor pode servir como um canal para o colesterol. Como o transporte do colesterol para o interior da membrana mitocondrial parece ser um ponto crucial na regulação da secreção da progesterona, esta característica resulta em formas diferentes de controle da secreção desse hormônio nos dois tipos de células luteais. Para Niswender (2002), nas células luteais pequenas, a ligação do LH com o receptor na

membrana celular ativa a PKA, estimulando a produção de P4. A fosforilação da PKC em seu sítio alvo na mitocôndria pode estar envolvida com a redução no transporte do colesterol e da esteroidogênese. A ativação farmacológica da PKC inibe a síntese de progesterona nas células luteais pequenas, embora os fatores que ativam a PKC não sejam completamente elucidados. Nas células luteais grandes, a ligação do LH ao receptor não aumenta os níveis intracelulares de cAMP responsável pela ativação da PKA, nem a síntese de progesterona. Apesar da grande diferença de tamanho entre as células luteais, a concentração relativa da StAR não é diferente entre os dois tipos celulares

A produção essencial/constitutiva de progesterona pelo CL de ruminantes é um reflexo da produção nas células luteais grandes. Estudos realizados com inibidor da PKA demonstram um bloqueio na produção de progesterona pelas células luteais após a administração do PKI (Diaz *et al.*, 2002). Bogan e Niswender (2007), mostraram que esse inibidor não diminuía as concentrações de cAMP nas células luteais grandes ou pequenas, mas inibia a produção de P4 pelas células luteais grandes. Dessa maneira, as células luteais grandes de ruminantes são capazes de produzir altas concentrações de progesterona, aparentemente independente da ação de LH ou do cAMP (Wiltbank *et al.*, 2012).

Luteólise

A regressão luteal, denominada luteólise, é caracterizada pela perda estrutural do corpo lúteo. Durante a luteólise dois eventos ocorrem: primeiro há uma perda na capacidade de sintetizar e secretar progesterona, seguida pela perda das células luteais. Ou seja, ocorre um regresso funcional, pela cessação da produção de progesterona; e uma perda morfológica, devido à perda da integridade celular, além da redução no suprimento vascular (Miyamoto, 1996).

Na maioria das espécies de mamíferos, a luteólise é dependente da presença do útero. A prostaglandina F2 α é produzida pelo útero e desencadeia o processo da luteólise. O início da luteólise parece estar atribuída localmente em cada corno uterino e o ovário ipsilateral (Del Campo & Ginther, 1972). Durante a regressão, a diminuição inicial das concentrações de progesterona no soro está relacionada a diminuição do fluxo sanguíneo e a diminuição da capacidade esteroidogênicas individuais das células luteais (Braden *et al.*, 1988). A luteólise é um processo que ocorre quando não há o reconhecimento da gestação e ocorre através da secreção pulsátil de PGF2 α , foi estabelecido a necessidade de ocorrerem 5 pulsos para que ocorra a luteólise completa. A PGF2 α sintetizada pelo endométrio chega ao ovário através de um mecanismo de contracorrente entre a veia uterina e a artéria ovariana, permitindo que a PGF2 α chegue diretamente no ovário, sem entrar na circulação sistêmica sem a perda de sua atividade já que evita a passagem pelos pulmões (Piper *et al.*, 1970).

Em ruminantes, a ocitocina é um dos hormônios que determina a luteólise (McCracken *et al.*, 1996). O estradiol produzido do folículo pré-ovulatório leva a liberação de ocitocina pela hipófise e estimula uma pequena quantidade de PGF2 α . Por sua vez a PGF2 α através de um *feedback* positivo envolve a liberação de ocitocina e PGF2 α pelo CL e útero. No final da fase luteal, há a inibição dos receptores de progesterona na hipófise e endométrio,

permitindo a ação do estradiol, induzindo um aumento no número de receptores de ocitocina no endométrio, iniciando o mecanismo de retroalimentação com pequenas quantidades de secreção de PGF2 α , as quais não são suficientes para causar luteólise. A luteólise ocorre quando há uma alta amplitude de secreção dos pulsos de PGF2 α , através da secreção suplementar de ocitocina (Tsai & Wiltbank, 1997).

Há evidências de que a exposição a progesterona ou a inibição da ação da progesterona através de um antagonista, durante a fase inicial à metade do diestro, regulam o início da liberação da PGF2 α , diminuindo ou estendendo o intervalo entre estros em vacas. Isso significa que a progesterona é capaz de regular a duração do CL (Schams e Berisha, 2004).

A PGF2 α desencadeia uma série de mudanças morfológicas no corpo lúteo. Há uma diminuição na proporção das células luteais esteroideogênicas. O número de células luteais grandes ocorre juntamente com a redução no tamanho dessas células e precede a diminuição do número de células luteais pequenas (Braden *et al.*, 1988). As mudanças morfológicas nas células luteais não é evidente até 36 horas após a exposição à PGF2 α , no entanto, a capacidade esteroideogênica dessas células é marcadamente reduzida nesse período (Sawyer *et al.*, 1990). As células endoteliais do corpo lúteo são os primeiros tipos celulares a demonstrarem os efeitos à exposição de PGF2 α o que indica o início da apoptose (Kerr *et al.*, 1972).

Reconhecimento materno da prenhez

O reconhecimento materno da gestação pode ser definido como o processo pelo qual o embrião sinaliza ao útero de sua presença e viabilidade, permitindo assim a manutenção do corpo lúteo e, por consequência, da gestação. Entretanto, nos casos de falha na fertilização ou de desenvolvimento inicial inadequado do embrião, este mecanismo de comunicação falha e a síntese e descarga de prostaglandina F2 α induzem à luteólise, restabelecendo um novo ciclo estral (Mann e Lamming, 1999).

A comunicação bioquímica para o reconhecimento da gestação em bovinos ocorre aproximadamente entre o dia 15 e 17 após a fecundação, sendo considerado o “período crítico” para que haja o estabelecimento da prenhez (Binelli *et al.*, 2001). Diskin e Sreenan (1980) relataram que 10% das mortes embrionárias ocorrem devido a falhas de fertilização e no desenvolvimento embrionário até o dia 8 pós-fertilização, enquanto mais de 30% das mortes embrionárias ocorrem entre o dia 8 e 16 pós-fertilização. Neste período, há eventos fisiológicos coincidentes que são responsáveis pelo mecanismo de reconhecimento da gestação, como o alongamento do embrião e a máxima síntese e secreção de interferon-tau (IFN- τ) (Mann *et al.*, 1999).

O IFN τ é uma glicoproteína secretada no período pré-implantação por células do trofoblasto do concepto que bloqueia a secreção pulsátil de prostaglandina F2 α (PGF2 α) endometrial, preservando o funcionamento do corpo lúteo (Gray *et al.*, 2002). A secreção de IFN- τ ocorre entre o 12^o e 26^o dia, com pico entre os dias 15 e 16 (Farin *et al.*, 1990). O IFN- τ tem ação parácrina sobre o útero, inibindo a expressão dos receptores de estrógeno (ESR1) e de ocitocina (OXTR) nas células do epitélio luminal do endométrio, assim, controlando a liberação pulsátil de prostaglandina (Spencer e Bazer, 1995).

O reconhecimento materno da gestação depende tanto do embrião como das funções uterinas e ovarianas maternas. Quanto maior for o conceito e a área que ele ocupa no útero mais eficiente é o controle da inibição da síntese de prostaglandina (Mann *et al.*, 1999). Entretanto, o ótimo crescimento do conceito está relacionado ao condicionamento do ambiente uterino mediado pela progesterona produzida pelo corpo lúteo (Kerbler *et al.*, 1997). Conforme Bazer *et al.* (1986), o hormônio determinante para a manutenção da gestação é a progesterona que induz a diferenciação do estroma uterino, estimula secreções das glândulas endometriais, promove o acúmulo de vacúolos basais no epitélio glandular e define o padrão de secreção de proteínas pelas células endometriais. Estes fatores histotróficos são responsáveis por proporcionar um ambiente uterino apropriado para o desenvolvimento inicial do embrião. Assim observa-se, conforme Mann e Lamming (1999), uma relação inversa entre mortalidade embrionária e concentração circulante de progesterona, principalmente entre os dias 4 e 9 após o acasalamento e durante o período que se dá o reconhecimento materno da gestação, ratificando a importância da funcionalidade do corpo lúteo para o estabelecimento da prenhez.

Tamanho do CL e sua relação com a produção de progesterona

Em diversos trabalhos a concentração plasmática de P4 é associada à sobrevivência embrionária e está relacionada com a capacidade CL em produzir esse hormônio. O tamanho do CL é frequentemente associado com maiores níveis de P4 plasmáticas, porém, alguns estudos demonstram inconsistências na relação entre esses parâmetros (Yung *et al.*, 1996; Sartori *et al.*, 2002). Aparentemente, existe uma relação entre o tamanho do CL e concentração de P4 dependendo do dia do ciclo estral (Mann, 2009). O CL apresenta um aumento de tamanho até o 8°-9° dia do ciclo estral, indicando uma maturidade física da estrutura, contudo, a máxima concentração de P4 ocorre entre 13°-16° dias (Taylor & Rajamahendram, 1991; Mann 2009). No 5° dia do ciclo estral foi demonstrada uma forte relação positiva entre o peso do CL e a concentração de P4. No entanto, no 8° e 16° essa relação não é mais presente. Dessa maneira, durante o período de rápido desenvolvimento físico, o tamanho do CL é um importante determinante da produção de P4. No entanto, uma vez que o CL adquiri maturidade física, o seu tamanho não mais reflete a esteroidogênese, a qual é regulada por outros fatores (Mann, 2009).

O aumento de volume luteal e da P4 durante os primeiros 7 dias se dá devido a hipertrofia das células luteais grandes. Sartori *et al.* (2002) demonstraram que a concentração de P4 aumenta constantemente até a segunda semana de desenvolvimento do CL, sem aumento detectável do volume luteal após a primeira semana. Essa desconexão entre o desenvolvimento do CL e a produção de P4 pode ser explicada também pela hiperplasia continuada nas células luteais à medida que a proporção das células luteais grandes aumenta em relação ao tamanho total do CL, além da aumentada capacidade esteroidogênicas nessas células (Parkinson *et al.*, 1994).

Gonadotrofina coriônica humana (hCG)

A gonadotrofina coriônica humana (hCG) é um membro dos hormônios glicoproteicos, e é sintetizada pelo embrião entre 2-8 dias após a

fertilização, depois desse período é principalmente produzida pelas células sinciciais placentárias (de Medeiros & Norman, 2009). Os hormônios glicoproteicos são constituídos por duas subunidades distintas, α e β . A sequência de aminoácidos da subunidade α são comuns entre os hormônios glicoproteicos, no entanto, a sequência para a subunidade β são individuais e determinam a atividade biológica. Devido à alta similaridade entre o hCG e as subunidades β -LH (80%), a aplicação do hCG esteve relacionada a indução da ovulação em mulheres. A meia-vida do hCG, após aplicação é bifásica, apresentando uma fase rápida 5 a 9 horas e uma fase lenta 24 a 33 horas após (Stenman *et al.*, 2006). Nos animais domésticos, o hCG é utilizado devido sua atividade de LH, e por sua ação ser mais duradoura que a do LH. A ação luteinizante do hCG nas células ovarianas é reconhecida em várias espécies. Em vacas, o tratamento com hCG possui um potente efeito de LH que por sua vez: estende a vida do corpo lúteo, aumentando a produção de progesterona (Sianangama & Rajamahendram, 1992); induz a ovulação durante o ciclo estral (Price & Webb, 1989); promove a formação de CL acessório, quando administrado no início da fase luteal (Santos *et al.*, 2004) e modifica a dinâmica folicular (Diaz *et al.*, 1998).

Os tratamentos com hCG ou GnRH possuem efeito similar sobre o ovário. No entanto, a meia-vida do hCG é seis vezes maior a do GnRH. Além disso, o CL formado a partir da administração de GnRH parece não ser totalmente funcional (Schmitt *et al.*, 1996). Dessa maneira, o hCG é capaz de aumentar as concentrações de progesterona em relação ao tratamento com GnRH (Fricke *et al.*, 1993). Taxas de prenhez similares têm sido reportadas após a sincronização com protocolos hormonais à base de hCG ou GnRH em vacas de corte (Geary *et al.*, 2001) e vacas de leite (de Rensis, 2002). O protocolo OvSynch é um dos mais utilizados para induzir a ovulação para inseminação artificial a tempo fixo (Pursley *et al.*, 1995). No entanto, a eficiência desse protocolo em alguns animais é comprometida devido à ausência de ovulação em resposta ao medicamento (Vasconcellos *et al.*, 1999). A administração de hCG substituindo a segunda aplicação de GnRH, permite a elevação plasmática de progesterona nos dias 3, 6 e 9 após a inseminação, diminuindo o intervalo parto-concepção. Dessa maneira, há um efeito positivo naqueles animais que não concebem na inseminação (de Rensis *et al.*, 2010).

Influência da progesterona sobre a sobrevivência embrionária

Baixas concentrações de P4, bem como um atraso no aumento da P4 pós-ovulatória, estão associadas à diminuição da elongação do blastocisto, maiores perdas embrionárias e baixas taxas de concepção (Stronge *et al.*, 2005; Carter *et al.*, 2008). A manutenção da gestação depende, em parte, da secreção de progesterona durante o período inicial. O crescimento e o desenvolvimento do concepto requerem a ação da progesterona no útero para regular a função endometrial, incluindo reconhecimento da prenhez e preparação uterina para a implantação embrionária. Além disso, a concentração elevada de progesterona logo após a concepção está associada com alongamento do embrião e aumento da produção de IFN- τ (Lonergan, 2011). A produção de progesterona de um corpo lúteo de baixa qualidade durante as primeiras três semanas de gestação tem sido relacionada com falhas gestacionais no período inicial. Independente

da causa, baixos níveis de progesterona contribuem com a queda na fertilidade em vacas (Santos *et al.*, 2001).

Essa relação entre P4 e sobrevivência embrionária levaram a investigações do efeito da suplementação de P4 no diestro ou após a inseminação. Esses estudos levaram a resultados conflitantes (Diskin & Sreenam, 1980; Garret *et al.*, 1988; Macmillan *et al.*, 1991). Mann & Lamming (1999) realizaram uma meta-análise de 17 estudos e encontraram um aumento de 5% na taxa de concepção com a suplementação com P4 após a inseminação. A suplementação com P4, pós-ovulação, oriunda de implantes intravaginais também podem apresentar efeito negativo sobre a taxa de concepção (Rhodes *et al.*, 2001; Hanlon *et al.*, 2004). Hanlon *et al.* (2004) concluíram que os implantes liberadores de P4 não elevam suficientemente os níveis de P4 e esse método de aumentar a P4 endógena durante o diestro deveria ser investigado. Nascimento *et al.* (2012) demonstraram que a utilização de CIDR entre 5°-19° dias do ciclo estral em vacas holandesas em lactação não melhorou a concentração de P4 quando comparado ao grupo controle, porém, a administração de hCG juntamente com CIDR permitiu a elevação da P4 igualmente à categoria de novilhas.

Os estudos realizados sobre suplementação com P4, com intuito de melhorar a taxa de concepção, têm os resultados muito variados. Parte dessa variação está relacionada, provavelmente, ao fato de que apenas alguns animais, aqueles com baixa concentração natural de P4, possam se beneficiar com os efeitos da suplementação de P4 exógena. Além disso, definir com precisão o estágio de desenvolvimento embrionário em que há um efeito positivo sob altas concentrações de P4 é desconhecido (Beltman *et al.*, 2009). Segundo Mann e Lamming (2001), vacas com baixos níveis de P4 no momento em que o embrião apresenta um estágio de mórula para blastocisto apresentaram embriões de menor tamanho e com menor produção de INF- τ entre os 13°-16° dias do ciclo estral.

O aumento das concentrações de P4 durante o metaestro ou início do diestro pode comprometer o desenvolvimento do CL (O'Hara *et al.*, 2013), assim como inibir a secreção de LH (Baratta *et al.*, 1994), e conseqüentemente, a diferenciação das células luteais. Além disso, a suplementação com P4 entre o 1°-3° dias do ciclo pode levar a luteólise precoce, resultando em ciclo curtos (O'Hara *et al.* 2013). Entre o 1°-4° dia do ciclo, pode diminuir a função luteal, a suplementação mais tardia (3°-6°, 4°-7° ou 5°-8°) pode não apresentarem tal efeito (Pugliesi *et al.*, 2014).

Além da suplementação de P4, a elevação na concentração de P4 precocemente durante o diestro pode ser realizada através da indução da luteinização de corpos lúteos acessórios em resposta a administração de GnRH (Howard *et al.*, 2006; Machado *et al.*, 2008) ou hCG (Stevenson *et al.*, 2007, Wallace *et al.*, 2011), assim como, aumentando a área luteal em resposta a administração de hCG, em torno de 2-5 dias pós-ovulação. No entanto, o tratamento com hCG após o 6° dia do ciclo estral, com o intuito de melhorar a função do CL ou de formar CL acessórios, pode ser tarde para aumentar a sobrevivência embrionária (Howard *et al.*, 2006). Para Diskin *et al.* (2002), o folículo dominante adquirir capacidade de responder ao GnRH ou hCG a partir do quinto dia do ciclo. A administração de hCG entre 5°-7° dias após o diestro ou da

inseminação artificial é capaz de aumentar as concentrações de P4 em vacas de leite em lactação (Santos *et al.*, 2001; Hanlon *et al.*, 2005; Stevenson *et al.*, 2007), novilhas leiteiras (Diaz *et al.*, 1998; Chagas e Silva & Lopes da Costa, 2005), vacas de corte (Nishigai *et al.*, 2002; Machado *et al.*, 2008) e novilhas de corte (Funston *et al.*, 2005). Dahlen *et al.* (2010) demonstraram que a administração de hCG no sétimo dia do ciclo estral não melhora o volume luteal do CL original, porém, os animais tratados apresentaram melhores níveis de P4 e 90,1% de CL múltiplos no 14° dia do ciclo estral em comparação ao grupo controle.

A baixa qualidade morfológica do embrião é um fator relacionado à morte embrionária precoce (Nishigai *et al.*, 2002). Embriões bipartidos podem ser um bom modelo para o estudo dos efeitos da administração de hCG sobre a sobrevivência de embriões com baixa viabilidade, já que embriões submetidos à bipartição possuem maiores taxas de mortalidade embrionária precoce e tardia (Chagas e Silva *et al.*, 2008). Segundo Torres *et al.* (2013), o efeito positivo do hCG sobre a sobrevivência de embriões bipartidos, só foi associado ao desenvolvimento de CL secundários. O autor levanta a hipótese de que CL secundários secretam fatores embriotróficos além da P4, os quais podem atuar localmente no útero ou/e no embrião.

Influência do hCG sobre a taxa de prenhez

Alguns estudos demonstram que a administração de hCG em diferentes dias do ciclo estral pode melhorar a taxa de prenhez em vacas leite (Santos *et al.*, 2001; Hanlon *et al.*, 2005), vacas de corte (Nishigai *et al.*, 2002) novilhas de leite (Chagas e Silva & Lopes da Costa, 2005) e novilhas de corte (Funston *et al.*, 2005). A administração de hCG é utilizada com o intuito de aumentar as concentrações de progesterona endógena produzida pelo corpo lúteo. O aumento dos níveis de progesterona ocorre através da indução da ovulação do folículo dominante da primeira onda de crescimento folicular que por consequência, leva a formação de corpos lúteos acessórios; bem como pelo efeito luteotrófico do medicamento sobre o corpo lúteo primário. Esse fenômeno tem sido a hipótese de estudos na tentativa de aumentar as taxas de prenhez ou diminuir as perdas gestacionais (Nishigai *et al.* 2002; Dahlen *et al.*, 2010; Fischer-Tenhagen *et al.*, 2010). O ambiente no qual o embrião em desenvolvimento é exposto logo após a fertilização é crucial na determinação da sua taxa de alongação e a sua capacidade de produzir suficiente INF- τ , bloqueio do mecanismo luteolítico, estabelecimento e manutenção da prenhez (Spencer *et al.*, 2007). Concentrações elevadas de progesterona imediatamente após a concepção têm sido associadas com maior desenvolvimento embrionário (Satterfield *et al.*, 2006; Carter *et al.*, 2008), aumento da produção de INF- τ (O'Hara *et al.*, 2013) e podem refletir sobre os índices de prenhez (Dahlen *et al.*, 2010).

Por outro lado, vacas com baixos níveis de progesterona durante o diestro apresentam taxas de prenhez mais baixas (Lukaszewska & Hansel, 1980; Mann & Lamming, 1999). O atraso no aumento das concentrações de progesterona e concentrações subótimas durante os dias 7 a 16 do ciclo estral estão associados com embriões com menores números de células, bem como maiores perdas embrionárias (Mann *et al.*, 1996). A administração de hCG entre o 5° e 16° dias após a inseminação aumentam as taxas de prenhez e

sobrevivência embrionária (Sianangama & Rajamahendran, 1992; Breuel *et al.*, 1990; Kerbler *et al.*, 1997). Esses resultados reforçam a hipótese de que o aumento das concentrações endógenas de progesterona reduz a mortalidade embrionária em bovinos. Segundo Fischer-Tenhagen *et al.* (2010), a administração de hCG no quarto dia do ciclo estral em vacas de leite pode reduzir a mortalidade embrionária durante o verão. Diferenças entre os resultados das pesquisas que utilizam o hCG para melhorar as taxas de prenhez podem estar relacionadas ao fato de que o hCG é efetivo em reduzir as perdas embrionárias apenas durante a prenhez inicial (De Rensis *et al.*, 2010).

Hipótese

A administração de Gonadotrofina Coriônica Humana no quarto dia do ciclo estral promove o crescimento do corpo lúteo existente, induz a ovulação do primeiro folículo dominante e formação de um corpo lúteo acessório, promove o aumento concentração sérica de progesterona e incrementa a taxa de prenhez em vacas de corte em lactação inseminadas a tempo fixo.

Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da administração de hCG no quarto dia do ciclo estral sobre o desenvolvimento do CL, a função lútea e a sua relação com a fertilidade de vacas de corte inseminadas a tempo fixo.

Objetivos específicos

- Determinar as concentrações séricas de P4 nos dias 4, 7, 10 e 14.
- Avaliar o efeito luteotrófico do hCG através do tamanho luteal no D7.
- Determinar a taxa de indução da ovulação do folículo dominante no D4 e a formação de corpos lúteos acessórios.
- Avaliar o efeito da aplicação de hCG no dia 4 após a IATF sobre as taxas de prenhez.

CAPÍTULO II

**Administração de Gonadotrofina Coriônica Humana para estimulação da função luteal
em vacas de corte lactantes**

Diego Xavier Thedy⁽¹⁾, Marcelo Maronna Dias⁽²⁾ e João Batista Souza Borges⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, n° 9090, Agronomia, CEP 90540-000 Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: dxthedy@yahoo.com.br,

joao.borges@ufrgs.br ⁽²⁾Médico Veterinário autônomo, Rua Liberdade, 432, Rio Branco, CEP 90420-090, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: mmaronna@terra.com.br,

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da administração de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), no dia 4 após a inseminação artificial a tempo fixo (IATF) sobre a concentração de progesterona sérica, o desenvolvimento do corpo lúteo, a formação de corpo lúteo acessório e a taxa de prenhez de vacas de corte lactantes. Quinhentos e sessenta e nove animais, 45-70 dias pós-parto, foram submetidos a um protocolo a base de progesterona, estradiol e prostaglandina para a IATF (Dia 0). Quatro dias depois, aplicou-se 1500UI de hCG (n= 269) ou solução salina (n=300). Dosagens de progesterona sérica foram realizadas nos Dias 4, 7, 10 e 14. As estruturas ovarianas foram avaliadas por ultrassonografia nos Dias 0, 4, 7 e o diagnóstico de gestação realizado no Dia 30. As vacas que receberam hCG apresentaram maior concentração de progesterona sérica, área do corpo lúteo e frequência de corpo lúteo acessório, comparando-se com as não tratadas. As taxas de prenhez foram de 53,9% (145/269) no grupo hCG e de 46,3% (139/300) no grupo Controle (p= 0,07). Conclui-se que a aplicação de hCG 4 dias após a IATF estimula a função lútea e tende a elevar a taxa de prenhez em vacas de corte. Termos para indexação: *Bos taurus*, progesterona, taxa de prenhez.

**Administration of Human Chorionic Gonadotropin to stimulate corpus luteum function
in lactating beef cattle**

Abstract – The aim of this work was to evaluate the effect of administration of human chorionic gonadotropin (hCG) on day 4 after the fixed time artificial insemination (FTAI) on serum

progesterone concentration, development of the corpus luteum, induction of accessory corpus luteum and pregnancy rate of lactating beef cows. Five hundred and sixty nine animals, 45-70 days postpartum, were submitted to a protocol based on progesterone, estradiol, and prostaglandin to FTAI (Day 0). Four days later, cows were injected with 1500UI hCG (n = 269) or saline (n = 300). Serum progesterone concentration was determined on Days 4, 7, 10 and 14. Ovarian structures were evaluated by ultrasonography on Days 0, 4, 7 and pregnancy diagnosis was done on Day 30. Cows that received hCG had higher serum progesterone concentration, corpus luteum area and frequency of accessory corpus luteum, compared with those not treated. Pregnancy rates were 53.9% (145/269) in the hCG group and 46.3 % (139/300) in the Control group (p= 0.07). We conclude that hCG 4 days after FTAI stimulates luteal function and tends to increase the pregnancy rate in beef cows.

Index terms: *Bos taurus*, progesterone, pregnancy rate.

Introdução

Nos últimos anos, o uso da inseminação artificial a tempo fixo (IATF) em vacas de corte disseminou-se largamente no Brasil, devido a facilidade de aplicação dos protocolos de sincronização de estros/ovulação e pela possibilidade de promover o melhoramento genético dos rebanhos. Frequentemente, os índices de prenhez após a IATF em vacas de corte lactantes situam-se próximos de 50%, tendo como possíveis causas de insucesso a falha na ovulação, a reduzida função lútea e perdas gestacionais. Segundo Borges & Gregory (2003), vacas de corte frequentemente (até 40%) apresentam função lútea reduzida com baixa produção de progesterona e a vida do corpo lúteo (CL) encurtada durante a fase de transição para retomada da função cíclica ovariana no pós-parto. A progesterona desempenha um importante papel nos eventos reprodutivos relacionados com o estabelecimento e a manutenção da prenhez. A concentração desse hormônio durante o período do desenvolvimento embrionário inicial é um dos fatores fundamentais para a fertilidade em fêmeas bovinas (Mann e Lamming, 1999).

Estudos têm demonstrado relação entre as concentrações de progesterona circulantes nos dias 5, 6 e 7 após a ovulação e a viabilidade embrionária em vacas de corte (Carter et al., 2008; Forde et al., 2009) e leiteiras (Larson et al., 2007). Shelton et al. (1990) relataram que a elevação tardia da progesterona durante a processo de formação do CL afeta o desenvolvimento embrionário e pode estar relacionado a redução na taxa de prenhez após a IA. Como alternativas para promover a função lútea e a viabilidade embrionária, terapias hormonais têm sido testadas em diferentes momentos após a IA, utilizando a suplementação de progesterona (Carter et al., 2008; O'Hara et al., 2013), GnRH (Howard et al., 2006) ou hCG (Stevenson et al. 2007; Rizos et al. 2012; Wecker et al., 2012). A administração de hCG durante o período de formação do CL tem como objetivos estimular a produção de progesterona, induzir a ovulação do primeiro folículo dominante e formar um CL acessório. Em alguns estudos (Mann & Lamming, 1999; Santos et al. 2001), o uso do hCG após a IA resultou em maior a sobrevivência embrionária em melhores índices de prenhez, no entanto, em outros (Funston et al., 2005; Halon et al. 2005) este efeito não foi observado. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da administração de 1500 UI de hCG i.m., no dia 4 após a IATF na elevação da concentração de progesterona sérica, no crescimento do CL existente, na formação de CL acessório e na taxa de prenhez em vacas de corte em lactação.

Materiais e Métodos

Animais e locais

O experimento foi realizado em duas propriedades, localizadas nas regiões da Depressão Central (Local 1, n= 369) e do Litoral (Local 2, n= 200) do Estado do Rio Grande do Sul. Foram utilizadas 569 vacas de corte lactantes, cruzas Angus, com intervalo entre o parto e o início do programa de IATF de 45 a 70 dias. Todos os animais foram mantidos em pastagens naturais com livre acesso à água e sal mineralizado, entre novembro de 2012 e janeiro de 2013. Os

procedimentos descritos estão de acordo o projeto de número 25720, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CEUA-UFRGS).

Escore de condição corporal

Os animais foram avaliados para determinação do escore de condição corporal (ECC) no momento da IATF (Dia 0) e no diagnóstico de gestação (Dia 30), utilizando uma escala de 1 a 5 (1= muito magra e 5= excessivamente gorda).

Tratamentos hormonais

Para sincronização do estro e da ovulação, no Dia -9 os animais receberam um implante intravaginal contendo 0,750g de progesterona (Prociclar, Hertape Calier Saúde Animal, Brasil) e administrou-se 2mg de benzoato de estradiol i. m. (Benzoato HC, Hertape Calier Saúde Animal, Brasil). Sete dias após, Dia -2, retiraram-se os implantes e foram aplicados 150µg de d-cloprostenol i.m. (Veteglan, Hertape Calier Saúde Animal, Brasil) e 0,5mg de cipionato de estradiol i.m. (Cipionato HC, Hertape Calier Saúde Animal, Brasil). No Dia 0, as vacas foram inseminadas em tempo fixo, entre 52 e 56 horas após a retirada do dispositivo de progesterona. Quatro dias após (Dia 4), os animais foram separados aleatoriamente em dois grupos: **hCG** (n= 269) aplicação de 1500UI de hCG (Vetecor, Hertape Calier Saúde Animal, Brasil), i.m. e **Controle** (n= 300), injeção de 1,5 mL de solução salina, i.m. Na Figura 1 está representado o diagrama experimental do protocolo de sincronização, tratamentos e os procedimentos de coletas sanguíneas e ultrassonografia.

Coleta sanguínea e determinação da concentração de progesterona

Sessenta vacas da propriedade 1 (**hCG**, n= 30 e **Controle**, n=30) tiveram amostras de sangue coletadas através de punção da veia coccígea caudal média, com o objetivo de determinar as concentrações de progesterona sérica nos Dias 4, 7, 10 e 14 após a IATF. O sangue foi coletado em tubos a vácuo de 10 mL contendo ativador de coágulo (Vacutainer, BD Biociences, Franklin Lakes, NJ, Estados Unidos) e, a seguir, foram imediatamente refrigerados. O soro foi obtido

através da centrifugação a 3000 x g, por 20 minutos, e armazenado em micro tubos de 1,5 mL a -20°C até a realização do ensaio. As concentrações séricas de progesterona foram determinadas através de radioimunoensaio, utilizando-se *kit* comercial para progesterona (Coat-A-Count Progesterone, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, Estados Unidos), de acordo com a técnica descrita por Long et al. (2009). A sensibilidade do ensaio foi de 0,01 ng mL⁻¹ e os coeficientes de variação intra e inter-ensaio foram de 5,81 e 3,59%, respectivamente.

Exames ultrassonográficos

Foram realizados exames ultrassonográficos dos ovários em 60 vacas da Propriedade 1 (**hCG**, n= 30 e **Controle**, n= 30). Para os exames utilizou-se um ultrassom (Aquila, Pie Medical, Holanda) com um transdutor linear transretal de 6MHz. As vacas foram examinadas no Dia 0 para determinação do diâmetro do folículo ovulatório (FO), parâmetro utilizado para formação dos grupos com animais que apresentavam tamanhos de FO semelhantes. A ocorrência da ovulação foi determinada pelo desaparecimento do FO identificado no Dia 0, após sucessivos exames com intervalos de 12 horas. No Dia 4, realizou-se a mensuração do diâmetro do primeiro folículo dominante e identificou-se o início da formação do CL. No Dia 7, o CL existente teve o diâmetro determinado e teve sua área calculada em cm², de acordo com a seguinte fórmula:

$$4 \times \pi \times R^2,$$

onde o raio (R) foi determinado como 0,5 x diâmetro do CL. Para os CL que apresentavam cavidade com líquido, a área da cavidade foi calculada e subtraída da área total do CL. Quando havia presença de um CL acessório, sua área era somada a do CL existente para resultar na área lútea total.

Diagnóstico de prenhez

O diagnóstico de prenhez foi realizado através de ultrassonografia 30 dias após a IATF. Os indicadores de prenhez utilizados foram a identificação da vesícula embrionária com o embrião com presença de batimentos cardíacos. A taxa de prenhez foi definida como o número de vacas prenhes dividido pelo total de vacas submetidas à IATF.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SPSS 18.0 para Windows (IBM Corp., Armonk, Nova Iorque). A distribuição dos dados foi testada para normalidade através do teste de Shapiro-Wilk. As concentrações séricas de progesterona nos dias 4, 7, 10 e 14 foram analisadas através do teste-t de Student. As variáveis avaliadas por ultrassonografia foram: diâmetro do folículo ovulatório, diâmetro do folículo dominante, área do CL e taxa de ovulação acessória. Realizou-se a comparação das médias dos diâmetros dos folículos dominantes, no Dia 4, entre folículos que ovularam em resposta ao hCG ou não ovularam. As médias foram comparadas por teste-t de Student e a proporção de ovulações induzidas comparadas pelo teste de qui-quadrado. Utilizou-se regressão logística para determinar os efeitos dos escores de condição corporal, dos locais, dos touros usados para IA e dos tratamentos sobre as taxas de prenhez. Também avaliou-se a interação local x tratamento e ECC x tratamento. O ECC foi categorizado de acordo com a frequência entre quartis (ECC <2,7 2,7-2,8; 2,9-3,1 e >3,1). Os dados de escore de condição corporal foram analisados pelo teste de Mann-Whitney, pois não apresentarem distribuição normal. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão da média. Para as análises estatísticas, considerou-se o nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O ECC médio dos animais utilizados no experimento variou positivamente durante o período experimental, demonstrando um balanço energético positivo dos animais. O ECC médio entre os grupos, determinado no momento da IATF foi de $2,88 \pm 0,26$ (hCG) e $2,85 \pm 0,28$ (Controle) não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$). Da mesma forma, ao diagnóstico de gestação

(Dia 30), os ECCs médios foram semelhantes ($p>0,05$) entre os grupos (hCG= $3,06\pm 0,26$) e (Controle= $3,01\pm 0,28$). O aumento no ECC médio dos animais indica a ocorrência de um ganho de peso moderado durante o período experimental, o que reflete a condição nutricional de animais mantidos em campos naturais nas regiões onde os estudos foram realizados.

Os resultados das concentrações séricas de progesterona no período avaliado estão representados na Tabela 1. Observou-se que as vacas tratadas com hCG apresentaram concentrações séricas de progesterona superiores em relação as não tratadas nos Dias 7, 10 e 14. No entanto, esta diferença na concentração sérica de progesterona em favor das vacas do grupo hCG somente foi significativa ($p<0,05$) no Dia 7 ($4,41\pm 1,7$ vs. $3,48\pm 1,5$ ng mL⁻¹), em relação às fêmeas do grupo Controle. Neste experimento, apesar da concentração de sérica progesterona permanecer maior nas vacas tratadas com hCG nos Dias 10 e 14, a diferença não foi significativa, provavelmente porque a ação luteotrófica do hCG foi menos expressiva neste período. Segundo De Rensis et al., 2010, o efeito do hCG resultante de sua ligação aos receptores de LH das células luteais persiste por até 30 horas do tratamento, tendo como consequência maior produção de progesterona neste intervalo. A elevação da concentração de progesterona nas primeiras semanas após a concepção estimula o crescimento do embrião, favorece a maior produção de interferon-tau (Mann et al., 2006) e, em alguns estudos, pode estar associada a maiores taxas de prenhez em bovinos (Nishigai et al., 2002; Borges & Gregory, 2003; Bridges et al., 2010). A formação de CL acessório devido à aplicação de hCG pode ter contribuído para o aumento concentração de progesterona entre os Dias 4 e 7, mas também deve ser considerado o efeito luteotrófico exercido sobre o CL existente (Nishigai et al., 2002; Stevenson et al., 2007; Rizos et al., 2012). De acordo com Maillo et al. (2013), o uso de hCG durante a fase de crescimento do CL determina o aumento da liberação de progesterona precocemente, alterando de forma benéfica a composição do fluido luminal e, assim, promove o melhor desenvolvimento embrionário e o mecanismo de reconhecimento materno da

gestação. Com um ambiente uterino mais favorável, perdas embrionárias iniciais menores podem ser esperadas, resultando em índices de concepção superiores (Santos et al., 2004).

O diâmetro do folículo ovulatório é um parâmetro que tem relação direta a dimensão do CL a ser formado, com a produção de progesterona e com as taxas de prenhez alcançadas após a IATF (Vasconcellos et al., 2001; Perry et al., 2007). Dentre os animais submetidos à ultrassonografia ovariana (Tabela 2), os grupos experimentais foram divididos de maneira uniforme de acordo com os diâmetros dos folículos ovulatórios (hCG= $11,2 \pm 1,6$ mm e Controle= $11,1 \pm 1,6$ mm), resultando em taxas de ovulação semelhantes (hCG= 90% e Controle= 86,7%). Desta maneira, foi possível comparar a dinâmica das estruturas ovarianas presentes entre os Dias 4 e 7 em vacas tratadas ou não com hCG (Tabela 3). No grupo hCG, a área do CL foi significativamente maior ($3,52 \pm 0,9$ cm²), comparada com a encontrada nas vacas não tratadas ($2,65 \pm 0,7$ cm²). Este resultado está de acordo com os relatados por Stevenson et al. (2007) que também evidenciaram um aumento no diâmetro e volume do CL no dia 7, em vacas tratadas com hCG no 5º dia após estro. Segundo os autores, a maior área observada no CL existente dos animais tratados com hCG é decorrente da hipertrofia e da hiperplasia das células luteais.

Com relação à taxa de indução de CL acessório, verificou-se que foi significativamente maior ($p < 0,01$) nas vacas que receberam hCG (29,6%) e, de acordo com o esperado, nenhum animal do grupo Controle apresentou CL acessório no Dia 7. A possibilidade de ocorrer a indução da ovulação em resposta a aplicação de hCG na vaca depende de fatores como o dia do ciclo estral e o tamanho do folículo dominante presente. A avaliação do tamanho do folículo dominante presente no Dia 4, demonstrou não haver diferença ($p = 0,42$) entre as médias dos diâmetros nos grupos hCG ($7,8 \pm 0,76$ mm) e Controle ($7,5 \pm 1,42$ mm). Avaliando a taxa de indução da formação de CL acessório nas vacas tratadas com hCG de acordo com o diâmetro do folículo dominante presente no Dia 4, observou-se maior frequência nas que apresentavam tamanho de folículo

maior (entre 7 e 7,9mm= 25%, entre 8 e 8,9mm= 50% e acima de 9mm= 100%). Ao compararmos as médias dos diâmetros dos folículos dominantes no Dia 4, constatou-se que eram significativamente maiores ($p < 0,05$) nas vacas que ovularam após a aplicação de hCG ($8,3 \pm 0,8$ mm) em relação as que não responderam ao tratamento ($7,5 \pm 1,1$ mm). Índices superiores de indução de formação de CL acessório são reportados quando a aplicação do hCG é realizada a partir do dia 5 após estro em novilhas de corte (Fuston et al., 2005), em vacas de corte em lactação (Dahlen et al., 2010) e em vacas leiteiras (Stevenson et al., 2007; Nascimento et al., 2012). Em vacas de leiteiras que apresentaram folículo dominante maior que 12 mm, o tratamento com hCG no 5º dia do ciclo estral determinou uma taxa de indução de CL acessórios de 93% (Nascimento et al., 2012). No entanto, vacas de corte em lactação, como as utilizadas neste estudo, apresentam menores índices de indução de formação de CL acessório, provavelmente porque apresentam folículos menores (entre 6 e 11mm), no período entre 40 e 70 dias pós-parto (Wecker et al., 2012). Segundo Beg & Ginther (2006), o período de divergência folicular em bovinos ocorre quando os folículos apresentam um diâmetro maior que 7,2 mm, caracterizando-se pela maior presença de receptores para o LH. Em consequência, fica estabelecida uma relação entre o tamanho do folículo, a presença de receptores de LH e a taxa de indução da ovulação quando se aplica hCG ou GnRH.

A taxa de prenhez 30 dias após a IATF de vacas tratadas com hCG (53,9%, 145/269) foi superior ($p = 0,07$) a do grupo Controle (46,3%, 139/300). De acordo com as análises realizadas por regressão logística, não foram detectados efeitos significativos ($p > 0,05$) do local, do sêmen utilizado e das interações local x tratamentos e ECC x tratamentos sobre as taxas de prenhez. Neste estudo, o efeito da aplicação de hCG na taxa de prenhez de vacas de corte lactantes foi semelhante ao reportado de Dahlen et al. (2010) que também observaram apenas uma tendência na elevação deste índice. Outros estudos demonstram que o uso de hCG em diferentes momentos após a IA pode aumentar a taxa de prenhez em vacas de corte (Machado et al., 2008),

vacas de leite (Stevenson et al., 2007), novilhas de corte (Breuel et al., 1989) e em receptoras de embriões (Torres et al., 2013). No entanto, este efeito positivo da administração de hCG pode não ocorrer em vacas de leite em anestro (Hanlon et al., 2005) ou em novilhas de corte (Fuston et al. 2005). Nesse experimento, houve influência da condição corporal sobre o estabelecimento da prenhez após a IATF. Vacas com ECC abaixo de 2,7 apresentaram menor ($p < 0,01$) taxa de prenhez (35,3%) em relação a animais da com ECC acima de 3,1 que atingiram 58%. Entretanto, não houve efeito da interação ECC x tratamentos sobre a taxa de prenhez, atingindo índices uma taxa de prenhez numericamente maior para os animais do grupo hCG nas quatro categorias de condição corporal. Wallace et al. (2011) demonstraram que vacas com baixa condição corporal beneficiam-se com o tratamento com hCG, apresentando melhores taxas de prenhez comparado com vacas não tratadas.

O uso de terapias hormonais para a estimulação da função luteal após a IA pode melhorar os índices reprodutivos em vacas de corte lactantes, promovendo o desenvolvimento embrionário e reduzindo as perdas gestacionais iniciais. No entanto, para que se obtenha este benefício é importante que a produção de progesterona se eleve a partir da primeira semana de gestação, o nem sempre acontece em rebanhos de corte devido a variação na funcionalidade ovariana após o parto.

Conclusões

1. A aplicação de hCG no Dia 4 após a IATF em vacas de corte lactantes estimula a função luteal, promovendo o crescimento do CL primário e elevando a concentração de progesterona sérica;
2. A taxa de prenhez em vacas de corte lactantes tratadas com hCG após a IATF tende a ser maior aos 30 dias.

Agradecimentos

Às pessoas que cooperaram para execução deste trabalho, em especial aos funcionários das fazendas onde se realizaram os experimentos. Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Referências

BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. **Reproduction**, Cambridge, v. 132, p. 365-377, 2006.

BORGES, J.B.S.; GREGORY, R.M. Indução da atividade cíclica ovariana pós-parto em vacas de corte submetidas à interrupção temporária do aleitamento associada ou não ao tratamento com norgestomet-estradiol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, p. 1105-1110, 2003.

BREUEL, K.F.; SPITZER, J.C. HENDRICKS, D.M. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1564-1572, 1989.

BRIDGES, G.A. et al. Influence of the length of proestrous on fertility and endocrine function in female cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 117, p. 208-215, 2010.

CARTER, F. et al. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 20, p. 368-375, 2008.

DAHLEN, C.R. et al. Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, p. 2337-2345, 2010.

DE RENSIS, F. et al. Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: An update. **Theriogenology**, Stoneham, v. 73, p. 1001-1008, 2010.

FORDE, N. et al. Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 81, p. 784-794, 2009.

FUNSTON, R.N. et al. Effect of administration of human chorionic gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 1403-1405, 2005.

HANLON, D.W. et al. Supplementing previously treated anestrous dairy cows with progesterone does not increase first-service conception rate. **Theriogenology**, Stoneham, v. 63, p. 239-245, 2005.

HOWARD, J.M. et al. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin-releasing hormone 5 days after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 95, p. 224-233, 2006.

LARSON, S.F.; BUTLER, W.R.; BRUCE CURRIE, W. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 102, p. 172-179, 2007.

LONG, S.T.; YOSHIDA, C.; NAKAO, T. Plasma progesterone profile in ovariectomized beef cows after intra-vaginal insertion of new, once-used or twice-used CIDR. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v. 44. p. 80-82, 2009.

MACHADO, R. et al. Ovarian function in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. **Theriogenology**, Stoneham, v. 69, p. 798-804, 2008.

MAILLO, V. et al. Effect of hCG administration during corpus luteum establishment on subsequent corpus luteum development and circulating progesterone concentration in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 26. n. 3, p. 367-374, 2013.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 34, p. 269-274, 1999.

MANN, G.E.; FRAY, M.D.; LAMMING, G.E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. **Veterinary Journal**, London, v. 171, p. 500-503, 2006.

NASCIMENTO, A.B. et al. Effects of treatment with human chorionic gonadotropin or intravaginal progesterone-releasing device after AI on circulating progesterone concentration in lactating dairy cows. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 25, n.5, p. 818-824, 2012.

NISHIGAI, M. et al. Improvement of pregnancy rate in Japanese Black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. **Theriogenology**, Stoneham, v. 58, p. 1597-1606, 2002.

O'HARA, L. et al. Paradoxical effect of supplementary progesterone between day 3 and day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 26, n. 2, p. 328-336, 2013.

PERRY, G.A. et al. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, p. 684-689, 2007.

RIZOS, D. et al. Effects of human chorionic gonadotropin administration on Day 5 after oestrus on corpus luteum characteristics, circulating progesterone and conceptus elongation in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 24, p. 472-481, 2012.

SANTOS, J.E.P. et al. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 2881-2894, 2001.

SANTOS, J.E.P. et al. The effect of embryo death rates in the cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.82-83, p. 513-535, 2004.

SHELTON, K. et al. Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v. 90, p. 1-10, 1990.

STEVENSON, J.S. et al. Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. **Journal of Dairy Science**, Stanford, v. 90, p. 331-340, 2007.

TORRES, A. et al. Secondary corpora lutea induced by hCG treatment enhanced demi-embryo survival in lactating high-yielding dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 48, p. 643-650, 2013.

VASCONCELLOS, J.L. et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. **Theriogenology**, Stoneham, v. 56, p. 307-314, 2001.

WALLACE, L.D. et al. Administration of human chorionic gonadotrophin at embryo transfer induced ovulation of a first wave dominant follicle, and increase progesterone and transfer pregnancy rates. **Theriogenology**, Stoneham, v. 75, p. 1506-1515, 2011.

WECKER, F. et al. Efeito da aplicação de eCG ou hCG 7 dias após a IATF no desenvolvimento das estruturas ovarianas e nas taxas de prenhez de vacas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 40, n. 4, ago, 2012. Disponível em: <www.ufrgs.br/actavet/40-4/PUB%201072.pdf> Acesso em: 10 jan. 2014.

Tabelas e figuras

Tabela 1. Efeito da administração de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) no Dia 4 após a IATF em vacas de corte lactantes sobre as concentrações de progesterona (ng mL^{-1}) nos Dias 4, 7, 10 e 14⁽¹⁾.

	hCG (n=30)	Controle (n=30)	Valor p
Dia 4	1,15 ± 0,5	1,18 ± 0,4	0,97
Dia 7	4,41 ± 1,7a	3,48 ± 1,5b	0,03
Dia 10	5,45 ± 1,9	4,75 ± 1,7	0,14
Dia 14	6,56 ± 2,1	5,80 ± 1,7	0,13

⁽¹⁾Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem, entre si, pelo teste-t de Student, com 5% de probabilidade.

Tabela 2. Diâmetro do folículo ovulatório (mm) e taxa de ovulação de vacas de corte tratadas com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) ou solução salina, no dia 4, após a IATF⁽¹⁾.

	hCG (n=30)	Controle (n=30)	Valor p
Folículo ovulatório, Dia 0 (mm)	11,2 ± 1,6	11,1 ± 1,6	0,81
Taxa de ovulação (%)	90 (27/30)	86,7 (26/30)	0,68

⁽¹⁾Média comparada por teste-t de Student para a variável folículo ovulatório e por teste de qui-quadrado para taxa de ovulação, com 5% de probabilidade.

Tabela 3. Folículo dominante (mm), área do CL (cm^2) e taxa de ovulação acessória em vacas de corte tratadas com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) ou solução salina, no dia 4, após a IATF⁽¹⁾.

	hCG (n=27)	Controle (n=26)	Valor p
Folículo dominante, Dia 4 (mm)	7,8 ± 0,8	7,5 ± 1,4	0,42
Área do CL, Dia 7 (cm^2)	3,52 ± 0,7a	2,65 ± 0,9b	0,001
Taxa de CL acessório, Dia 7 (%)	29,6 (8/27)a	0 (0/26)b	0,001

⁽¹⁾Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem, entre si, pelo teste-t de Student (folículo dominante e área do CL), e pelo teste de qui-quadrado (taxa de CL acessório) com 5% de probabilidade.

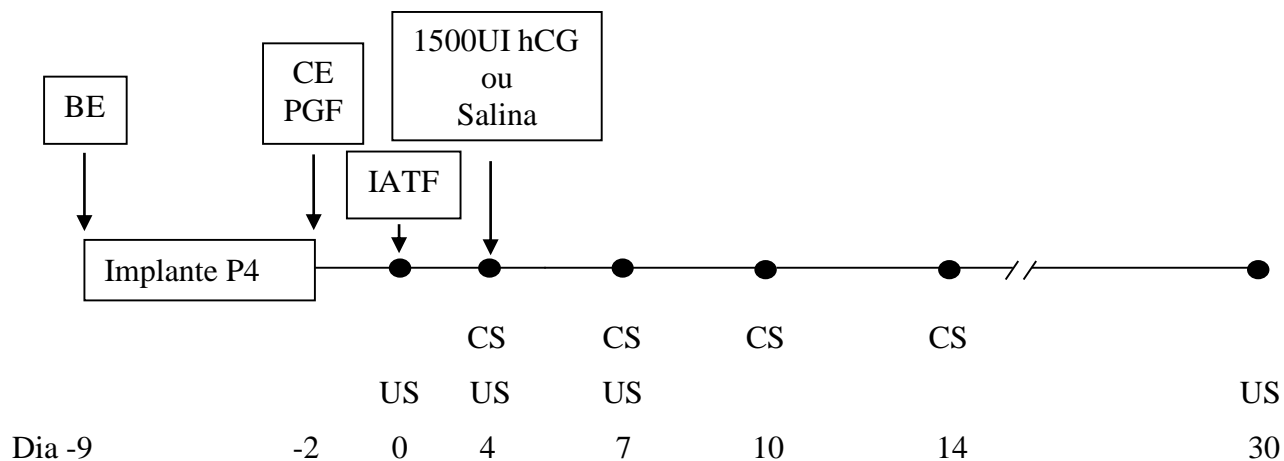


Figura 1. Diagrama do protocolo de sincronização de estro para IATF, aplicação de hCG ou salina, avaliações ultrassonográficas e coletas de amostras de sangue. hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana; BE - Benzoato de estradiol; CE – Cipionato de estradiol; PGF – Prostaglandina F2 α ; P4 – Progesterona; CS – coleta sanguínea; US – ultrassonografia.

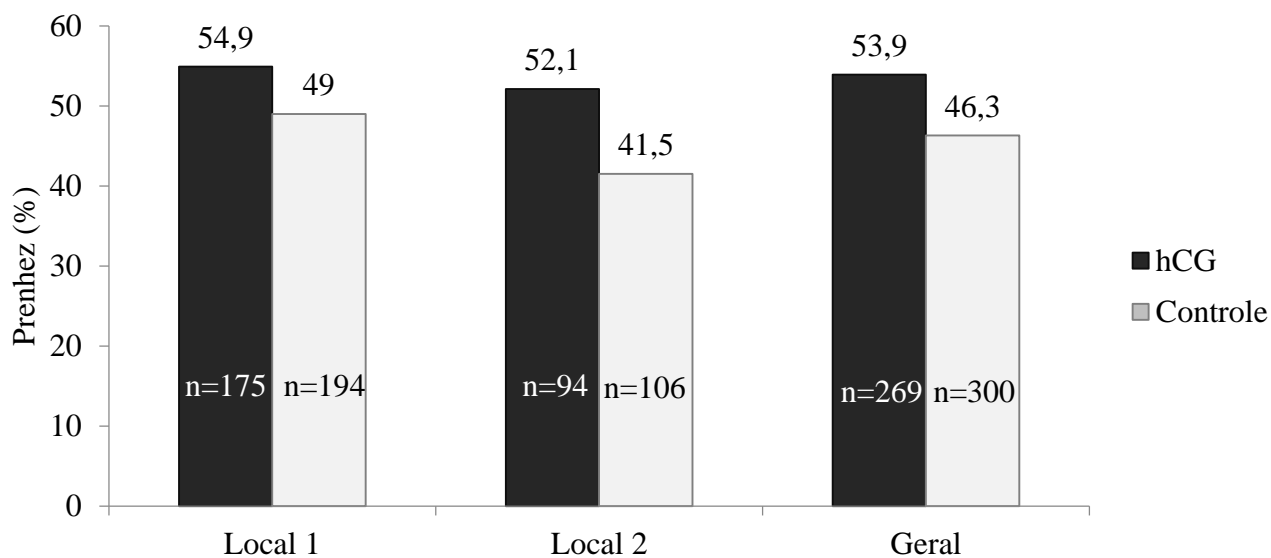


Figura 2. Taxas de prenhez 30 dias após a IATF em vacas de corte em lactação tratadas com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) ou solução salina no dia 4 após a IATF, por localidade (local 1, $p=0,258$; local 2, $p=0,133$) e total ($p=0,071$).

CAPÍTULO III

Considerações Finais

Apesar das altas taxas de ovulação e fertilização reportadas, as taxas de prenhez nos programas de sincronização ou com detecção de estro são relativamente baixas. Em gado de corte, os programas de IATF, com vacas de cria ao pé dificilmente ultrapassam um índice de prenhez de 55%. Diversos fatores influenciam o desenvolvimento embrionário e podem diminuir a probabilidade da ocorrência da prenhez. Em vacas de corte, fatores como a baixa condição corporal, a presença do terneiro e a produção de leite podem afetar negativamente o crescimento do folículo dominante, levando a ovulação de folículos pequenos que comprometem a função luteal. A diminuição das concentrações de progesterona devido à insuficiência luteal, é um fator particularmente importante para redução das taxas de prenhez em bovinos. Dessa maneira, baixas concentrações de progesterona imediatamente após a concepção estão relacionadas ao aumento das perdas embrionárias.

A administração de hCG após a ovulação é a terapia que melhor influencia a fertilidade em vacas. Dependendo do dia de administração do hCG, pode gerar diferentes respostas sobre o ovário. A partir do quinto dia do ciclo estral, até a metade da fase luteal, o tratamento com hCG é capaz de induzir uma alta taxa de formação de corpos lúteos acessórios. Esse experimento foi conduzido sob a hipótese de que a administração de hCG nos primeiros dias após a ovulação permitiria a elevação precoce da progesterona e, conseqüentemente, melhoraria as taxas de prenhez em vacas de corte em lactação. No entanto, os resultados desse experimento e de outros citados neste estudo, revelam contradições nos resultados de campo, mesmo quando o número de animais por tratamento é elevado. Provavelmente, outros fatores que comumente estão presentes nos ensaios a campo, como variações nas condições climáticas, na disponibilidade e qualidade dos pastos, por exemplo, podem reduzir os benefícios próprios das terapias hormonais sobre a fertilidade de vacas de corte. Mesmo que a taxa de prenhez das vacas tratadas com hCG não tenha sido significativamente superior ($P=0,07$) em relação às vacas do grupo Controle, foi possível observar os efeitos positivos sobre o CL e na produção de progesterona.

Referências Bibliográficas

- ACOSTA, T. J. et al. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle and regression. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. cc82/83, p. 127-140, 2004.
- BARATTA, M.; GRASSELLI, F.; TAMANINI, C. Effects of gonadal steroids on tonic luteinizing hormone (LH) release and luteinizing hormone-releasing hormone-induced LH release from bovine pituitary cells cultured in vitro. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 50, p. 1320-1327, 1994.
- BAZER, F.W. et al. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v.76, n.2, p.841-850, 1986.
- BELTMAN, M. E. et al. Evaluation of models to induce low progesterone during the early luteal phase in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 72, p. 986-992, 2009.
- BERISHA, B. et al. Expression and localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (FGF-2) during the final growth of bovine ovarian follicles. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 167, p. 371-382, 2000.
- BERTAN, C. M. et al. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise – revisão de literatura. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, p. 824-840, 2006.
- BINELLI, M. et al. Bovine interferon-tau stimulates the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription pathway in bovine endometrial epithelial cells. **Biology of Reproduction**, Washington, v.64, n.2, p.654-665, 2001.
- BOGAN, R. L.; NISWENDER, G. D. Constitutive steroidogenesis in ovine large luteal cells may be mediated by tonically active protein kinase A. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 77, p. 209-216, 2007.
- BRADEN, T. D. GAMBONI, F., NISWENDER, G. D. Effects of prostaglandin f2alpha-induced luteolysis on the populations of cells in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 39, p. 245-253, 1988.
- CARTER, F. et al. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 20, p. 368-375, 2008.

- CHAGAS E SILVA, J.; LOPES-DA-COSTA. Luteotrophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentration and embryo survival. **Theriogenology**, Stoneham, v. 64, p. 49-60, 2005.
- CHAGAS E SILVA, J. et al. Luteotrophic effect, growth and survival of whole versus half embryos and, their relationship with plasma progesterone concentration of recipients dairy heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 104, p.18-27, 2008.
- CONNOLLY, D. T. Vascular permeability factor: a unique regulator of blood vessel function. **Journal of Cellular Biochemistry**, Nova Iorque, v. 47, n. 3, p. 219-223, 1991.
- DAHLEN, C.R. et al. Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, p. 2337-2345, 2010.
- DE MEDEIROS, S. F., NORMAN, R. J. Human choriogonadotrophin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 15, p. 69-95, 2009.
- DE RENSIS, F. et al. Fertility in post-partum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after induction of an LH surge with gonadotropin releasing hormone (GnRH) or human chorionic gonadotropin (hCG). **Theriogenology**, Stoneham, v. 58, p. 1675-1687, 2002.
- DE RENSIS, F. et al. Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: An update. **Theriogenology**, Stoneham, v. 73, p. 1001-1008, 2010.
- DEL CAMPO, C. H.; GINTHER, O. J. Vascular anatomy of uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: guinea pigs, rats, hamster, and rabbits. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 33, p. 2561, 1972.
- DIAZ, T. E. J. et al. Human chorionic gonadotropin induced alternations in ovary follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1929-1936, 1998.
- DIAZ, F. J. et al. Regulation of progesterone and prostaglandin f2 α production in the corpus luteum. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Amsterdam, v. 191, p. 65-80, 2002.
- DISKIN, M. G.; SRENAN, J. M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v. 59, p. 463-468, 1980.

DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. E. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 23, p. 211-228, 2002.

FARIN, C. E. et al. Morphometric analyses of cell types in the ovine corpus luteum through the estrous cycle. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 35, p. 1299-1308, 1986.

FARIN, C.E. et al. Expression of trophoblastic interferon genes in sheep and cattle. **Biology of Reproduction**, Washington, v.43, n.2, p.210-218, 1990.

FISCHER-TANHAGEN, C. et al. Efficacy of a treatment with 4 days after AI to reduce pregnancy losses in lactating dairy cows after synchronizes ovulation. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v. 45, p. 468-472, 2010.

FITZ, T. A. et al. Characterization of 2 steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 27, p. 703-711, 1982.

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

FUNSTON, R.N. et al. Effect of administration of human chorionic gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 1403-1405, 2005.

GARRET, J. E. et al. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v. 84, p. 437-446, 1988.

GEARY, T. W.; SALVERSON, R. R.; WHITTIER, J. C. Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 2536-2541, 2001.

GOEDE, V. et al. Analysis of blood vessel maturation process during cyclic ovarian angiogenesis. **Laboratory Investigation**, Hagerstown, v. 78, p. 1385-1394, 1998.

GRAY, C.A. et al. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. **Reproduction**, Cambridge, v.124, n.2, p.289-300, 2002.

HANLON, D.W. et al. Supplementing previously treated anestrous dairy cows with progesterone does not increase first-service conception rate. **Theriogenology**, Stoneham, v. 63, p. 239-245, 2005.

HOWARD, J.M. et al. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin-releasing hormone 5 days after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 95, p. 224-233, 2006.

JUENGEL, J. L. et al. Hormonal regulation of messenger ribonucleic acid encoding steroidogenic acute regulatory protein (StAR) by insulin-like growth factor: synergism with follicle-stimulating hormone or protein kinase A agonist. **Endocrinology**, Baltimore, v. 136, p. 5423-5429, 1997.

KERBLER, T. L. et al. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 47, p. 703-714, 1997.

KERR, J. F. R., WYLLIE, A. H., CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **British Journal of Cancer**, Edinburgh, v. 26, p. 239-257, 1972.

LIEBERMAN, J.; SCHAMS, D. Actions of somatotrophin on oxytocin and progesterone release from the microdialysed ovine corpus luteum in vitro. **Journal of Endocrinology**, Oslo, v. 143, p. 243-249, 1994.

LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 76, p. 1594-1601, 2011.

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

MACHADO, R. et al. Ovarian function in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. **Theriogenology**, Stoneham, v. 69, p. 798-804, 2008.

MACMILLAN, K. L. et al. Effect of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, n.37, p. 245-252, 1991.

MANN, G. E.; MANN, S. J.; LAMMING, G.E. The interrelationship between the maternal hormone environment and the embryo during the early stages of pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v.17, p. 55-61, 1996.

MANN, G. E. et al. The regulation of interferon- τ production and uterine receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v. 54, p. 317-328, 1999.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptor during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v. 54, p. 317-328, 1999.

MANN, G. E. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 115, p. 296-299, 2009.

McCRACKEN, J. A. et al. The central oxytocin pulse generator: a pacemaker for the ovarian cycle. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, Warsaw, v. 56, p. 819-832, 1996.

MIYAMOTO, A. Intraluteal mechanisms involved in prostaglandin f2alpha induced luteolysis in ewe. **Journal of Reproduction and Development**, East Melbourne, v. 49, p. 61-63, 1996.

MIYAMOTO, A.; SHIRASUNA, K.; SASAHARA, K. Local regulation of corpus luteum development and regression in the cow: impact of angiogenic and vasoactive factor. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 37, p. 159-169, 2009.

NASCIMENTO, A.B. et al. Effects of treatment with human chorionic gonadotropin or intravaginal progesterone-releasing device after AI on circulating progesterone concentration in lactating dairy cows. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 25, n.5, p. 818-824, 2012.

NISHIGAI, M. et al. Improvement of pregnancy rate in Japanese Black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. **Theriogenology**, Stoneham, v. 58, p. 1597-1606, 2002.

O'HARA, L. et al. Paradoxical effect of supplementary progesterone between day 3 and day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 26, n. 2, p. 328-336, 2013.

NISWENDER, G. D. et al. Luteal function: the estrus cycle and early pregnancy. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 50, p. 239-247, 1994.

NISWENDER, G. D. et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 80, p. 1-28, 2000.

NISWENDER, G. D. Molecular control of luteal secretion of progesterone. **Reproduction**, Cambridge, v.123, p. 333-339, 2002.

OSCHEA, J. D.; RODGERS, R. J.; DOCCHIO, M. J. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. **Acta Anatomica**, Basel, v. 138, p. 154-165, 1989.

PAPADOPOULOS, V. et al. Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol

transport and steroidogenesis. **Steroids**, Stoneham, v. 62, p.21-28, 1997.

PARKINSON, T. J.; TURVEY, A.; JENNER, L. J. A morphometric analysis of the corpus luteum of the cow during the estrous cycle and early pregnancy. **Theriogenology**, Stoneham, v. 41, p. 1115-1126, 1994.

PATE, J. L.; KEYES, P. L. Immune cells in the corpus luteum: friends or foes? **Reproduction**, Cambridge, v. 122, p. 665-676, 2001.

PETERS, K. E. et al. Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea but is not required to maintain CL function in heifers. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 51, p. 1248-1254, 1994.

PIPER, P. J. VANE, J. R., WYLLIE, J. H. Inactivation of prostaglandins by the lungs. **Nature**, London, v. 225. p. 600-604, 1970.

PUGLIESI, G. et al. Corpus luteum development and function after supplementation of long-acting progesterone during the early luteal phase in beef cattle. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v. 49, n.1, p. 85-91, 2014.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronisation of ovulatory in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, Stoneham, v. 44, p. 915-923, 1995.

REKAWIECKI, R. et al. Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Cracou, v. 59, n. 9, p. 75-89, 2008.

REYNOLDS, K. et al. Association of ovarian malignancy with expression of platelet-derived endothelial cell growth factor, **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 86, p. 1234-1238, 1994.

RHODES, F. M. et al. Supplementing treated anestrous dairy cows with progesterone does not increase conception rates. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v.49, p. 8-12, 2001.

SANTOS, J.E.P. et al. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 2881-2894, 2001.

SANTOS, J.E.P. et al. The effect of embryo death rates in the cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.82-83, p. 513-535, 2004.

SARTORI, R.; ROSA, G. J.; WILTBANK, M. C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, Stanford, v. 85, p. 2813-2822, 2002.

SATTERFIELD, M. C.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 75, p. 289-296, 2006.

SAWYER, H. R. et al. Nuclear changes in ovine luteal cells in response to PGF_{2f}. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 7, p. 229-238, 1990.

SCHAMS, D. et al. Expression and localization of IGF Family members in bovine antral follicles during final growth and in luteal tissue during different stages of estrous cycle and pregnancy. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 22, p. 51-72, 2002.

SCHAMS, D.; BERISHA, B. Regulation of corpus luteum function - an overview. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 39, n. 4, p. 241-251, 2004.

SCHMITT, E. J. P. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day 5 of the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, Champaigne, v. 74, p. 1915-1929, 1996.

SHIRASUNA, K. et al. Prostaglandin f₂ α differentially affects mRNA expression relating to angiogenesis, vasoactivation and prostaglandins in the early and mid corpus luteum in the cow. **Journal of Reproduction and Development**, East Melbourne, v. 56, p. 428-436, 2010.

SHIRASUNA, K. et al. Vascular and immune regulation of corpus luteum development, maintenance and regression in the cow. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 43, n.2, p. 198-211, 2012.

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

SMITH, M. F.; McINTOSH, E. W.; SMITH, G. W. Mechanisms associated with corpus luteum development. **Journal of Animal Science**, Champaigne, v. 72, p. 1857-1872, 1994.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe. **Biology of Reproduction**, Washington, v.53, p.1527-1543, 1995.

SPENCER, T. E. et al. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. **Reproduction Fertility and Development**, East Melbourne, v.19, p. 65-78, 2007.

STENMAN, U. H. et al. The classification, functions and clinical use of different isoforms of hCG. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 12, p. 769-784, 2006.

STEVENSON, J.S. et al. Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. **Journal of Dairy Science**, Stanford, v. 90, p. 331-340, 2007.

STOCCO, D. M.; SODEMAN, T. C. The 30 kDa mitochondrial proteins induced by hormone stimulation in Ma-10 mouse Leydig tumor cells are processed from larger precursors. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 266, p. 731-738, 1991.

STRONGE, A. J. et al. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 64, p. 1212-1224, 2005.

TANAKA, J. et al. Relative changes in mRNA expression of angiopoietins and receptors in bovine corpus luteum during estrous cycles and prostaglandin f₂ α -induced luteolysis: a possible mechanism for the initiation of luteal regression. **Journal of Reproduction and Development**, East Melbourne, v. 50, n. 6, p. 619-625, 2004.

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

TSAI, S. J., WILTBANK, M. C. Prostaglandin f₂ α induces expression of prostaglandin G/H synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biology of Reproduction**, Washington, v. 57, p. 1016-1022, 1997.

TORRES, A. et al. Secondary corpora lutea induced by hCG treatment enhanced demi-embryo survival in lactating high-yielding dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 48, p. 643-650, 2013.

VASCONCELLOS, J. L. M. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrus cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 52, p. 1067-1078, 1999.

WALLACE, L.D. et al. Administration of human chorionic gonadotrophin at embryo transfer induced ovulation of a first wave dominant follicle, and increase progesterone and transfer pregnancy rates. **Theriogenology**, Stoneham, v. 75, p. 1506-1515, 2011.

WILTBANK, M. C. Cell-types and hormonal mechanisms associated with mid-cycle corpus luteum function. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 1873-1883, 1994.

WILTBANK, M. C. et al. Comparison of endocrine and cellular mechanisms regulating the corpus luteum of primates and ruminants. **Animal Reproduction**, Belo Horizonte, v. 9, n. 3, p. 242-259, 2012.

WULFF, C. et al. Angiogenesis in the human corpus luteum: localization and changes in angiopoietins, Tie-2, and vascular endothelial growth factor Messenger ribonucleic acid. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Baltimore, v. 85, n. 11, p.3377-3386, 2000.

YAMASHITA, H. et al. Effect of local neutralization of basic fibroblast growth factor or vascular endothelial growth factor by a specific antibody on the development of the corpus luteum in the cow. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v. 75, p. 1449-1456, 2008.

YUNG, M. C. et al. Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor I in serum progesterone and on weight of corpus luteum in heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, p. 2239-2244, 1996.

Apêndices

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
P4 D4	Mean	1,1593	,07446	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,0092	
		Upper Bound	1,3095	
	5% Trimmed Mean	1,1326		
	Median	1,0000		
	Variance	,244		
	Std. Deviation	,49389		
	Minimum	,49		
	Maximum	2,38		
	Range	1,89		
	Interquartile Range	,78		
	Skewness	,704	,357	
	Kurtosis	-,326	,702	
	P4 D7	Mean	3,8793	,23706
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	3,4012	
		Upper Bound	4,3574	
5% Trimmed Mean		3,8678		
Median		3,9500		
Variance		2,473		
Std. Deviation		1,57246		
Minimum		1,23		
Maximum		7,05		
Range		5,82		
Interquartile Range		2,42		
Skewness		,113	,357	
Kurtosis		-,938	,702	
P4 D11		Mean	4,6991	,23107
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4,2331	
		Upper Bound	5,1651	
	5% Trimmed Mean	4,6585		
	Median	4,8250		
	Variance	2,349		
	Std. Deviation	1,53274		
	Minimum	2,07		
	Maximum	8,56		

	Range		6,49	
	Interquartile Range		2,41	
	Skewness		,278	,357
	Kurtosis		-,540	,702
P4 D14	Mean		6,0945	,27619
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	5,5375	
	Mean	Upper Bound	6,6515	
	5% Trimmed Mean		6,0699	
	Median		6,1000	
	Variance		3,356	
	Std. Deviation		1,83207	
	Minimum		2,04	
	Maximum		10,81	
	Range		8,77	
	Interquartile Range		2,52	
	Skewness		,181	,357
	Kurtosis		,252	,702
CC D0	Mean		2,873	,0437
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	2,785	
	Mean	Upper Bound	2,961	
	5% Trimmed Mean		2,870	
	Median		2,800	
	Variance		,084	
	Std. Deviation		,2896	
	Minimum		2,5	
	Maximum		3,3	
	Range		,8	
	Interquartile Range		,6	
	Skewness		,128	,357
	Kurtosis		-1,723	,702

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P4 D4	,149	44	,015	,931	44	,011
P4 D7	,077	44	,200*	,969	44	,285
P4 D11	,098	44	,200*	,973	44	,399
P4 D14	,081	44	,200*	,987	44	,881
CC D0	,213	44	,000	,845	44	,000

Ranks				
	Grupo	N	Mean Rank	Sum of Ranks
P4 D4	0	21	23,90	502,00
	1	26	24,08	626,00
	Total	47		

Report				
P4 D4				
Grupo	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error of Mean
0	1,1848	21	,53830	,11747
1	1,1519	26	,46946	,09207
Total	1,1666	47	,49602	,07235

Test Statistics ^a	
	P4 D4
Mann-Whitney U	271,000
Wilcoxon W	502,000
Z	-,043
Asymp. Sig. (2-tailed)	,966

a. Grouping Variable: Grupo

Concentrações P4

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
P4 D7	0	29	3,4886	1,47256	,27345
	1	30	4,4130	1,75176	,31983
P4 D11	0	28	4,7543	1,71291	,32371
	1	29	5,4597	1,87656	,34847
P4 D14	0	28	5,8007	1,67419	,31639
	1	30	6,5647	2,12758	,38844

Independent Samples Test										
		Levene's T		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Diff	Std. E Diff	95% IC	
									Lower	Upp
P4	Eq v as	1,3	,249	-2,1	57	,033	-,924	,422	-1,769	-,079
D7	Eq v n a			-2,1	55,9	,032	-,924	,420	-1,767	-,081
P4	Eq v as	,07	,769	-1,4	55	,144	-,705	,476	-1,660	,249
D11	Eq v n as			-1,4	54,8	,144	-,705	,475	-1,658	,247
P4	Eq v as	1,8	,179	-1,5	56	,136	-,763	,505	-1,775	,247
D14	Eq v n as			-1,5	54,4	,133	-,763	,500	-1,768	,240

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
CC D0	59	2,5	3,3	2,905	,0364	,2794
CC D30	59	2,7	3,5	3,093	,0337	,2586
Valid N (listwise)	59					

Descriptives

		Statistic	Std. Error
CC D0	Mean	2,905	,0364
	95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound	2,832	
	Upper Bound	2,978	
	5% Trimmed Mean	2,906	
	Median	3,000	
	Variance	,078	
	Std. Deviation	,2794	
	Minimum	2,5	
	Maximum	3,3	
	Range	,8	
	Interquartile Range	,6	
	Skewness	-,133	,311

	Kurtosis		-1,626	,613
CC D30	Mean		3,093	,0337
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,026	
		Upper Bound	3,161	
	5% Trimmed Mean		3,092	
	Median		3,200	
	Variance		,067	
	Std. Deviation		,2586	
	Minimum		2,7	
	Maximum		3,5	
	Range		,8	
	Interquartile Range		,5	
	Skewness		-,208	,311
	Kurtosis		-1,381	,613

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
CC D0 * Grupo	59	100,0%	0	,0%	59	100,0%

Report				
CC D0				
Grupo	Mean	N	Std. Deviation	
0	2,924	29	,2695	
1	2,887	30	,2921	
Total	2,905	59	,2794	

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
FO D0	60	100,0%	0	,0%	60	100,0%

Descriptives		Statistic	Std. Error
FO D0	Mean	11,1718	,20404
	95% Confidence Interval for Lower Bound	10,7636	
	Mean Upper Bound	11,5801	
	5% Trimmed Mean	11,1609	
	Median	11,0300	
	Variance	2,498	
	Std. Deviation	1,58048	
	Minimum	7,39	
	Maximum	15,00	
	Range	7,61	
	Interquartile Range	2,20	
	Skewness	,090	,309
	Kurtosis	,120	,608

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
FO D0	,068	60	,200*	,989	60	,856

Descriptives

Descriptives		Statistic	Std. Error
Diâmet FD	Mean	7,7246	,18362
	95% Confidence Interval for Lower Bound	7,3514	
	Mean Upper Bound	8,0977	
	5% Trimmed Mean	7,7211	
	Median	7,5500	
	Variance	1,180	
	Std. Deviation	1,08633	
	Minimum	5,00	
	Maximum	10,10	
	Range	5,10	
	Interquartile Range	1,34	
	Skewness	,144	,398
	Kurtosis	,176	,778

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diâmet FD	,138	35	,091	,959	35	,216

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
CL D7	53	88,3%	7	11,7%	60	100,0%

Descriptives

		Statistic	Std. Error
CL D7	Mean	3,0979	,12661
	95% Confidence Interval for Lower Bound	2,8439	
	Mean Upper Bound	3,3520	
	5% Trimmed Mean	3,0755	
	Median	3,0900	
	Variance	,850	
	Std. Deviation	,92173	
	Minimum	1,58	
	Maximum	5,49	
	Range	3,91	
	Interquartile Range	1,42	
	Skewness	,287	,327
	Kurtosis	-,603	,644

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CL D7	,086	53	,200*	,970	53	,194

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Área CI acess	8	13,3%	52	86,7%	60	100,0%

Descriptives

		Statistic	Std. Error
Área CI acess	Mean	,9588	,11512
	95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound	,6865	
	Upper Bound	1,2310	
	5% Trimmed Mean	,9542	
	Median	,8100	
	Variance	,106	
	Std. Deviation	,32560	
	Minimum	,60	
	Maximum	1,40	
	Range	,80	
	Interquartile Range	,63	
	Skewness	,468	,752
	Kurtosis	-1,966	1,481

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	DF	Sig.	Statistic	df	Sig.
Área CI acess	,290	8	,046	,837	8	,070

a. Lilliefors Significance Correction

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
CC D0	60	100,0%	0	,0%	60	100,0%
CC D30	60	100,0%	0	,0%	60	100,0%

Descriptives		Statistic	Std. Error	
CC D0	Mean	2,913	,0318	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,850	
		Upper Bound	2,977	
	5% Trimmed Mean	2,906		
	Median	2,950		
	Variance	,060		
	Std. Deviation	,2460		
	Minimum	2,5		
	Maximum	3,5		
	Range	1,0		
	Interquartile Range	,3		
	Skewness	,534	,309	
	Kurtosis	-,055	,608	
	CC D30	Mean	3,072	,0332
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	3,005	
		Upper Bound	3,138	
5% Trimmed Mean		3,070		
Median		3,050		
Variance		,066		
Std. Deviation		,2572		
Minimum		2,5		
Maximum		3,7		
Range		1,2		
Interquartile Range		,3		
Skewness		,103	,309	
Kurtosis		-,293	,608	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CC D0	,162	60	,000	,922	60	,001
CC D30	,124	60	,022	,968	60	,111

a. Lilliefors Significance Correction

Diâmetro FO, Diâmetro FD, Área CL

	N		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
FO D0	0	30	11,2217	1,60762	,29351
	1	30	11,1220	1,57872	,28823
Diâmet FD	0	15	7,5527	1,42453	,36781
	1	20	7,8535	,75874	,16966
CL D7	0	26	2,6565	,70005	,13729
	1	27	3,5230	,91952	,17696

Group Statistics

CL acess		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Diâmet FD	0	27	7,5437	1,10612	,21287
	1	8	8,3350	,79719	,28185

Independent Samples Test

	Levene's T		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Diff	Std. E Diff	95% Conf Inter	
								Low	Upp
Diâm Eq v as	,243	,625	-1,875	33	,070	-,79130	,42195	-1,64	,06717
FD Eq v n as			-2,240	15,873	,040	-,79130	,35321	-1,54	-,04205

Independent Samples Test

	Levene's Test		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Diff	Std. Error Diff	95% IC	
								Lower	Upper
FO D0 Eq v as	,170	,681	,242	58	,809	,09967	,41137	-,72378	,92312
Eq v n as			,242	57,9	,809	,09967	,41137	-,72379	,92312
Diâm Eq v as	5,963	,020	-,807	33	,426	-,30083	,37297	-1,05965	,45799
FD Eq v n as			-,743	19,9	,466	-,30083	,40506	-1,14597	,54430
CL D7 Eq v as	1,741	,193	-3,849	51	,000	-,86642	,22512	-1,31838	-,41447
Eq v n as			-3,868	48,4	,000	-,86642	,22397	-1,31664	-,41620

Crosstab

		Ovulação		Total
		0	1	
Grupo 0	Count	4	26	30
	% within Grupo	13,3%	86,7%	100,0%
1	Count	3	27	30
	% within Grupo	10,0%	90,0%	100,0%
Total	Count	7	53	60
	% within Grupo	11,7%	88,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,162 ^a	1	,688	1,000	,500
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,162	1	,687		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	,159	1	,690		
N of Valid Cases	60				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,50.

b. Computed only for a 2x2 table

Crosstab

		CL acess		Total
		0	1	
Grupo 0	Count	30	0	30
	% within Grupo	100,0%	,0%	100,0%
1	Count	22	8	30
	% within Grupo	73,3%	26,7%	100,0%
Total	Count	52	8	60
	% within Grupo	86,7%	13,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	9,231 ^a	1	,002	,005	,002
Continuity Correction ^b	7,067	1	,008		
Likelihood Ratio	12,326	1	,000		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	9,077	1	,003		
N of Valid Cases	60				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,00.

b. Computed only for a 2x2 table

Ranks				
	Grupo	N	Mean Rank	Sum of Ranks
CC	0	30	34,32	1029,50
D0	1	30	26,68	800,50
	Total	60		

Report				
CC D0				
Grupo	Mean	N	Std. Deviation	
0	2,96	30	,263	
1	2,87	30	,222	
Total	2,91	60	,246	

Test Statistics^a

	CC D0
Mann-Whitney U	335,500
Wilcoxon W	800,500
Z	-1,738
Asymp. Sig. (2-tailed)	,082

a. Grouping Variable: Grupo

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
CC D0	Mean	2,869	,0120	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,845	
		Upper Bound	2,892	
	5% Trimmed Mean	2,858		
	Median	2,800		
	Variance	,079		
	Std. Deviation	,2804		
	Minimum	2,4		
	Maximum	4,0		
	Range	1,6		
	Interquartile Range	,5		
	Skewness	,463	,104	
	Kurtosis	-,265	,208	
	CC D32	Mean	3,037	,0117
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	3,014	
		Upper Bound	3,060	
5% Trimmed Mean		3,037		
Median		3,000		
Variance		,075		
Std. Deviation		,2736		
Minimum		2,5		
Maximum		4,0		
Range		1,5		
Interquartile Range		,5		
Skewness		,149	,104	
Kurtosis		-,600	,208	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CC D0	,168	548	,000	,934	548	,000
C D32	,128	548	,000	,957	548	,000

Ranks				
	Grupo	N	Mean Rank	Sum of Ranks
CC D0	0	289	271,35	78420,00
	1	268	287,25	76983,00
	Total	557		

Test Statistics ^a	
	CC D0
Mann-Whitney U	36515,000
Wilcoxon W	78420,000
Z	-1,175
Asymp. Sig. (2-tailed)	,240

a. Grouping Variable: Grupo

Case Processing Summary						
	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
CC D0 * Grupo	557	97,9%	12	2,1%	569	100,0%
CC D32 * Grupo	556	97,7%	13	2,3%	569	100,0%

Report			
Grupo		CC D0	CC D32
0	Mean	2,851	3,015
	N	289	289
	Std. Deviation	,2793	,2782
	Std. Error of Mean	,0164	,0164
1	Mean	2,881	3,061
	N	268	267
	Std. Deviation	,2823	,2651
	Std. Error of Mean	,0172	,0162
Total	Mean	2,865	3,037
	N	557	556
	Std. Deviation	,2809	,2727
	Std. Error of Mean	,0119	,0116

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	3,254	1	,071
	Block	3,254	1	,071
	Model	3,254	1	,071

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	Grupo	,303	,168	3,245	1	,072	1,354
	Constant	-,147	,116	1,610	1	,204	,863

a. Variable(s) entered on step 1: Grupo.

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	1,437	1	,231
	Block	1,437	1	,231
	Model	1,437	1	,231

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	Local	-,211	,176	1,435	1	,231	,810
	Constant	,281	,252	1,245	1	,264	1,325

a. Variable(s) entered on step 1: Local.

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	,007	1	,935
	Block	,007	1	,935
	Model	,007	1	,935

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	Touro	-,002	,026	,007	1	,935	,998
	Constant	,058	,222	,069	1	,793	1,060

a. Variable(s) entered on step 1: Touro.

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	15,394	1	,000
	Block	15,394	1	,000
	Model	15,394	1	,000

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	CCD0	,311	,080	15,028	1	,000	1,364
	Constant	-,759	,209	13,118	1	,000	,468

a. Variable(s) entered on step 1: CCD0.

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	2,060	1	,151
	Block	2,060	1	,151
	Model	2,060	1	,151

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	Grupo by Local	,161	,112	2,053	1	,152	1,175
	Constant	-,106	,110	,925	1	,336	,899

a. Variable(s) entered on step 1: Grupo * Local .

Vita

Diego Xavier Thedy, filho de Zaida Emília Xavier Thedy e Raul César Vasconcellos Thedy, natural de Porto Alegre, nascido em 19 de março de 1982. Concluiu o ensino fundamental no Colégio Nossa Senhora do Bom Conselho, em Porto Alegre, no ano de 1999. Formado em Medicina Veterinária no ano de 2010 pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Durante a graduação foi bolsista voluntário (2007-2008) e bolsista de iniciação científica (2009-2010) na Unidade de Reprodução de Bovinos sob orientação do Prof. João Batista Borges. No ano de 2012 ingressou como aluno regular no Programa de Pós Graduação em Zootecnia – UFRGS, nível mestrado acadêmico, como bolsista CnPQ e orientação do Prof. João Batista Borges.