

**MARILÚ MARTINS GIOSO**

**DOSES E VIAS DE APLICAÇÃO DE CLOPROSTENOL SÓDICO  
PARA SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM RECEPTORAS DE  
EMBRIÃO BOVINO.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2003

**MARILÚ MARTINS GIOSO**

**DOSES E VIAS DE APLICAÇÃO DE CLOPROSTENOL SÓDICO  
PARA SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM RECEPTORAS DE  
EMBRIÃO BOVINO.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 08 de maio de 2003

---

Prof. Tarcízio Antônio Rego de Paula  
(Conselheiro)

---

Prof. José Domingos Guimarães  
(Conselheiro)

---

Prof. Giovanni Ribeiro Carvalho

---

Prof. Carlos A. de Carvalho Fernandes

---

Prof. Eduardo Paulino da Costa  
(Orientador)

## ***A DEUS***

*“Por vezes, senti meu corpo fraquejar, e tu estendeste tua mão e ergueste-me.*

*Por vezes, senti minha alma se abater, e tu me deste coragem de prosseguir.*

*Por vezes, senti meu espírito desvanecer, e tu enviaste o teu próprio Espírito para me consolar.*

*Hoje, humilde, a vitória é minha... e a ti, Meu Deus, toda Honra e toda Glória, Eternamente.*

*Amém. “*

***Aos meus pais, por tudo.***

## AGRADECIMENTOS

À Deus Pai, Jesus Cristo e Nossa Senhora, meus guias, meus alicerces- pela minha vida, por tudo, por todos, pela luz.

Aos meus pais Antonio e Ana Maria, por me ensinarem a trilhar o caminho da vida e por terem tornado possível a realização dos meus sonhos - minha razão de viver, meu tudo.

À minha família Martins, por me dar a honra de lhe pertencer.

À vovó Alice Gioso (in memorian) e vovô Leopoldo Gioso (in memorian) pelos ensinamentos, força, energia – minhas fontes de inspiração.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso - minha casa.

Ao Professor Eduardo Paulino da Costa, pela compreensão, paciência, ensinamentos, encorajamento, conselhos, orientação e amizade - por ter acreditado em mim - meu segundo pai.

Ao Professor Carlos Antonio de Carvalho Fernandes, pela oportunidade ímpar de realização deste trabalho, pelos ensinamentos, orientação, paciência e atenção – muito obrigada.

Ao Professor José Domingos Guimarães, pelo apoio, ensinamentos, auxílio, credibilidade, amizade.

Ao Professor Tarcízio Antônio Rêgo de Paula, pela orientação, auxílio, paciência, solidariedade, alegria inquestionável, sorriso sempre – admiro.

Ao Professor Giovanni Ribeiro de Carvalho, pela orientação, atenção, auxílio nas dosagens hormonais.

Ao Professor Eduardo Leite Gastal, pela atenção e encorajamento.

Ao Professor Jackson Araújo, pela credibilidade, ajuda e confiança.

Ao Laboratório Coopers, pela doação do medicamento Ciosin<sup>®</sup>.

Aos senhores proprietários e funcionários das fazendas Água Limpa- MG; Porto-MG; Santa Rosa-MG; Santa Clara-RJ, pela abertura de portas, dedicação, credibilidade, convívio e apoio prestados – aprendi muito.

Aos veterinários e funcionários do Matadouro Municipal de Ubá- MG, pela abertura das portas, pela ajuda.

Aos amigos de Alfenas Thales, Eduardo (Marreta), Jorge (Vô), pelo completo apoio, dedicação, paciência, atenção e amizade.

Ao Belmiro, pelo apoio, confiança, ajuda, simpatia e amizade.

Ao Ulisses, pela força, paciência, compreensão e carinho em todos os momentos.

À Viviane, pelo enorme apoio e ajuda, pela sua amizade.

Aos amigos Alan, Anselmo, Vitinho, Rogério, Letícia, Ronaldo, Jeanne, Thiago, Trícia, Waldma, Natália, Flávio, Daniel (Baiano), Herbert (Lafon), Luis Gustavo (Animar), Cássio, Rafael, Nilo, Luciano (CD), Carol, pela ajuda, alegria, entusiasmo, convívio.

Às minha amigas Alexandra e Mariana - minha irmãs.

Às minhas lindinhas irmãs Aline e Juliana, pela cumplicidade, companheirismo, conselhos, sorrisos, broncas, paciência, por tudo - todo o meu carinho - obrigada por existirem.

Às amigas Márcia, Mel, Juju, Fernandinha, Dona Maria, pela paciência, convívio, alegrias, por todos os momentos que passamos. Aos adoráveis Jack, Ricardinho, Luna e Nicole pela alegria e compreensão de sempre.

Aos amigos distantes Cé, Fá, JP, Mônica, Fabi, Helton, Orlando (Goiano), Richard, João (Macaco), Daniel (Seqüela), Robson, Daniel (Padre), Luis Gustavo (Praguinha), Leozinho, Pedro Paulo, Carlos (Porca), Brunna, Regina, pelo inesquecível e valioso convívio e companheirismo em todos os momentos que passamos.

Aos amigos e funcionários do Departamento de Veterinária, Rose, Cléia, Geraldinho, Heloísa, Didi, Luciano, Margareth, Camilo, Bel, Maninha, Celinho, Claudinho, Cláudio, Adão, Nicola, Luiz Marcio, pelo inquestionável apoio, dedicação, convívio e atenção nestes sete anos.

Ao senhor José Cândido (Seu Nenzinho), pela dedicação, alegria, ensinamentos, amizade, palavras de sabedoria.

Aos problemas e obstáculos, pelo desafio – “Na guerra é pior”.

A todos que direta ou indiretamente participaram deste trabalho.

DEDICO, HOMENAGEIO, AGRADEÇO.

## **BIOGRAFIA**

MARILÚ MARTINS GIOSO, filha de Antonio Maria Gioso e Ana Maria Martins Gioso, nasceu em 08 de Dezembro de 1976, em São Paulo, São Paulo.

Em 29 de março de 2001, graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em 02 de abril de 2001, iniciou o curso de Mestrado em Medicina Veterinária, área de concentração em Reprodução Animal, junto ao Departamento de Veterinária, nessa mesma instituição.

## CONTEÚDO

PÁGINAS

	LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS .....		x
RESUMO .....		xi
ABSTRACT .....		xiii
1.INTRODUÇÃO GERAL .....		1
2.REVISÃO DE LITERATURA .....		3
2.1.Aspectos Gerais dos Mecanismos Associados à Luteólise .....		3
2.2.Importância da PGF2 $\alpha$ e seus Análogos na Sincronização de Estro .....		7
2.3.Doses e Vias de Aplicação dos Agentes Luteolíticos .....		9
2.4.Concentrações Séricas de Progesterona .....		12
2.5.Intervalo de Administração de um Análogo da PGF2 $\alpha$ ao Estro .....		14
2.6.Angioarquitetura do Órgão Genital de Fêmeas Bovinas e Transporte de PGF2 $\alpha$ para o CL	18	
3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		20
CAPÍTULO I .....		31
RESUMO .....		31
ABSTRACT .....		32
1.INTRODUÇÃO .....		33
2.MATERIAL E MÉTODOS .....		34
3.RESULTADOS E DISCUSSÃO .....		36
4.CONCLUSÕES .....		42
5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		42
CAPÍTULO II .....		47
RESUMO .....		47
ABSTRACT .....		48
1.INTRODUÇÃO .....		49
2.MATERIAL E MÉTODOS .....		51
3.RESULTADOS E DISCUSSÃO .....		54
4.CONCLUSÕES .....		68
5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		69
4.CONCLUSÕES GERAIS .....		78

## LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	PÁGINAS
Tabela 01- Taxa de sincronização de estro até 96 horas após a aplicação do luteolítico por diferentes doses e vias de aplicação, em bovinos.....	37
Tabela 02- Taxa de sincronização (agrupando os três tratamentos) dos animais que apresentavam histórico e que não apresentavam histórico de estro anterior a aplicação de um agente luteolítico.....	38
Tabela 03- Taxa de estro até 96 horas após a sincronização de animais sem histórico prévio de estro, selecionados apenas pela presença de CL característico em um dos ovários via palpação transretal.....	38
Tabela 04- Taxas de sincronização de estro, em bovinos, em intervalos até 96 horas após a aplicação do luteolítico em diferentes fases do diestro (7-16 dias).....	39
Tabela 05- Taxas de gestação em receptoras sincronizadas com Cloprostenol Sódico por diferentes doses e vias, inovuladas com embriões não congelados.....	40

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO II

### PÁGINAS

Tabela 01- Taxas de sincronização (%) e intervalo (horas) de resposta ao estro após a aplicação de cloprostenol sódico em fêmeas bovinas .....	55
Tabela 02- Taxas de sincronização e intervalos (horas) de resposta ao estro após a aplicação de Cloprostenol Sódico em diferentes fases de diestro.....	56
Tabela 03- Valores médios das concentrações de Progesterona sérica (ng/mL) no momento anterior a aplicação do luteolítico (zero hora) e 48 horas após. Porcentagens de queda das concentrações de Progesterona após 48 horas da aplicação do luteolítico.....	59
Tabela 04-Concentrações séricas de P4 (ng/mL) em animais em diferentes fases do diestri no momento anterior a 48 horas após a aplicação do Cloprostenol Sódico.....	61

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO II

### PÁGINAS

- Figura 01- Lâmina Radiográfica de um órgão genital de fêmea bovina (vista ventral), coletado em matadouro. A infusão de contraste radiográfico foi realizada em um único vaso no sentido cranial ao órgão. 1= local da infusão de contraste radiográfico (ramo da veia vaginal localizado na região caudal da vagina); 2= cervix; 3= corpo do útero; 4= cornos uterinos..... 65
- Figura 02 - Lâmina Radiográfica de um órgão genital de fêmea bovina (vista ventral), indicando o ramo da veia vaginal (seta larga) em que foi realizada a infusão do contraste (sentido cranial ao órgão). As setas (→) indicam as anastomoses venosas nas regiões caudais ao local da infusão. 1= vagina; 2= abertura caudal da cervix..... 66
- Figura 03 – Lâmina Radiográfica de um órgão genital de fêmea bovina (vista ventral), infundido com contraste radiográfico em um único ramo da veia vaginal, no sentido cranial ao órgão. 1= Ovário, 2= Corpo Lúteo, 3= Veia útero-ovariana (veia ovariana). As setas (→) indicam as valvas da veia ovariana e dos ramos uterinos da veia ovariana..... 67

## RESUMO

GIOSO, Marilú Martins, MS., Universidade Federal de Viçosa, maio, 2003.

**Doses e vias de aplicação de cloprostenol sódico para sincronização de estro em fêmeas bovinas receptoras de embrião.** Orientador: Prof. Eduardo Paulino da Costa. Conselheiros: Prof. José Domingos Guimarães e Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula.

Este trabalho teve como objetivo a administração de um agente luteolítico (Cloprostenol Sódico-Ciosin<sup>®</sup>) em diferentes doses e vias, para avaliar as taxas de sincronização, intervalo da aplicação ao estro, concentrações de progesterona sérica (P4) e taxas de gestação de embriões transferidos à fresco em receptoras de embrião bovino. Ainda, órgãos genitais de fêmeas bovinas foram coletados em matadouros para o estudo da angioarquitetura, por meio de infusões venosas de contrastes radiográficos. Foram utilizadas 199 receptoras mestiças Holandês-Zebu com escore corporal  $\geq 3,0$  numa escala de 1 a 5 e peso vivo entre 320-450 kg. Um total de 103 animais apresentavam histórico de estro anterior aos tratamentos (entre os dias 7-16 do ciclo estral; estro= dia zero) e 96 não apresentavam histórico, apenas selecionados pela palpação transretal para a presença de CL característico em um dos ovários. Os animais foram divididos ao acaso em três grupos experimentais. No Tratamento 1: 68 animais (38 com histórico de estro anterior) receberam 1 mL de Cloprostenol na parede interna da vulva (IVSM). Tratamento 2: 66 animais (33 com histórico) receberam 1 mL de Cloprostenol via intramuscular (IM) e no Tratamento 3: 65 animais (32 com histórico) receberam 2 mL de Cloprostenol via IM. Considerou-se o reflexo de imobilidade como indicativo do estro e somente foram considerados para os estudos os animais que manifestaram estro até 96 horas após a aplicação. As médias das concentrações de Progesterona Séricas (P4) foram analisadas por RIA no momento anterior à aplicação da droga e 48 horas após. Não houve diferença na taxa

de sincronização ( $P>0,05$ ) entre os três tratamentos (72,1%, 53,0% e 64,6% respectivamente), quando apenas os animais com histórico foram avaliados (76,3%, 60,6% e 68,8%, respectivamente) e quando os animais sem histórico foram avaliados (66,7%, 45,5% e 60,6%, respectivamente). O intervalo de resposta ao estro foi semelhante ( $p>0,05$ ) entre os três tratamentos ( $69,3\pm 15,2$ ;  $67,9\pm 16,7$ ;  $68,3\pm 16,9$  horas, respectivamente), mas apresentaram diferenças ( $p<0,05$ ) quando os animais com histórico foram divididos em classes luteais, nas quais os animais pertencentes aos dias 11-13 do ciclo estral apresentaram intervalos maiores ( $75,3 \pm 13,3$  horas) de resposta ao estro, em relação aos animais dos dias 7-10 do ciclo ( $63,6 \pm 18,3$  horas) e os animais dos dias 14-16 ( $61,1 \pm 11,3$  horas). Mas a taxa de sincronização foi semelhante entre as três classes luteais ( $P>0,05$ ). Em relação à taxa de gestação não houve diferenças ( $P>0,05$ ) nos três tratamentos (45,5%, 50,0% e 55,0% respectivamente). Quanto a P4, a queda percentual dos valores de progesterona após 48 horas da aplicação foram semelhantes ( $p>0,05$ ) nos três tratamentos (79%; 68% e 83%, respectivamente). Em relação à angioarquitetura dos órgãos genitais, foi observado por meio de lâminas radiográficas, que a veia vaginal caudal drena a parede da vagina e apresenta anastomoses com os vasos provenientes da cérvix, corpo e cornos uterinos. Este presente estudo demonstrou que receptoras bovinas com e/ou sem histórico de estro anterior, quando sincronizadas com Cloprostenol Sódico em doses reduzidas (50% da convencional), tanto pelas vias IM ou IVSM apresentam taxas de sincronização, intervalos de resposta ao estro, queda das concentrações de progesterona e taxas de gestação semelhantes. As variações nos intervalos de resposta ao estro são influenciadas pela fase de diestro em que o animal se encontra no momento do tratamento e não pela rota ou dose de administração de um agente luteolítico. Sugere-se ainda que parte da dosagem de agentes luteolíticos administrados via IVSM pode ser transportada diretamente ao útero e, por conseguinte ao ovário por uma rota local sem passar pela circulação sistêmica.

## ABSTRACT

GIOSO, Marilú Martins, MS., Universidade Federal de Viçosa, may, 2003.

**Doses and vias of administration of Sodic Cloprostenol to estrous synchronization in bovine embryo recipients.** Adviser: Prof. Eduardo Paulino da Costa. Committee Members: Prof. José Domingos Guimarães e Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula.

This work had as objective the administration of an luteolytic agent (Cloprostenol Sodic-Ciosin) in different doses and routes, to evaluate the synchronization rates, interval of the application to the estrus, hormonal plasma concentrations of progesterone (P4) and pregnant rates of fresh embryos transferred. Still, genital organs of bovine females were collected at slaughterhouses for the study of the angioarchitecture, through veined infusions of radiographic contrasts. There were used 199 Holstein-Zebu embryo recipients with corporal score  $\geq 3,0$  in a scale from 1 to 5 and live weight among 320-450 kg. A total of 103 animals presented historic of estrus previous to the treatments (between days 7-16 of the estrous cycle; estrous = day 0) and 96 animals didn't present historic of estrous, these were examined by rectal palpation for the presence of ripe CL in one of the ovaries. The animals were randomly assigned to three experimental groups. Treatment 1: 68 animals (38 with report of previous estrus) received 1 mL of Cloprostenol via intra-vulvo-submucosal (IVSM). Treatment 2: 66 animals (33 with report of previous estrus) received 1 mL of Cloprostenol via intramuscular (IM) and in Treatment 3, 65 animals (32 with report of previous estrus) received 2 mL of Cloprostenol via IM. It was considered immobility reflex as an indicative of estrous and only the animals that showed estrus up to 96 hours after the application of the Cloprostenol were used. The averages of plasma progesterone concentrations (P4) were analyzed by RIA in the moment previous to the application of the drug and 48 hours after. There was no

difference in synchronization rates ( $P>0,05$ ) between the three treatments (72,1%, 53,0% , 64,6%, respectively), when just the animals with report of previous estrus were appraised (76,3%, 60,6% , 68,8%, respectively) and when the animals without report of previous estrus were appraised (66,7%, 45,5% , 60,6%, respectively). The answer interval to the estrus was similar ( $p >0,05$ ) among the three treatments ( $69,3 \pm 15,2$ ;  $67,9 \pm 16,7$ ;  $68,3 \pm 16,9$  hours, respectively), but they showed differences ( $p<0,05$ ) when the animals with report of estrus were divided in luteal classes, in witch animals belonging to days 11-13 of estrous cycle showed larger intervals ( $75,3 \pm 13,3$  hours), in relation to days 7-10 of the estrous cycle ( $63,6 \pm 18,3$  hours) and to days 14-16 ( $61,1 \pm 11,3$  hours). Synchronization rates were similar among the three luteal classes ( $P>0,05$ ). Regarding pregnant rates there were not differences ( $P>0,05$ ) in the animals fertility among the three treatments, (45,5%, 50,0% , 55,0% respectively). As for the plasma P4 concentrations, the percentile fall of the progesterone values after 48 hours of the application was similar ( $p>0,05$ ) in the three treatments (79%; 68% and 83%, respectively). Regarding the angioarchitecture of the genital organs it was observed through radiographic sheets that the caudal vaginal vein drains the vagina mucosal and it presents anastomoses with the vases from the cervix, body and uterine horns. The present study demonstrated that embryo recipients with and/or without report of previous estrus, when synchronized with Sodic Cloprostenol in reduced doses (50% of the conventional), as by IM or IVSM roads showed similar synchronization rates, answer intervals to the estrus, fall of the progesterone concentrations and pregnat rates. The variations in the answer intervals to the estrous are influenced by the diestrous phase in the moment of treatment and not for the route or dose of administration of an luteolytic agent. A portion of luteolytic agents administered through IVSM can be transported directly to the uterus and consequently to the ovary for a local route without passing for the systemic circulation is suggested.

## 1- INTRODUÇÃO GERAL

O conhecimento dos eventos reprodutivos de uma espécie é fundamental para o emprego de biotécnicas como a sincronização de estro, inseminação artificial e transferência de embriões, permitindo otimizar o potencial reprodutivo, bem como acelerar o ganho genético.

O Corpo Lúteo (CL) é um órgão endócrino transiente formado da ruptura do folículo ovulatório e sua função primária é a produção de progesterona (WEBB et al., 2002), a qual prepara o endométrio para implantação e manutenção da gestação inicial (WILTBANK, 1994). Se a prenhez não ocorrer, o CL regride para permitir um novo ciclo estral (SAKAMOTO et al., 1995).

A prostaglandina  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ) apresenta atividade luteolítica, o que despertou interesse dos profissionais ligados à reprodução, como recurso potencial para controlar o ciclo estral dos bovinos e de outras espécies de interesse zootécnico. Entre as drogas utilizadas, destacam a  $PGF2\alpha$  natural ou seus análogos sintéticos, dentre eles o Cloprostenol o qual tem sido amplamente utilizado com resultados satisfatórios (CALLEJAS et al., 1995).

A administração destes agentes luteolíticos em animais no diestro causa a lise do corpo lúteo e, conseqüentemente, os animais manifestam sintomas de estro (VISINTIN, 2001). Sendo um método prático, a  $PGF2\alpha$  induz estro de fertilidade comparada à natural (FERNANDES, 1994) desde que sejam controlados outros fatores como as condições corporais, o plano de nutrição, o manejo reprodutivo adequado e a redução do estresse térmico.

A transferência de embriões permite a obtenção de maior número de crias de uma mesma fêmea doadora durante sua vida, possibilitando maior pressão de seleção

dentro de uma propriedade. A eficiência da técnica de transferência de embriões está relacionada com a correta sincronia entre a fase do ciclo estral da receptora e o estágio de desenvolvimento do embrião. O uso de receptoras selecionadas pelo estro natural necessitaria de um número elevado de animais, inviabilizando economicamente o processo. A obtenção de animais no estágio adequado por ocasião da coleta depende dos procedimentos de sincronização de estro (VIANA et al., 1997) o que faz da PGF2 $\alpha$  um instrumento de grande importância.

O custo relativamente elevado da dose convencional do tratamento aplicado via intramuscular (IM), constitui um fator limitante do uso intensivo desta substância. Em razão disso, diversas pesquisas têm sido conduzidas visando reduzir a dose luteolítica da PGF2 $\alpha$  e seus análogos sintéticos administrados por vias diferentes à muscular (ALVAREZ et al., 1989). Tem-se realizado estudos que reduzem a dose do cloprostenol a 50% e a 25% da dose recomendada pelo fabricante, como a usual (CALLEJAS et al., 1995).

Esforços substanciais têm sido realizados para determinar a mínima dose efetiva e a rota mais apropriada para administração de PGF2 $\alpha$ . Este estudo teve como objetivo: avaliar a eficiência de diferentes doses e vias de aplicação de um agente luteolítico (Cloprostenol Sódico), na tentativa de reduzir as doses de administração; bem como avaliar o intervalo de resposta da administração da luteolisina ao estro e taxa de gestação em receptoras usadas nos programas de transferência de embriões (TE) bovinos.

## **2-REVISÃO DE LITERATURA.**

### **2.1-Aspectos gerais dos mecanismos associados à luteólise.**

O CL de um ciclo estral nos bovinos é uma estrutura dinâmica com um período de vida de aproximadamente de 17-18 dias (OHTANI et al.,1998). Na ausência da prenhez, o CL submete-se a regressão morfológica e funcional. Este processo, chamado de luteólise, é caracterizado pela cessação da produção de progesterona e perda dos componentes celulares, incluindo redução do suprimento vascular, proliferação do tecido conjuntivo, aumento da desorganização celular, degeneração e fagocitose das células luteais (CARLSON et al.,1982).

Evidências para a deterioração morfológica do CL são observadas mais precocemente pelo dia 14 do ciclo estral e no dia 200 em vacas gestantes. Vacas leiteiras parecem apresentar o processo de regressão luteal (17º dia) mais tardio que vacas de corte (14º dia), podendo ser explicado por um maior e mais ativo CL, o que provoca um maior intervalo interovulatório (FIELDS & FIELDS, 1996).

A PGF2 $\alpha$  endógena é um hormônio derivado do ácido araquidônico e sintetizada principalmente pelas células epiteliais do endométrio (SPINOSA et al.,1997). Sua função principal na reprodução é provocar a regressão do CL, através do processo de luteólise (TSAI & WILTBANK, 1997). A luteólise natural é iniciada pela liberação uterina de PGF2 $\alpha$  e esta pode atuar diretamente nas células luteais para diminuir a produção de progesterona (PATE, 1994), culminando com o retorno do estro nos animais. Pode-se dizer, que a PGF2 $\alpha$  é responsável pelo tempo de vida do CL (SPINOSA et al., 1997) causando sua regressão morfológica e funcional (KOTWICA et al., 2002), sendo que a regressão funcional precede a regressão morfológica (VIANA et al., 1999) e a luteólise funcional é caracterizada pela diminuição da secreção de progesterona e a estrutural pela perda dos componentes

celulares e degradação tecidual (PATE, 1994; MIYAMOTO, 1996; VIANA et al., 1999).

Em ruminantes domésticos, somente uma pequena quantidade da PGF2 $\alpha$  uterina alcança o ovário, por difusão da veia uterina para a artéria ovariana (mecanismo denominado de contra corrente), com mais de 95% da PGF2 $\alpha$  sendo metabolizada a componentes inativados como a 15-ceto-13, 14-diidroprostaglandina F2alpha, por uma única passagem pelos pulmões (FERREIRA & VANE, 1967).

Ao alcançar o CL, o efeito luteolítico da PGF2 $\alpha$  resultará da associação com os receptores presentes na membrana plasmática das células luteais, levando a inibição da síntese de progesterona luteal (WAKELING & GREEN, 1981). Um pulso inicial de prostaglandina, mesmo sendo de baixa magnitude, pode potencialmente iniciar os mecanismos para que as grandes células luteínicas produzam consideráveis concentrações locais de PGF2 $\alpha$  (TSAI & WILTBANK, 1997). Isto pode explicar porque uma pequena quantidade de PGF2 $\alpha$  uterina é capaz de iniciar a regressão luteal. Assim, dois mecanismos podem existir para a amplificação dos pulsos de PGF2 $\alpha$ . Em primeiro, a PGF2 $\alpha$  uterina pode estimular a liberação de ocitocina pelo CL, a qual estimula a produção de mais PGF2 $\alpha$  uterina dentro de minutos de iniciação do pulso (BAIRD, 1992). Em adição, a PGF2 $\alpha$  uterina pode estimular a produção de PGF2 $\alpha$  intraluteal (TSAI & WILTBANK, 1997).

Embora a PGF2 $\alpha$  possa iniciar a luteólise funcional, mecanismos adicionais parecem ser necessários para a luteólise completa. A luteólise é um evento contínuo, e a distinção entre mudanças funcionais e estruturais se faz necessário para entender o processo como um todo. As grandes células luteínicas provavelmente respondem inicialmente ao sinal luteolítico, mas as comunicações entre grandes e pequenas células, bem como entre células luteais e não luteais, parecem ser requeridas para a regressão completa se proceder (PATE, 1994; SPINOSA et al., 1997).

O sistema imune parece estar ativamente envolvido no processo de luteólise, onde é possível que as células luteais ativem certos tipos de sinais para as células imunológicas (MHC, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ), permitindo a infiltração de células linfocíticas no CL bovino a partir do dia 14 do ciclo estral, antes mesmo do início da luteólise natural (WEBB et al., 2002).

A principal função das células imunes no CL, neste estágio é a fagocitose levando a luteólise estrutural (MIYAMOTO, 1996). As células imunológicas produzem citocinas que podem modificar a síntese de progesterona e prostaglandinas

pelas células luteais. Podem também apresentar efeitos citotóxicos diretos nas células luteais, e as células mortas são fagocitadas pelos macrófagos. Também, fatores secretados pelas células luteais podem servir como quimiostáticos para as células imunes, aumentando ou suprimindo suas funções (PATE, 1996).

Adicionalmente, pesquisas têm sido focadas sobre a possibilidade da regressão luteal ocorrer por processos degenerativos de apoptose. Há evidências morfológicas que as células não esteroideogênicas (células não luteais) presentes no CL sofrem apoptose, possivelmente iniciado por hipóxia (NISWENDER et al., 1990). Admite-se que a Endotelina-1 (ET-1) seja um possível mediador dos efeitos da  $PGF2\alpha$  no fluxo sanguíneo luteal. Ela é um potente vasoconstritor e também inibe a atividade de células esteroideogênicas, pois reduz o fluxo sanguíneo durante a luteólise inicial pela constrição arteriolar. Esta redução do fluxo sanguíneo determina uma condição de hipóxia, o que pode causar a liberação adicional de Endotelina-1 (MILVAE et al., 1996). A ET-1, que é produzida pelas células endoteliais que revestem estes vasos sanguíneos, desempenham um papel crucial durante a luteólise induzida pela  $PGF2\alpha$  (LEVY et al., 2000) sendo a Endotelina-1 um mediador/promotor luteolítico local na regressão do CL (OHTANI et al., 1998). Estas condições sugerem que a  $PGF2\alpha$  e a ET-1 são importantes na rápida cascata funcional da luteólise “in vivo” com uma possível interação entre as células endoteliais e luteais durante a luteólise (OHTANI et al., 1998).

Nas espécies domésticas e primatas, a regressão do CL capacita (ativa) o desenvolvimento de um novo folículo pré ovulatório. No entanto, durante os estágios iniciais do ciclo, que são caracterizados por uma massiva neovascularização, o CL é refratário a uma única aplicação de  $PGF2\alpha$ . Somente nos dias cinco ao 16 após o estro, a  $PGF2\alpha$  exógena causa regressão do CL bovino (TSAI & WILTBANK, 1997) e ainda outros pesquisadores (MOMONT, 1992) relatam que a  $PGF2\alpha$  (cloprostenol) somente será efetiva a partir do dia sete do ciclo.

A regressão luteal causada pela  $PGF2\alpha$  apresenta primariamente sua ação através dos receptores específicos presentes na membrana plasmática das grandes células luteínicas (SAKAMOTO et al., 1995) onde mRNA destes receptores de  $PGF2\alpha$  é altamente expressado e acumulado nas grandes células luteais em estágios não específicos do ciclo estral (SAKAMOTO et al., 1994; SAKAMOTO et al., 1995; WILTBANK et al., 1995 e TSAI & WILTBANK, 1998), mas a responsividade do CL à  $PGF2\alpha$  aumenta com o tempo, sendo que a afinidade de adesão da

prostaglandina aos receptores aumentam 203 vezes dos dias 13 ao 20 do ciclo estral (RAO et al., 1979) apresentando sensibilidade máxima no final da fase luteal (Berardinelli & Adair, 1989 citado por COLAZO et al., 2002). Portanto, PGF2 $\alpha$  não irá induzir a luteólise nos primeiros cinco dias do ciclo estral, quando o CL está em fase inicial de desenvolvimento (THATCHER & CHENAULT, 1976), embora apresentando mRNA dos receptores para tal. Em adição, a inabilidade de resposta nesta fase também parece ser devido a uma carência de expressão de outros mediadores que levam a esta luteólise (TSAI & WILTBANK, 1998 ; LEVY et al., 2000).

PATE (1994) revisou que esta refratariedade até o dia cinco do ciclo estral pode não ser atribuída a uma carência de receptores a PGF2 $\alpha$ , e sim pelo fato da PGF2 $\alpha$  não alcançar o CL inicial do ciclo estral porque o fluxo sangüíneo é desviado em direção ao útero e para fora do ovário durante esta fase, em bovinos. Em conclusão, a carência de responsividade do CL inicial não é atribuída a uma deficiência de receptores de alta afinidade (WILTBANK et al., 1995) e uma possível explanação para a ausência da regressão de CLs iniciais após a injeção de PGF2 $\alpha$  seria a incompleta vascularização do CL ou incompleta diferenciação dos mecanismos degenerativos nas células luteais. Pode-se sugerir que o tipo de célula que medeia as ações luteolíticas da PGF2 $\alpha$ , possivelmente o endotélio, pode ser não responsivo durante a fase luteal inicial (LEVY et al., 2000).

TSAI & WILTBANK (1997; 1998) mencionam que a prostaglandina apresenta curta meia vida e, portanto, precisa ser atuante apenas na sua primeira passagem pelo CL. A prostaglandina produzida pelas células luteais é de grande importância para a completa luteólise. Esta é uma das suposições sobre o CL inicial não ser capaz de sofrer luteólise: ele não é capaz de expressar a PGHS-2 (prostaglandina G/H Synthase-2) que sintetiza a prostaglandina nas grandes células luteínicas. Há evidências que a PGF2 $\alpha$  provavelmente atue por meio da rota proteína quinase C/ cálcio livre intracelular e isto pode estimular as grandes células luteais a expressar PGHS-2 e produzir PGF2 $\alpha$ . Esta PGF2 $\alpha$  luteal é provável que tenha função autócrina/parácrina para aumentar o efeito luteolítico da prostaglandina de origem uterina.

A PGF2 $\alpha$  causa diminuição do fluxo sangüíneo ao ovário e também há a queda na produção de progesterona, mas estes mecanismos são pobremente entendidos. Parece que o processo de luteólise pode ser primeiramente iniciado pela interação da

PGF2 $\alpha$  com receptores específicos localizados na membrana plasmática das grandes células (via proteína kinase C/segundo mensageiro que diminuirá a esteroidogênese), e que a vasoconstrição seja um efeito secundário. As ações combinadas da PGF2 $\alpha$  e a liberação de ocitocina local podem levar a vasoconstrição, isquemia, hipóxia, quimiotaxia de células imunológicas (PATE, 1996) e a seguir, a redução dos níveis de progesterona. Esta hipóxia e isquemia levariam não somente a diminuição da secreção de progesterona, mas também a apoptose das células não luteais, primeiramente em células endoteliais, depois parenquimais e por último nos fibroblastos.

NISWENDER et al. (1990) estudando luteólise em ovelhas concluíram que 1) luteólise é iniciada por uma ação direta da PGF2 $\alpha$  nas grandes células luteais; 2) a diminuição dos níveis circulantes de progesterona reflete uma combinação da redução da esteroidogênese e do fluxo sanguíneo luteal; 3) o estímulo primário para a apoptose nas células parenquimais, fibroblastos e células endoteliais é a hipóxia, devido a isquemia provocada por uma vasoconstrição e oclusão vascular, seguido de liberação de células endoteliais para o interior do lúmen dos pequenos vasos sanguíneos.

O entendimento destes mecanismos descritos anteriormente pode permitir a melhoria dos métodos de regulação do ciclo estral e desenvolver métodos para aumentar a fertilidade dos ruminantes domésticos.

## **2.2- Importância da PGF2 $\alpha$ e seus análogos na sincronização de estro.**

A Prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) ou seus análogos são comumente administrados pela rota intramuscular (IM) para sincronização de estro em várias espécies incluindo bovinos (DUTT & KHARCHE, 2000). Admite-se que o estro decorrente de uma injeção de PGF2 $\alpha$  apresenta fertilidade comparável à fertilidade dos animais que sofrem luteólise natural (BURFENING et al., 1978; JACKSON et al., 1983). Adicionalmente, as relações entre os eventos hormonais e ovarianos são similares em animais prostaglandina tratados ou não tratados (THATCHER & CHENAULT, 1976; QUIRK et al., 1986; VIANA et al., 1999).

TWAGIRAMUNGU et al. (1996) relatam que, nos programas de sincronização de estro, a PGF2 $\alpha$  não apresenta efeito detrimental na fertilidade das receptoras nos programas de transferência de embriões. O sucesso da transferência de embriões

depende de fatores associados ao embrião, à receptora ou à interação entre estes fatores de embrião e receptora (SPELL et al.,2001). Outro fator seria a sincronia entre receptoras e doadoras, que deve estar em torno de 24 horas ( $\pm$  24 horas) (VISINTIN, 2001), o que faz dos agentes luteolíticos para a sincronização do estro, uma ferramenta de grande importância.

Devido ao seu efeito luteolítico, a PGF2 $\alpha$  é um agente efetivo no controle da ovulação em bovinos. No entanto, em condições de campo, a aplicação de PGF2 $\alpha$  necessita ser esquematizada para que possa promover a luteólise na maioria dos animais tratados (THATCHER & CHENAULT, 1976). A rotina do uso de PGF2 $\alpha$  promove a oportunidade de melhorar a eficiência de detecção de estro e da performance reprodutiva (HEUWIESER et al.,1997), uma vez que a eficiente e precisa detecção de estro é o fator chave que determina o sucesso da reprodução dos rebanhos (HEERSCHER JR & NEBEL, 1994).

Em relação aos diferentes análogos da PGF2 $\alpha$  utilizados para sincronização de estro, destaca-se o Cloprostenol Sódico (Ciosin<sup>®</sup> -Coopers), que é uma prostaglandina sintética, apresenta 530 $\mu$ g/ dose convencional (2 mL), e possui estabilidade chegando a suportar 50°C durante 90 dias (avaliado pelo laboratório Coopers). O efeito luteolítico do Cloprostenol Sódico já é conhecido e apresenta provas nos resultados a campo que a fertilidade após o uso desta droga é considerada normal (COOPER, 1981; JACKSON et al., 1983; TANABE & HANN, 1984). O uso estratégico do cloprostenol permite a sincronização e melhor monitoramento do estro, resultando em melhores possibilidades de manejo e planejamento reprodutivo na propriedade (COOPER, 1981).

Além do Cloprostenol, existem no mercado vários produtos de ação luteolítica como Dinoprost Trometamina (TANABE & HANN, 1984), Etiproston (COSTA et al., 2000) e Lupristol (CARDOVA et al.,1990; DUTT et al.,1995; KHARCHE et al.,1996). Este último (Lupristol) foi testado por DUTT et al. (1995), demonstrando que este produto é economicamente viável para a sincronização de estro bovino. Isto pode ser importante nos programas de sincronização quando o custo da droga é um fator limitante, especialmente em regiões onde o cloprostenol é muito oneroso ou de difícil obtenção (HORTA et al.,1986).

COSTA et al. (2000) avaliaram a eficiência da aplicação de uma única dose de luteolítico sobre a taxa de sincronização e o intervalo da aplicação da droga à manifestação do estro em vacas zebu, não encontrando diferenças na taxa de

sincronização nas diferentes doses e nem entre os análogos Etiproston e Cloprostenol.

### **2.3- Doses e vias de aplicação dos agentes luteolíticos.**

O custo elevado dos agentes luteolíticos levou vários pesquisadores a estudar as diferentes rotas de administração e o decréscimo das doses normalmente utilizadas, para que estes agentes não apresentem um custo tão elevado em um programa de IA ou TE.

Sobre as rotas de administração de agentes luteolíticos, CHENAULT et al. (1976) relataram que 10mg de PGF $2\alpha$ , quando aplicada diretamente no útero, foram tão eficientes em induzir a luteólise quanto 30 mg deste mesmo produto, aplicado via intramuscular. COLAZO et al. (2002) sugeriram que, a dose recomendada (500 $\mu$ g) de cloprostenol foi igualmente eficaz quando administrada via subcutânea ou intramuscular e STEVENS et al. (1995) também indicam que a rota de administração não afeta o declínio de progesterona em bovinos tratados por via IM ou intravenosa (IV), onde o cloprostenol administrado IV, não afetou a taxa de luteólise quando comparados com a rota IM. Estes achados demonstram que a eficácia da administração de PGF $2\alpha$  por diferentes vias como a intravenosa, intrauterina ou subcutânea não diferem da injeção IM. Adicionalmente, várias pesquisas também informam (RAO & RAO, 1990; ALVAREZ et al., 1991; FERNANDES, 1994; VIANA et al., 1997; MISHRA & MISHRA, 1998) que a rota intra- vulvosubmucosa (IVSM) não difere na resposta à sincronização da rota intramuscular (IM) sendo estas duas vias de aplicação mais práticas que as demais.

Sobre as diferentes doses de agentes luteolíticos usando as vias intra- vulvosubmucosa (IVSM) ou intramuscular (IM), várias pesquisas têm sido desenvolvidas na tentativa de reduzir os custos da sincronização de estro em bovinos. O uso de baixas doses (50 e 25% da dose convencional) de cloprostenol, administrado por estas duas vias foi investigado por ALVAREZ et al. (1991). Estes autores não encontraram diferenças na resposta luteolítica, na queda de progesterona plasmática ou na resposta ao estro, entre as baixas doses de cloprostenol administradas por qualquer rota e a aplicação convencional de 500  $\mu$ g administrada via IM. Embora não tenha ocorrido diferença entre os grupos, houve tendência em direção a uma resposta mais baixa quando a dosagem foi diminuída. Do mesmo

modo, CALLEJAS et al. (1995) administraram 500 $\mu$ g ou 125 $\mu$ g de cloprostenol via IM e observaram luteólise em 100% dos animais após 48 horas e não observaram diferenças ( $P > 0,05$ ) na porcentagem de animais em estro, embora o resultado tenha sido de 60 e 40% com o uso de 500  $\mu$ g e 125  $\mu$ g, respectivamente.

PORTA et al. (1988) relatam que vacas adultas solteiras recebendo 100% da dose IM apresentaram maior incidência de estro (90,0%;  $p < 0,01$ ) que animais que receberam 25% da dose aplicada IVSM (74,2%). Adicionalmente, Chauhan et al. (1986) citado por CHOHAN (1998) encontraram luteólise parcial em vacas com “subestro” quando 62,5  $\mu$ g de cloprostenol foram aplicadas na vulva. Segundo estes autores esta luteólise parcial estaria associada à quantidade insuficiente de PGF2 $\alpha$  exógena que foi administrada, independentemente da via de administração, e é necessário esclarecer se a injeção de PGF2 $\alpha$  pela via IVSM provoca efeito local sem penetrar na circulação sistêmica, como sugerido por HORTA et al. (1986).

COLAZO et al. (2002) relataram que a resposta à administração de doses reduzidas de cloprostenol depende da sensibilidade do CL, e que doses reduzidas por qualquer rota de injeção não são recomendadas. Entretanto, VIANA et al. (1997) trabalhando com doses reduzidas de cloprostenol (0,375mg) aplicadas na região vulvar entre os dias cinco a 17 do ciclo estral, mencionam que 78,78% dos animais apresentaram estro e BARSUTO-KUBA et al. (1992) injetaram PGF2 $\alpha$  pela via IM ou IVSM constatando que as diferentes doses aplicadas IVSM não apresentaram diferenças.

ALVAREZ et al. (1989) aplicaram cloprostenol em novilhas, 500 $\mu$ g e 125 $\mu$ g IM e 125 $\mu$ g IVSM (uma única dose), observando estro em 100, 42,8 e 71,4% das fêmeas respectivamente, onde a resposta à aplicação de 125 $\mu$ g IVSM não obteve diferenças quando comparado com a aplicação de 500 $\mu$ g IM. Também, RAO & RAO (1990) destacaram que a injeção de 100 $\mu$ g de cloprostenol, na submucosa vulvar de búfalas, foi eficiente para provocar estro entre 88 a 100% dos animais.

HORTA et al. (1986) observaram, em bovinos, que a administração de cloprostenol durante o diestro foi seguida por estro fértil em vacas e novilhas com 125 $\mu$ g (25% da dose) ou 250 $\mu$ g IVSM (50% da dose) e concluíram que baixas doses de prostaglandina administradas na vulva são tão efetivas quanto os tratamentos com doses mais altas IM para a regressão do CL e para a indução do estro, onde a injeção pela via IVSM de cloprostenol não provocou qualquer lesão local ou efeitos

adversos. Adicionalmente, outros pesquisadores (MISHRA & MISHRA, 1998) também informam que a dose reduzida de cloprostenol em quatro vezes a dose normal apresenta resultados comparáveis quando a rota de administração muda de IM para IVSM. ALVAREZ et al. (1989) e DUTT & KHARCHE (2000) mostram que 25% da dose injetada por via IM pode ser injetada via IVSM para luteólise e sincronização de estro em animais ciclando regularmente e ONO et al. (1982) relatam que a administração de PGF $2\alpha$  via IVSM em mini-doses é efetiva para a regressão de um CL prolongado e indução de estro em vacas em anestro comentando que este presente método é mais econômico que a injeção convencional via intramuscular.

FERNANDES et al. (1994) relatam que a aplicação de cloprostenol via IM (0,500 mg) ou IVSM (0,375mg), em novilhas mestiças entre o sexto e 17º dia do ciclo estral ou com CL característico, analisados pela palpação transretal, apresenta eficiência semelhante na taxa de sincronização e NOVAES et al. (1991) aplicaram a mesma droga na dose 50% da recomendada via IVSM, após exame pela palpação transretal, verificando sintomas de estro em 78,1% das novilhas e 48,3% das vacas. Estes autores demonstram que a palpação via transretal para a presença de CL característico em um dos ovários pode ser um método aplicado para a sincronização de estro. Fato este também sugerido por VACA et al. (1983) e RIBADU et al. (1994) onde correlações de 77,9% ( $P < 0,05$ ) entre a palpação do CL e a idade do CL (5-17 dias do ciclo estral) foram encontrados. Adicionalmente, a utilização da dose reduzida via IVSM para sincronização de estro em bovinos, mesmo em animais sem histórico prévio de estro, mas com Corpo Lúteo característico, justifica-se pelos aspectos econômicos (PORTA et al., 1988) e pelo aumento do número de animais utilizados nos programas de inseminação artificial (IA) ou de TE.

Em relação às taxas de gestação de novilhas receptoras de embrião e o uso de prostaglandina sintética em diferentes doses e vias para a sincronização, os resultados apresentam-se variáveis. MISHRA & MISHRA (1998) aplicaram 25% da dose de cloprostenol via IVSM e encontraram 40% de gestação para embriões transferidos a fresco. Entretanto, DUTT et al. (1995) observaram taxas de gestação maiores (77,52%) quando embriões frescos foram transferidos em receptoras sincronizadas via IVSM em doses ainda mais reduzidas.

Nas doses integrais de agentes luteolíticos administrados em receptoras, as taxas de prenhes de embriões transferidos a fresco também são variáveis.

ETHERINGTON et al. (1986) encontraram 77,1% de gestação. Já TWAGIRAMUNGU et al. (1996) e MISHRA et al. (1996) conseguiram taxas de 60% e DEMCZUK et al. (1998) de 47,0%.

As causas das variabilidades entre receptoras na habilidade de iniciar e manter a gestação não são claramente conhecidas (MACMILLAN & DONNISON, 1999) havendo muitos estudos no que diz respeito à taxa de gestação. MACMILLAN (1998) estudou vários resultados na literatura onde atribuiu a média de nascimentos seguidos de transferência de embriões a fresco de 43% com variações de 31 a 60%. Em concordância com estes achados, FERNANDES (1999) observou 58,76% a 31,03% de gestações dependendo da classificação das inovulações (“boa” ou “ruim” respectivamente) de embriões de qualidade um a três.

SPELL et al. (2001) encontraram taxas de prenhes para embriões a fresco de 83% e para embriões congelados de 69% revelando que não houve diferenças nas concentrações de progesterona, diâmetro ou volume luteal entre os animais gestantes e não gestantes, sugerindo que o potencial de uma receptora para a transferência de embriões é determinado pela precisa observação de estro e presença de CL palpável, indiferentemente do tamanho deste. Em adição, encontraram valores de progesterona séricos de 0,6 a 16,9 ng/ml nos animais gestantes.

#### **2.4- Concentrações Séricas de Progesterona.**

Os eventos hormonais em animais tratados com agentes luteolíticos são semelhantes aos animais em luteólise natural. VIANA et al. (1999) avaliaram a regressão luteal e a dinâmica folicular durante o período de regressão luteal natural ou após a indução artificial da luteólise (dias 10-14 do ciclo estral) pela aplicação de 500µg de cloprostenol em vacas da raça Gir. Estes pesquisadores encontraram uma redução significativa na área do CL em 24 e 48 horas após a luteólise induzida ou natural, respectivamente. Entretanto, a queda na concentração de progesterona ocorreu de maneira semelhante entre os dois grupos, resultando em redução significativa após 24 horas. Estes autores concluíram que não houve diferença na dinâmica folicular entre os dois grupos (luteólise natural ou induzida) e que não houve diferença entre os grupos na concentração de progesterona sérica antes das aplicações e às 48 horas após a luteólise.

OHTANI et al. (1998) aplicaram cloprostenol em bovinos na dose e via recomendada pelo fabricante entre os dias sete e nove do ciclo estral. O cloprostenol induziu um rápido decréscimo da liberação de progesterona luteal dentro de quatro horas após a administração da droga ( $p < 0,05$ ), chegando a 20% dos níveis básicos nas primeiras 24 horas e em torno de 0,3 ng/mL entre 40-48 horas após aplicação. Também STEVENS et al. (1995) relatam que animais tratados via intravenosa ou intramuscular (500µg de cloprostenol) nos dias oito ou 10 apresentaram concentrações de progesterona menores que 1ng/ml nas primeiras 24 horas.

Sobre o efeito das diferentes doses na redução das concentrações de progesterona, CHOHAN et al. (1993) e CHOHAN (1998) injetaram cloprostenol em búfalas nas doses de 500µg pela via intramuscular e 150µg pela via submucosa vulvar no dia 11 do ciclo induzido. Estes pesquisadores verificaram um decréscimo abrupto da concentração de progesterona sérica (4,06±1,83 ng/mL para 0,55±0,20 ng/mL, às 24 horas), chegando a 0,25± 0,1 ng/mL nas 48 horas no grupo que recebeu a injeção IM. Entretanto, o grupo que recebeu uma dose menor na vulva, declinou mais gradualmente (4,28±1,86 ng/mL para 2,02±0,64ng/mL) nas primeiras 24 horas, chegando a 0,94±0,55 ng/mL após 48 horas. Os autores mencionam que a taxa de declínio na concentração de progesterona foi diferente entre os dois grupos e isto se deve à resposta de baixas concentrações de cloprostenol no segundo tratamento (submucosa vulvar). Entretanto, o estro foi observado quase que no mesmo tempo ( $p > 0,05$ ).

Porém CALLEJAS et al. (1995) descrevem em bovinos, que não houve diferenças nos valores de progesterona nas 24 e 48 horas após o tratamento (100% dos animais com valores de progesterona menores que 1ng/ml) nos grupos que receberam 500 µg ou 125 µg de cloprostenol. Adicionalmente HOLY (1984) examinaram a efetividade de 250µg de cloprostenol sob via IVSM em vacas com um corpo lúteo clinicamente pronunciado no ovário. A efetividade da ação luteolítica foi examinada pela progesterona detectada no leite. Estes autores observaram que a administração pela submucosa vulvar de cloprostenol rapidamente degradou a função do CL, onde as concentrações de progesterona diminuíram para 0,87 ng/mL dentro de 72 horas. Ainda concluem que a administração de cloprostenol pela submucosa vulvar foi efetiva, e ao mesmo tempo altamente econômica, devido à redução substancial dos custos no controle da reprodução, bem como os custos de produção.

## **2.5- Intervalo de administração de um análogo de PGF2 $\alpha$ ao estro.**

Algumas das variações encontradas nos intervalos da aplicação de agentes luteolíticos ao estro, em trabalhos que utilizaram a PGF2 $\alpha$  para a sincronização e posterior taxa de concepção, deve-se ao fato da inabilidade para determinar a susceptibilidade do CL à luteólise apenas tomando como base a palpação via transretal (STRELOW, 1993). Grande evidência tem sido apresentada para indicar que o estágio do ciclo estral no qual a PGF2 $\alpha$  ou seus análogos são administrados, influenciam no intervalo do tratamento ao estro bem como na variabilidade deste intervalo (ETHERINGTON et al., 1986).

O grau de sincronização obtido nem sempre está dentro da estreita faixa exigida para a transferência de embriões (VIANA et al., 1997) que sugere estar em torno de 24 horas entre doadoras e receptoras (SPELL et al., 2001, VISINTIN, 2001). Portanto, predizer a atividade funcional do folículo dominante e do CL no momento da aplicação do luteolítico faz-se de grande importância antes de iniciar um regime de superovulação ou um programa de sincronização (ALI et al., 2001).

Segundo ADAMS (1994) a variação nos intervalos tratamento-manifestação do estro tem sido grande, contribuindo negativamente nos resultados. O longo intervalo do diestro no qual os animais são selecionados para a sincronização, torna imprevisível o tamanho do folículo dominante no momento da luteólise. Esta é uma característica fundamental para a melhoria da sincronização, pois o intervalo da luteólise à manifestação de estro parece estar relacionado com o tempo necessário para que o folículo dominante complete seu desenvolvimento até o tamanho pré ovulatório (QUIRK et al., 1986).

O crescimento folicular ocorre em ondas sucessivas, durante as quais há o estabelecimento e posterior atresia de um folículo dominante (GINTHER et al., 1996) em uma onda não ovulatória. Segundo GINTHER et al. (1989) os bovinos apresentam basicamente, duas ou três ondas de crescimento folicular onde os dias da emergência folicular seriam  $-0,2 \pm 0,1$  e  $9,6 \pm 0,2$  para duas ondas e  $-0,5 \pm 0,3$ ;  $9,0 \pm 0,0$  e  $16,0 \pm 1,1$  para três ondas (ovulação= dia zero).

Durante uma onda não ovulatória, o desenvolvimento de cada folículo tem sido subdividido em três fases: crescimento (aumento de diâmetro), estático (não muda de diâmetro) e regressão (diminuição de diâmetro) (SINGH et al., 1998). KASTELIC et al. (1990) relatam que folículos dominantes da primeira onda (em novilhas) se

encontram nos dias cinco em fase de crescimento e no dia oito em fase estática colaborando, assim, para um menor intervalo de resposta quando a PGF2 $\alpha$  exógena é administrada nesta fase, pois quando a luteólise ocorre na presença de um folículo em fase de crescimento ou estática inferior a três dias (ALI et al., 2001), este será o folículo ovulatório e o inativo, regridirá.

O intervalo da luteólise ao estro depende do estágio de desenvolvimento do folículo no momento da aplicação do luteolítico (VIANA et al., 1997). A dinâmica de crescimento e regressão folicular durante os três dias anteriores ao estro são similares em novilhas submetidas a luteólise espontânea ou induzidas por PGF2 $\alpha$  e embora o folículo destinado a ovular não possa ser definido apenas pelo seu tamanho, ele será um dos dois maiores folículos presentes nos ovários durante os três dias que antecedem o estro (QUIRK et al., 1986). Adicionalmente, quando o cloprostenol é administrado em estádios ao acaso do ciclo estral, o intervalo do tratamento à ovulação é mais comumente afetado pelo diâmetro do folículo ovulatório no momento do tratamento que pela rota ou dose de cloprostenol (KASTELIC et al., 1990; VIANA et al., 1999). KASTELIC & GINTHER (1991) apresentaram em seus estudos que quando os animais são tratados com PGF2 $\alpha$  no momento em que a segunda onda emerge, o intervalo do tratamento a ovulação irá ser afetado pela característica funcional do folículo ovulatório. Portanto, este efeito pode ser considerado uma fonte adicional da variação no intervalo do tratamento com PGF2 $\alpha$  à ovulação.

VIANA et al. (1997) não encontraram diferenças na resposta à sincronização entre as novilhas tratadas dos dias cinco ao nove, quando comparadas com as tratadas após o dia 10 do ciclo. Observaram, porém, a tendência de melhores respostas da metade para o final do diestro. Relatam ainda que o intervalo da aplicação do luteolítico ao estro não foi influenciado pelo tamanho do CL, mas sim pelo tamanho do folículo presente nos ovários no momento do tratamento. A resposta à sincronização foi maior em novilhas tratadas na presença de um folículo de diâmetro  $\geq$  a 10 mm. Adicionalmente, WATTS & FUQUAY (1985) observaram que a concentração de progesterona no momento da aplicação do luteolítico correlacionou-se com a resposta a sincronização, indicando que existe uma relação entre a maturidade funcional do CL e a capacidade de resposta deste à PGF2 $\alpha$ , além da relação com o “status” do folículo presente (VIANA et al., 1999) no momento da aplicação.

Portanto, a capacidade do CL responder à PGF2 $\alpha$  está ligada mais à resposta a sincronização que ao intervalo tratamento-estro, sendo este parâmetro dependente do status do folículo ovulatório e, a fase de diestro em que se aplica o luteolítico pode ser uma importante fonte de variação na resposta à sincronização (VIANA et al., 1999).

MACMILLAN & HENDERSON (1983) analisaram a variação no intervalo da injeção de PGF2 $\alpha$  ao estro como um método de estudo e padrões do desenvolvimento folicular durante a fase de diestro em bovinos. Constataram que a média de resposta dos intervalos da aplicação ao estro foram maiores entre os animais que receberam a PGF2 $\alpha$  no meio do diestro e menores para as fases iniciais e tardias do diestro e o tratamento que maximiza a proporção de vacas em início de diestro à injeção de PGF2 $\alpha$ , promoveram uma resposta ao estro mais previsível (MOMONT, 1992). Desta maneira, o intervalo ao estro após o tratamento com prostaglandina varia consideravelmente, dependendo do estágio de diestro (WATTS & FUQUAY, 1985; ETHERINGTON et al., 1986) e conseqüentemente com o tamanho e viabilidade do folículo dominante no momento da aplicação de luteolítico (ASSEY et al., 1993 e VIANA et al., 1999).

VIANA et al. (1999) comentam que as taxas de crescimento folicular, associadas ao pequeno tamanho do folículo dominante no momento da luteólise natural ou induzida (10-14 do ciclo estral) resultaram em maior período de crescimento folicular e conseqüentemente, no maior intervalo médio luteólise-estro de 127,38 $\pm$ 11,33 horas para luteólise natural e 94,0 $\pm$ 8,59 horas para luteólise induzida. Novilhas tratadas com PGF2 $\alpha$  no início do diestro (dias sete ou oito) apresentam estro mais adiantado e com menos variabilidade que aquelas tratadas no meio do ciclo (dia 10 ou 11; MACMILLAN & HENDERSON, 1983).

JASKOWSKI & ZBYLUT (1999) administraram 0,5mg de cloprostenol via intramuscular em vacas, em uma única ou duas aplicações, e mencionam que 76% dos animais apresentaram sinais de estro 24 a 120 horas após a injeção e 64,4% dos animais que receberam uma única dose de cloprostenol, apresentaram estro entre 48 a 96 horas da aplicação. Corroborando, STEVENS et al. (1995) administraram cloprostenol via intravenosa (IV) ou intramuscular (IM) em vacas holandesas nos dias oito ou 10 do ciclo estral, encontrando intervalos em torno de 52 a 96 horas. Porém, ALVAREZ et al. (1989) administraram a mesma droga com diferentes doses

e vias de aplicação (entre os dias 7-14 do ciclo estral) e encontraram intervalos menores (52 a 72,6 horas).

VIANA et al. (1997) relatam que quando a dose de 0,375mg de Cloprostenol Sódico foi aplicada via subcutânea na região vulvar (IVSM) entre os dias 5-17 do ciclo estral, dos animais que responderam a sincronização, 65,38% manifestaram estro 48 a 72 horas após a aplicação do luteolítico. Não houve correlação entre a área da secção transversal do CL com o intervalo da aplicação do luteolítico à manifestação de estro. A dose utilizada de cloprostenol foi suficiente na indução da luteólise para CLs de diferentes tamanhos. No entanto, CHOHAN et al. (1993) estudaram em búfalas a aplicação de 500µg via IM ou 125 µg via IVSM após o exame transretal com a presença de CL em um dos ovários, onde a média de intervalo da aplicação ao estro nas búfalas tratadas com 500µg foi de  $94,9 \pm 10,73$  e nos animais tratados IVSM, a média de intervalo foi de  $96,0 \pm 15,87$  horas ( $p > 0,05$ ).

TANABE & HANN (1984) aplicaram prostaglandina (Dinoprost Trometamina na dose convencional de 25 mg via IM) em novilhas que se encontravam em três diferentes fases do ciclo estral, dia sete, 11 ou 15 (dia zero = dia do estro). Estes pesquisadores encontraram 91,3% das novilhas apresentando estro em períodos que variaram de 24-104 horas pós-tratamento. A taxa de sincronização foi semelhante, mas novilhas tratadas no dia sete apresentaram estro mais precocemente ( $43,9 \pm 8,2$  horas), em período intermediário no dia 15 ( $53,0 \pm 12,2$  horas) e mais tardio no dia 11 ( $71,5 \pm 14,3$  horas).

KASTELIC et al. (1990) constataram que a ovulação ocorreu do folículo dominante da primeira onda em todas as novilhas tratadas nos dias cinco (fase de crescimento) ou oito (fase estática). As novilhas tratadas no dia 12 (fase regressão) ovularam da segunda onda. Estes pesquisadores verificaram que a média de intervalo do tratamento a ovulação foi mais curta em novilhas tratadas no dia oito do que no dia 12 (3,7 X 4,5 dias respectivamente).

Corroborando, STEVENSON et al. (1998) indicam que animais tratados com PGF $2\alpha$  ou seus análogos no início do ciclo (dias 6 a 9), indubitavelmente ovularam o folículo dominante da primeira onda e ETHERINGTON et al. (1986) encontraram que o intervalo da aplicação de cloprostenol a observação de estro foi mais curto nos grupos tratados entre os dias seis a oito e 13-17 do ciclo.

## **2.6- Angioarquitetura do órgão genital de fêmeas bovinas e transporte de PGF2 $\alpha$ para o CL.**

Em várias espécies, incluindo a bovina, a PGF2 $\alpha$  causa regressão do CL por meio de uma rota local ou direta entre o corno uterino e o ovário adjacente. Esta rota para a luteólise envolve um íntimo contato entre as veias que drenam o corno uterino e a artéria ovariana ipsilateral a este corno, em um mecanismo denominado de contra-corrente (DEL CAMPO & GINTHER, 1973a, DEL CAMPO & GINTHER, 1973b; GINTHER & DEL CAMPO, 1973; WYROST et al., 1990; BAIRD, 1992).

Sobre o plexo arterial dos órgãos genitais bovinos, DYCE et al. (1990) citam que a artéria ovárica supre o ovário, a tuba uterina e adjacências do corno uterino. Sua ramificação no útero se anastomosa com os ramos craniais da artéria uterina que se origina da íliaca interna. Ao alcançar o útero, divide-se em ramos cranial e caudal, os quais se ramificam para seis a doze vasos. Seus ramos caudais se anastomosam no ligamento largo, com divisões da artéria vaginal que destaca muitos ramos para os tecidos vaginal e vestibular.

GINTHER & DEL CAMPO (1974) estudaram tratos reprodutivos de vacas e novilhas que foram coletados de matadouros e também citam que a artéria ovariana (ovárica) apresentou ramos para o corno uterino, ovário e tuba uterina e é intimamente relacionada à superfície da veia uteroovariana. Sobre o suprimento arterial uterino, o corno uterino é suprido primeiramente pela artéria uterina e apresenta contribuições do ramo uterino das artérias vaginal e ovariana. Muitas anastomoses são formadas nos ramos ventrais entre o útero e cervix entre artéria uterina e ramo uterino da artéria vaginal. SOUZA et al. (1998) também observaram em búfalas que a artéria vaginal divide-se em dois ramos, com o mais cranial participando ativamente da irrigação do útero, inclusive anastomosando-se com os ramos mais caudais da artéria uterina, e o mais caudal nutre a parede da vagina.

GINTHER (1976) comenta que a angioarquitetura do útero e ovário de bovinos é similar à encontrada em ovinos, porém a parede da artéria ovariana em bovinos parece ser mais fina na área de contato com a veia útero-ovariana, do que nos ovinos. Adicionalmente, o ramo uterino da artéria ovariana, bem como a anastomose arterial uteroovariana, são mais proeminentes no ovário que apresenta CL do que no ovário sem CL ativo. Isto pode ser atribuído à hipertrofia ou desenvolvimento de uma anastomose uteroovariana ipsilateral na associação com o desenvolvimento do CL

sem uma hipertrofia correspondente de uma anastomose contralateral (GINTHER & DEL CAMPO, 1974).

Sobre o sistema venoso, DEL CAMPO & GINTHER (1973 b); GINTHER & DEL CAMPO (1974); DYCE et al. (1990) citam que a drenagem principal do corno uterino é através da veia comum uteroovariana (veia ovariana), que também drena o ovário e a tuba uterina. A drenagem venosa do ovário consiste de várias veias que são entrelaçadas com e correspondente ao sistema progressivo das ramificações do ramo ovariano da artéria ovariana e ainda as veias da tuba uterina são intimas das artérias da tuba uterina. Ressaltam ainda que o plexo venoso apresenta fortes valvas que são importantes para que o sangue se mova no sentido contrário ao da gravidade.

GINTHER & DEL CAMPO, (1973) e DEL CAMPO & GINTHER (1973 a; b) relatam que em ovinos há uma grande veia (vaginal) que é originada da cervix e da bexiga urinária. Ela recebe ramos da cervix e da bexiga e forma proeminentes anastomoses com o complexo sistema venoso na superfície ventral do útero. A veia vaginal passa através do ligamento largo em íntima associação com o ureter e artéria vaginal. A veia uterina é muito pequena e ainda relatam que há uma proeminente rede de anastomoses entre o sistema venoso dos antímeros direito e esquerdo.

Apesar de vários autores terem utilizado doses menores de  $PGF_{2\alpha}$  pela via vulvar (ALVAREZ et al.,1989; RAO & RAO, 1990; NOVAES et al., 1991; BARSUTO-KUBA et al., 1992; FERNANDES et al.,1994; CHOHAN,1998; COSTA et al.,2000), não há descrição do mecanismo pelo qual este hormônio chega ao CL, existindo apenas especulações sobre a existência de alguma conexão vascular entre a drenagem sangüínea da vagina e vulva com o útero, o que possibilitaria uma maior concentração de  $PGF_{2\alpha}$  alcançando o CL (HORTA et al.,1986; FERNANDES et al.,1994) sem passar pela circulação sistêmica o que provocaria sua metabolização pelos pulmões (FERREIRA & VANE, 1967). No entanto, há necessidade de estudos uma vez que baixas doses de  $PGF_{2\alpha}$  também têm apresentado resultados satisfatórios quando aplicadas por via IM (COSTA et al.,2000).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.P. Control of Ovarian Follicular Wave Dynamics In Cattle: Implications For Synchronization And Superstimulation. *Theriogenology*, v.41, p.19-24, 1994.

ALI, A., LANGE, A., GILLES, M., GLATZEL, P.S. Morphological and functional characteristics of the dominant follicle and corpus luteum in cattle and their influence on ovarian function. *Theriogenology*, v. 56, p. 569-576, 2001.

ALVAREZ, R.H., MEIRELLES, C.F., AMBROSANO, G.M.B., OLIVEIRA, J.V., POZZI, J.R. The use of lower doses of prostaglandin analogue, cloprostenol, for oestrus synchronization in heifers. *Animal Reproduction Science*, v.25, p. 93-96, 1991.

ALVAREZ, R.H., MEIRELLES, C.F., OLIVEIRA, J.V., POZZI, J.R., JUNIOR, F.G.C. Indução de cio e luteólise em novilhas tratadas com uma mini-dose de cloprostenol administrada pela via intramuscular ou intravulvosubmucosa. *Boletim Indústria Animal*, v.46, n. 1, p. 37-44, 1989.

ASSEY, R.J., PURWANTARA, B., GREVE, T., HYTTEL, P., SCHMIDT, M.H. Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis. *Theriogenology*, v.39, p. 1321-1330, 1993.

BAIRD, D.T. Luteotropic control of the corpus luteum. *Animal Reproduction Science*, v.28, p. 95-102, 1992.

BARSUTO-KUBA, V.M., DE LA TORRE, S.F., VALENCIA, S.F., GONZALEZ, P.E. Effect of diferent routes and doses of PGF2-alpha in the fertility of F-1 zebu cattle. Proc. Int. Cong. Anim. Reprod. *Animal Reproduction Science*. v.28, n.3, p.305, 1992.

BURFENING, P.J., ANDERSON, D.C., KINKIE, R.A., WILLIAMS, J., FRIEDRICH, R.L. Synchronization of estrus with PGF2 $\alpha$  in beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.47, n. 5, p. 999-1003, 1978.

CALLEJAS, S.; CABODEVILA J.; ALBERIO R.; DORAY J.; CATALANO R.; TERUEL M.; PEREZ-ZANGARI G. Estudio del efecto luteolítico de una dosis reducida de cloprostenol, benzoato de estradiol y la combinación de ambos. *Revista Argentina de Producción Animal*, v. 15, n.3-4, p, 1024-1025, 1995.

CARDOVA S.A., JIMENEZ F.K., VILLA-GODOY A. Intravulvosubmucosal Injections Of Lupristol May Reach Corpora Lutea By A Local Unilateral Pathway In Cattle. *Theriogenology*, v. 33, p. 207, 1990.

CARLSON J.A, BUHR, M., WENTWORTH, R., HANSEL, W. Evidence of membrane changes during regression in the bovine corpus luteum. *Endocrinology*, v.110, p.1472-1476, 1982

CHENAULT, J.R.; THATCHER, W.W.; KALRA, P.S.; ABRAMS, R.M.; WILCOX, C.J. Plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone following prostaglandin F2 alpha injection. *Journal Dairy Science*, v.59, n.7, p.1342-1346, 1976.

CHOHAN, K. R. Estrus synchronization with lower dose of PGF2 $\alpha$  and subsequent fertility in subestrous buffalo. *Theriogenology*, v.50, p.1101-1108, 1998.

CHOHAN, K.R., IQBAL, J., ALI, M., MAHMOOD, T. Luteolytic response of prostaglandinf2alpha at reduce dose via intra-vulvo-submucosal route in nili-ravi buffaloes. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 13, n. 1, p. 40-41, 1993.

Ciosin<sup>®</sup> Coopers: disponível em:

<http://www.coopers.com.br/ciosin/hotsite/index.html> (acesso em 13/02/2003).

COLAZO, M.G., MARTINEZ, M.F., KASTELIC, J. P., MAPLETOFT, R.J. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. *Animal Reproduction Science*, v.2295, p. 1-16, 2002.

COOPER, M.J. Cloprostenol as a tool in the management of dairy cattle. *Acta Vet. Scand., Suppl. 77*, p. 171-179, 1981.

COSTA, D.S.; HENRY, M.; WHITHE, C.R. Sincronização de cio em vacas zebu com etiproston. *Hora Veterinária*, n.117, p.23-25, 2000.

DEL CAMPO, C.H., GINTHER, O.J. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: horses, sheep, swine. *American Journal Veterinary Research*, v.34, n. 3, p. 305-316, 1973a.

DEL CAMPO, C.H., GINTHER, O.J. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and unilateral luteolytic effect of the uterus: angioarchitecture in sheep. *American Journal Veterinary Research*, v.34, n.11, p. 1377-1386, 1973b.

DEMCZUK, E., KOZICKI, L. E., PONTELLI, E. S., SALLES, J. O. Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.35, n.04, p. 174-177, 1998.

DUTT, T., KHARCHE, S.D. Intravulvo-submucosal administration of dinoprost trometamine for estrus synchronization/induction in crossbred cows. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 70, n. 1, p. 46-47, 2000.

DUTT T., KHARCHE S.D., ANSARI, M.R., TANEJA, V.K. Superovulation with follitropin, estrus synchronization/induction using intravulvo-submucosal administration of lupristol and embryo transfer in crossbred cows. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 65, p. 990-992, 1995.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Tratado de Anatomia Veterinária, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 567p., 1990.

ETHERINGTON, W.G., KILMER, B.A., BURKE, J.E., MONTGOMERY, M.E., WILSON, D.C. Pregnancy rates related to stage of estrous cycle at prostaglandin treatment in an embryo transfer recipient herd. *Theriogenology*, v.25, n.6, p. 845-853, 1986.

FERNANDES, C. A. C. Efeito do Tratamento com FSH Sobre a Taxa de Gestação de Novilhas Mestiças Usadas como Receptoras de Embrião. Universidade Federal de Viçosa. 1994, 64p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária).

FERNANDES, C.A.C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n.3, 1999 p. 263-266.

FERNANDES C. A .C., TORRES, C. A .A ., COSTA, E.P. Comparação entre doses e vias de aplicação de cloprostenol para sincronização de estro em bovinos. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v.18, n. 3-4, p. 105-109, 1994.

FERREIRA S.A., VANE, J.R. Prostaglandins: their disappearance from and release into the circulation. *Nature*, v. 216, p. 868-873, 1967.

FIELDS, M. J. AND FIELDS, P. A. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous and pregnancy *Theriogenology*, v. 45, p. 1295-1325, 1996.

GINTHER, O. J. Comparative anatomy of uteroovarian vasculature. *Veterinary Scope*, [16,17] XX (1), p. 1-17, 1976.

GINTHER, O.J., DEL CAMPO, C.H. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: areas of close apposition between the ovarian artery and vessels which contain uterine venous blood in sheep. *American Journal Veterinary Research*, v.34, n.11, p. 1387-1393, 1973.

GINTHER, O.J., DEL CAMPO, C.H. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: cattle. *American Journal Veterinary Research*, v.35, n.2, p.193-203, 1974.

GINTHER, O.J., KNOPF, L., KASTELIC, J.P. J. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *Journal Reproduction Fertility*, v. 87, p. 223-230, 1989.

GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C., FRICKE, P.M. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology Reproduction*, v.55, p.1187-1194, 1996.

HEERSCHER JR, G., NEBEL, R.L. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *Journal Dairy Science*, v. 77, p. 2754-2761, 1994.

HEUWIESER, W., OLTENACU, P. A ., LEDNOR, A .J., FOOTE R.H. Evaluation of different protocols for prostaglandin synchronization to improve reproductive performance in dairy herds with low estrus detection efficiency. *Journal Dairy Science*, v.80, p. 2766-2774, 1997.

HOLY, L. Submucous vestibulo-vaginal implantation of cloprostenol (oestrophan spofa) to cows, as related to oestral activity, conception and progesterone levels in milk. *Veterinarni Medicina*, v. 29, n. 9, p. 513-519, 1984.

HORTA, A . E. M., COSTA, C.M.S.G., ROBALO SILVA, J., RIOS VASQUES, M.I. Possibility of reducing the luteolytic dose of cloprostenol in cyclic dairy cows. *Theriogenology*, v.25, n.2, p. 291-301, 1986.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. *Nomina anatomica veterinaria*. 4.ed. Zurich, 1994. (Together with *nomina histológica*, 2.ed., 1992 and *nomina embriologica veterinaria* 1992).

JACKSON, P.S., ESSLEMONT, R.L., BAILIE, J.H. Subsequent fertility following cloprostenol induced luteolysis in the bovine. *Veterinary Record*, v. 112, p. 153-154, 1983.

JASKOWSKI, J.M.; ZBYLUT, J. Selection and qualification of cows recipient for embryo transfer. *Medycyna Weterynaryjna*, v.55, n.11, p.766-768, 1999.

KASTELIC, J.P., GINTHER, O. J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Animal Reproduction Science*, v. 26, p. 13-24, 1991.

KASTELIC, J.P., KNOPF, L., GINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandinF2 $\alpha$  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Animal Reproduction Science*, v.23, p. 169-180, 1990.

KHARCHE S.D., DUTT TRIVENI, ANSARI M.R., MOHANTY, T.K., MAJUMDAR, A., TANEJA, V.K. Estrus synchronization and superovulation response with pmsg in crossbred cows. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 66, p. 49-51, 1996.

KOTWICA, J., BOGACKI, M., REKAWIECKI, R. Neural regulation of the bovine corpus luteum. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 5341, p. 1-10, 2002.

LEVY, N., KOBAYASHI, S., ROTH, Z., WOLFENSON, D., MIYAMOTO, A., MEIDAN, R. Administration of prostaglandinF2 $\alpha$  during the early bovine luteal phase does not alter the expression of ET-1 and its type A receptor: a possible cause for corpus luteum refractoriness. *Biology of Reproduction*, v, 63, p. 377-382, 2000.

MACMILLAN, W.H. Statistical models predicting embryo survival to term in cattle after embryo transfer. *Theriogenology*, v.50, p. 1053-1070, 1998.

MACMILLAN, W.H., DONNILSON, M.J. Understanding maternal contributions to fertility in recipient cattle: development of herds with contrasting pregnancy rates. *Animal Reproduction Science*, v. 57, p. 127-140, 1999.

MACMILLAN, K.L., HENDERSON, H.V. Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2 $\alpha$  to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v. 6, p. 245-254, 1983.

MILVAE, R. A., HINCKLEY, S. T., CARLON, J. C. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. *Theriogenology*, v. 45, p. 1327-1349, 1996.

MISHRA, U.K., MISHRA, O. P. Induction of estrus and multiple ovulation by administration of cloprostenol and super-ov through intra-vulvo submucosal (IVSM) route and embryo transfer in Sahiwal cows. *Indian Journal of Animal Sciences*, v.68, n. 5, p.450-453, 1998.

MISHIRA U.K., MISHIRA, O.P., KHAN, J.R. Estrus sinchronization, superovulation and nonsirurgical embryo transfer in sahiwal cows (*Bos Indicus*). *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 66, n. 2, p. 1271-1273, 1996.

MIYAMOTO, A. Intraluteal mechanisms involved in prostaglandinF2 $\alpha$ -induced luteolysis in Ewes. *Journal of Reproduction and Development*, v.42, suppl, p.61-63, 1996.

MOMONT, H.W. Influence of day of estrous cycle on response to PGF2 $\alpha$  products: implications for AI programs for dairy cattle. Proc. Int. Cong. Anim. Reprod. *Animal Reproduction Science*. v.28, n.3, p.327, 1992.

NISWENDER, K.D., BRADEN T.D., NISWENDER, G.D. Nuclear changes in ovine luteal cells in response to PGF2 $\alpha$ . Sawyer, H.R., *Domestic Animal Endocrinology*, v.7, n. 2, p. 229-238, 1990.

NOVAES, A.S.; VALE FILHO, V.R.; CARVALHO, J.C.C. Sincronização de cio em novilhas e vacas holandesas-PB pelo uso de Cloprostenol em dose reduzida via submucosa vulvar. In: IX CONGRESSO BRAS. REPROD. ANIMAL, 1991, *Anais...* Belo Horizonte–M.G., p.347.Resumo, 1991.

OHTANI, M.; KOBAYASHI, S.; MIYAMOTO, A.; HAYASHI, K., FUKUI, Y. Real-time relationships between intraluteal and plasma concentrations of endothelin, oxytocin, and progesterone during prostaglandinF2 $\alpha$ - induced luteolysis in the cow. *Biology of Reproduction*, v.58, p. 103-108, 1998.

ONO, H., FUKUI, Y., TERAWAKI, Y., OHBOSHI, K., YAMAZAKI, D. An intravulvosubmucous injection of prostaglandin  $F2\alpha$  in anoestrous cows. *Animal Reproduction Science*, v. 5, p. 1-5, 1982.

PATE, J. L. J. Cellular components involved in luteolysis. *Journal Animal Science*, v.72, p. 1884-1890, 1994.

PATE, J.L. Intercellular communication in the bovine corpus luteum. *Theriogenology*, v. 45, p. 1381-1397, 1996.

PORTA, M.A . D.; RESTLE, J.; GARCIA, G. G. Sincronização de cio em vacas de distintos grupos genéticos, utilizando prostaglandina em diferentes doses e vias de aplicação. *Rev. Centro de Ciências Rurais*, Santa Maria, v. 18, n.(3-4), p. 329-334, 1988.

QUIRK, S.M., HICKEY, G.J., FORTUNE, J.E. Growth and regression of ovarian follicles during follicular phase of the estrous cycle in heifers undergoing spontaneous and  $PGF2\alpha$ -induced luteolysis. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 77, p. 211-219, 1986.

RAO, C.V., ESTERGREEN, F.R., CARMAN, JR., MOSS, G.E. Receptors for Gonadotrophin and Prostaglandin  $F2\alpha$  In Bovine Corpora Lutea Of Early, Mid And Late Luteal Phase. *Acta Endocrinologica*, v.91, p.529, 1979.

RAO, K.H. & RAO, A.V.N. Luteolytic effect of a small dose of cloprostenol administered via intravulval route in riverine buffaloes. In: PROCEEDINGS OF II WORLD BUFFALO CONGRESS HELD IN INDIA during 12-16 December 1988 (volume III). *Physiology and Reproduction*, p. 159-161, 1990.

RIBADU, A.Y., WARD, W.R., DOBSON, H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Veterinary Record*, v. 135, p. 452-457, 1994.

SAKAMOTO, K., EZASHI, T., OKUDA-ASHITAKA, E., OKUDA, K., HOUTANI, T., SUGIMOTO, T., ITO, S., HAYAISHI, O. Molecular cloning and expression of a DNAc of the bovine Prostaglandin F2 $\alpha$  receptor. *Journal of Biological Chemistry*, v.269, p. 3881-3886, 1994.

SAKAMOTO, K., MIWA, K., EZASHI, T., OKUDA-ASHITAKA, E., OKUDA, K., HOUTANI, T., SUGIMOTO, T., ITO, S., HAYAISHI, O. Expression of mRNA encoding the prostaglandinF2 $\alpha$  receptor in bovine corpora lutea throughout the oestrous cycle and pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 103, p. 99-105, 1995.

SINGH, J., PIERSON, R.A., ADAMS, G.P. Ultrasound image attributes of bovine ovarian follicles and endocrine and functional correlates. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 112, p, 19-29, 1998.

SOUZA, A.L., MARIANA, A.N.B. Estudo da origem e distribuição das artérias do útero em fetos de búfala sem raça definida (*Bubalus Bubalis*, Linnaeus, 1758). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.35, n.5, p.201-204, 1998.

SPELL, A.R., BEAL, W.E., CORAH, L.R., LAMB, G.C. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, v.56, p. 287-297, 2001.

SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., BERNARDI, M.M. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. 1997.545p.

STEVENS, R.D., SEGUIN, B.E., MOMONT, H.W. J. Evaluation of the effects of route of administration of cloprostenol on synchronization of estrus in diestrous dairy cattle. *American Veterinary Medical Association*, v.207, n.02, p.214-216, 1995.

STEVENSON, J.S., LAMB, G.C., KOBAYASHI, Y., HOFFMAN, D.P. Luteolysis during two stages of the estrous cycle: subsequent endocrine profiles associated with

radiotelemetrically detected estrus in heifers. *Journal Dairy Science*, v. 81, p. 2897-2903, 1998.

STRELOW, L. W. A retrospective analysis of the effect of prostaglandinF2 $\alpha$  on conception rates in commercial dairy herds. *Theriogenology*,v.40, p. 199-203, 1993.

TANABE, T.Y., HANN, R.C. Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandinF2 $\alpha$ . I. influence of stage of cycle at treatment. *Journal of Animal Science*, v. 58, p. 805-811, 1984.

THATCHER, W.W., CHENAULT, J.R. Reproductive physiological responses of cattle to exogenous prostaglandin F2 $\alpha$ . *Journal of Dairy Science*, v.59, n.7. p. 1366-1375, 1976.

TSAI, S., WILTBANK, M.C. Prostaglandin F2 $\alpha$  induces expression of prostaglandin G/H Synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. *Biology of Reproduction*, v.57, p.1016-1022, 1997.

TSAI, S., WILTBANK, M.C. Prostaglandin F2 $\alpha$  regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biology of Reproduction*, v. 58, p. 346-352, 1998.

TWAGIRAMUNGU, H., BOUSQUET, D., DUROCHER, J., GUILBAULT, L.A. Effects of estrus synchronization with prostaglandin and GnRH on fertility in dairy recipient heifers. *Theriogenology*, v.45, n.1, p. 229, 1996.

VACA, L.A., GALINA, C., FERNANDEZ-BACA, S., ESCOBAR, J., RAMIREZ, B. Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrous cycle in zebu cows. *Theriogenology*, v.20, n.01, p.67-76, 1983.

VIANA, J.H.M., FERREIRA, A.M., SÁ, W.F., CAMARGO, L.S.A. Regressão luteal e dinâmica folicular após luteólise natural ou induzida por cloprostenol em

vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n.3, p. 257-262, 1999.

VIANA, J.H.M., TORRES, C. A . A., FERNANDES, C.A .C., FERREIRA, A . M. Relação do diâmetro folicular com resposta à sincronização de estro em novilhas. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v.21, n.4, p.15-21, 1997.

VISINTIM, J.A. In: IV CURSO DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM BOVINOS, Departamento de Reprodução Animal da FMVZ-USP, Pirassununga - S.P., 7-11/04/2001, 46p.

WAKELING, A.E., GREEN, L.R. Corpus luteum prostaglandin receptors and luteolysis. *Acta Vet. Scand. suppl.77*, 131-142, 1981.

WATTS, T.L., FUQUAY, J.W. Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin  $f2\alpha$  during early, middle or late diestrus. *Theriogenology*, v. 23, p.655-661, 1985.

WEBB, R., WOAD, D.G., ARMSTRONG, D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 5339, p. 1-9, 2002.

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

WILTBANK, M.C., SHIAO, D.R., GINTHER, O . J. Prostaglandin  $F2\alpha$  Receptors in the early bovine corpus luteum. *Biology of Reproduction*, v. 52, p. 74-78, 1995.

WYROST, P., MOLEND, O., RADEK, J., RADEK, T. Morphology and development of the uterine veins during the fetal and neonatal periods in cattle. *Anatomia Histologia Embryologia*, v. 19, n.1, p. 1-15, 1990.

## CAPÍTULO I

### SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E TAXAS DE GESTAÇÃO DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO BOVINO USANDO DIFERENTES DOSES E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DE CLOPROSTENOL SÓDICO.

#### RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar doses de um agente luteolítico (Cloprostenol Sódico), reduzidas em 50% da dose convencional, nas vias de administração intramuscular (IM) e submucosa- vulvar (IVSM), para sincronização de estro e também avaliar a fertilidade em animais receptores de embrião. Foram utilizadas 199 receptoras mestiças Holandês-Zebu com escore corporal  $\geq 3,0$  numa escala de 1 a 5 e peso vivo entre 320-450 kg. Um total de 103 animais apresentavam histórico de estro anterior aos tratamentos (entre os dias 7-16 do ciclo estral; dia zero= estro) e 96 não apresentavam histórico, apenas selecionados por palpação transretal pela presença de corpo lúteo característico em um dos ovários. Os animais foram divididos ao acaso em três grupos experimentais. Tratamento 1: 68 animais (38 com histórico de estro anterior) receberam 265 $\mu$ g (1 mL) de Cloprostenol via IVSM. Tratamento 2: 66 animais (33 com histórico prévio de estro) receberam 265 $\mu$ g (1 mL) via IM e Tratamento 3: 65 animais (33 com histórico) receberam 530 $\mu$ g (2 mL) via IM. A observação visual de estro foi realizada duas vezes ao dia com o auxílio de rufiões. Considerou-se o reflexo de imobilidade como indicativo do estro e somente foram considerados os animais que manifestaram estro até 96 horas após a aplicação. Dos animais que responderam ao tratamento, 58 foram inovulados com embriões coletados a fresco. As taxas de sincronização (72,1%, 53,0% e 64,6% respectivamente) não apresentaram diferenças ( $P>0,05$ ) entre os três tratamentos; quando apenas os animais com histórico foram avaliados (76,3%, 60,6% e 68,8%, respectivamente) e quando os animais sem histórico foram avaliados (66,7%, 45,5% e 60,6%, respectivamente). Em relação às taxas de gestação, não houve diferenças ( $P>0,05$ ) entre os três tratamentos (45,5%, 50,0% e 55,0% respectivamente). Este estudo demonstrou que receptoras bovinas com e/ou sem histórico de estro anterior, sincronizadas com Cloprostenol Sódico em doses reduzidas (50% da convencional), tanto pelas vias IVSM ou IM apresentam taxas de sincronização e gestação

semelhantes, indicando que a redução da dose em 50% é viável nas duas vias de administração.

Palavras - chave: sincronização, estro, cloprostenol, gestação, fêmeas bovinas.

### ABSTRACT

This present work had as objective to evaluate doses of a luteolytic agent (Sodic Cloprostenol) decreased in 50% of the conventional dose, in the intramuscular (IM) and intra-vulvo-submucosal (IVSM) vias of administration, for estro synchronization and evaluate the fertility in bovine embryo recipients. There were used 199 Holstein-Zebu embryo recipients with corporal score  $\geq 3,0$  in a scale from 1 to 5 and live weight among 320-450 kg. A total of 103 animals presented historic of estrus previous to the treatments (between days 7-16 of the estrous cycle; estrous = day 0) and 96 animals didn't present historic of estrous, these were examined by rectal palpation for the presence of ripe CL in one of the ovaries. The animals were randomly assigned to three experimental groups. Treatment 1: 68 animals (38 with report of previous estrus) received 1 mL of Cloprostenol IVSM. Treatment 2: 66 animals (33 with report of previous estrus) received 1 mL of Cloprostenol IM and Treatment 3: 65 animals (32 with report of previous estrus) received 2 mL of Cloprostenol IM. Estrus visual observation was accomplished twice a day with bull teaser. It was considered immobility reflex as an indicative of estous and only the animals that showed estrus up to 96 hours after the application of the Cloprostenol were used. From the animals that answered to treatment, 58 were inoovulated with embryos collected freshly. The synchronization rates (72,1%, 53,0% e 64,6%, respectively) didn't showed differences ( $P>0,05$ ) among the three treatments, when just the animals with report of previous estrus were appraised (76,3%, 60,6% e 68,8%, respectively) and when the animals without report of previous estrus were appraised (66,7%, 45,5% e 60,6%, respectively). Regarding pregnant rates there were not differences ( $P>0,05$ ) among the three treatments (45,5%, 50,0% e 55,0% respectively). The present study demonstrated that embryos recipients with and/or without report of previous estrus, when synchronized with Sodic Cloprostenol in reduced doses (50% of the conventional) as by via IM or by via IVSM, showed similar synchronization rates and pregnant rates, indicating that the reduction in 50% of cloprostenol dose is viable in the two administration roads.

Key words: synchronization; estrous; cloprostenol, pregnancy; female; bovine.

## 1. INTRODUÇÃO

O conhecimento dos eventos reprodutivos de uma espécie é fundamental para o emprego de biotécnicas como a sincronização de estro, inseminação artificial (IA) e transferência de embriões (TE), permitindo otimizar o potencial reprodutivo, bem como acelerar o ganho genético.

A prostaglandina  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ) apresenta atividade luteolítica, o que despertou interesse dos profissionais ligados à reprodução, como recurso potencial para controlar o ciclo estral dos bovinos e de outras espécies de interesse zootécnico. Entre as drogas utilizadas, destacam a  $PGF2\alpha$  natural ou seus análogos sintéticos, dentre eles o Cloprostenol o qual tem sido amplamente utilizado com resultados satisfatórios (CALLEJAS et al., 1995).

A transferência de embriões permite a obtenção de maior número de crias de uma mesma fêmea doadora durante sua vida, possibilitando maior pressão de seleção dentro de uma propriedade. A eficiência da técnica de transferência de embriões está relacionada com a correta sincronia entre a fase do ciclo estral da receptora e o estágio de desenvolvimento do embrião. Portanto, a obtenção de animais no estágio adequado por ocasião da coleta depende dos procedimentos de sincronização de estro (VIANA et al., 1997) o que faz da  $PGF2\alpha$  um instrumento de grande importância.

O custo relativamente elevado dos agentes luteolíticos na dosagem convencional aplicados via intramuscular (IM), constitui um fator limitante do uso intensivo desta substância. Em razão disso, diversas pesquisas têm sido conduzidas visando reduzir a dose luteolítica da  $PGF2\alpha$  e seus análogos sintéticos administrados por vias diferentes à muscular, dentre elas a via sub-mucosa vulvar (IVSM) (ALVAREZ et al., 1989).

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da sincronização e as taxas de gestação de receptoras de embrião bovino quando sincronizadas com um agente luteolítico em doses reduzidas (50% da convencional) em diferentes vias de administração (IM ou IVSM).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi conduzido em quatro propriedades nas regiões próximas de Alfenas-MG com latitude sul 21° 25' 45'', longitude oeste 45° 56' 50'', altitude 882m e Nova Friburgo-RJ com latitude sul 22° 16' 55'', longitude oeste 42° 31' 52'' e altitude 846m no período de abril a agosto de 2002. Apresentam clima, pela classificação Koppen, CWA (temperaturas moderadas com verão quente e chuvoso), com temperaturas médias anuais entre 21-23°C, onde no mês mais frio, a média de temperatura é menor que 20°C e regime de chuvas com média 1600mm/ano. Estas regiões, durante o experimento, apresentaram temperatura média de 15-21°C e foram classificadas pelo índice de conforto térmico (avaliado pelo índice de temperatura e umidade) como “sem estresse” por todo o período experimental (Instituto Nacional de Meteorologia).

Foram utilizadas 199 receptoras mestiças Holandês-Zebu, com escore corporal  $\geq 3,0$  numa escala de 1 a 5 (segundo FERREIRA & TORRES, 1993) e peso vivo entre 320-450 Kg. Um total de 103 animais apresentavam histórico de estro anterior aos tratamentos de sincronização enquanto que 96 não apresentavam histórico.

Os animais foram submetidos à avaliação ginecológica por meio de exames pela via palpação transretal e/ou vaginoscopia no momento anterior ao início dos tratamentos. Foram descartados do experimento todos os animais que apresentavam anormalidades detectáveis nos órgãos genitais. A avaliação e classificação do CL foram realizadas pela palpação transretal e foram usados neste experimento apenas os animais que apresentavam CL característico e consistência uterina flácida. Todos os 199 animais foram avaliados por apenas um examinador.

Durante o período experimental, os animais receberam alimentação que consistia basicamente de capim *Brachiaria* e suplementação mineral.

Todas as fêmeas foram sincronizadas de acordo com os programas de transferência de embriões de cada propriedade, recebendo Cloprostenol Sódico (Ciosin-Coopers<sup>®</sup>), no período da manhã e foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais:

**Tratamento 1:** 68 novilhas receberam 265 µg (1 mL) de Cloprostenol Sódico, realizadas com agulhas 25 X 0,7 mm, na parede interna da vulva (IVSM) ipsilateral ao corpo lúteo detectado pela palpação transretal. Do total de animais, 38

apresentavam histórico de estro anterior ao tratamento (7-16 dias do ciclo estral, dia zero = dia do estro) e 30 não apresentavam histórico de estro, recebendo o tratamento apenas pela avaliação da presença de CL característico e consistência uterina flácida, via palpação transretal.

**Tratamento 2:** 66 novilhas receberam 265 µg (1 mL) de Cloprostenol Sódico, via intramuscular (IM) na região da garupa, com agulhas 25 X 0,7 mm. Do total de animais, 33 apresentavam histórico de estro anterior ao tratamento (7-16 dias do ciclo estral, dia zero = dia do estro) e 33 não apresentavam histórico de estro, avaliados de acordo ao no tratamento 1.

**Tratamento 3:** 65 novilhas receberam 530 µg (2 mL) de Cloprostenol Sódico, via intramuscular (IM) na região da garupa, com agulhas 25 X 0,7 mm. Trinta e dois animais apresentavam histórico de estro anterior ao tratamento (7-15 dias do ciclo estral, dia zero = dia do estro) e 33 não apresentavam histórico de estro, avaliados de acordo ao mencionado no tratamento 1.

Todos os animais do experimento foram mantidos em piquetes, onde foram realizadas as observações visuais de estro por 30 minutos, no mínimo duas vezes ao dia, às sete e às 18 horas com o auxílio de um rufião, o qual permanecia junto com as receptoras antes e após a transferência. Foram anotados os dias e o período do dia (manhã ou tarde) do estro de cada animal. Considerou-se o reflexo de imobilidade, como indicativo do estro e somente foram considerados os animais que manifestaram estro até 96 horas após a aplicação.

Os animais que apresentaram corpo lúteo característico após a sincronização, foram então, no sétimo ou oitavo dia (dia zero = dia do estro) inovulados com embriões não congelados (frescos). Só foram inovulados os animais que se apresentavam de acordo com o grau de sincronização das doadoras (assincronia inferior a  $\pm 36$  horas; preconizado por FERNANDES, 1999).

Os embriões foram coletados pelo método não-cirúrgico, de seis a sete dias após a última inseminação, conforme os procedimentos descritos por FERNANDES (1994). No laboratório da própria fazenda, os embriões foram localizados e submetidos a 10 passagens em gotas de PBS com 10% de soro fetal bovino, sendo posteriormente classificados quanto ao estágio de desenvolvimento e qualidade, segundo LINDNER & WRIGHT (1983). Foram utilizados embriões classificados com qualidade um (excelente) a três (regular) dando preferência para inovulações com os embriões de melhor qualidade.

Para a transferência a fresco, os embriões (n = 58) foram envasados em palhetas finas (0,25 mL) em meio PBS com 10% de soro fetal bovino, permanecendo ao abrigo de luz solar e ventos, e mantidos em temperatura ambiente até o momento da inovulação que foi realizada pelo método não cirúrgico ou transcervical tão logo os embriões foram classificados e envasados, como descrito por FERNANDES (1994).

As receptoras que apresentavam problemas na transposição da cervix e de manipulação do útero foram descartadas, isto é, não foram inovuladas. Após a transferência, os animais retornavam aos piquetes em que permaneciam até receber o diagnóstico de gestação realizado no dia 25 e 60 após transferência utilizando o aparelho de ultra-sonografia Pie-Medical Vet-200 com transdutor linear de 5Mhz.

Para as análises estatísticas, os dados foram digitados em planilhas eletrônicas e posteriormente dispostos para as análises usando o programa SAEG -Sistema para Análises Estatísticas (UFV; RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

Os dados das taxas de sincronização das quatro propriedades bem como as variáveis qualitativas (taxas de sincronização e gestação) em relação aos tratamentos foram avaliados pelo Teste Qui-Quadrado a 5% de probabilidade (SAMPAIO, 2002). A resposta à sincronização conforme VIANA et al. (1997) foi definida como o percentual de animais em estro até quatro dias após o tratamento, dentre o total de animais tratados. O efeito das diferentes fases de diestro dos animais em relação à taxa de gestação de embriões transferidos à fresco foi avaliado pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis segundo RIBEIRO JÚNIOR (2001).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados dos animais que apresentaram estro até 96 horas após a aplicação do luteolítico estão descritos na Tabela 01. Os dados das quatro propriedades foram agrupados já que não apresentaram diferenças entre elas ( $P > 0,05$ ) na resposta ao estro (taxa de sincronização).

Tabela 01- Taxa de sincronização de estro até 96 horas após a aplicação do luteolítico por diferentes doses e vias de aplicação, em bovinos.

Tratamento	Total de animais (n)	Estro (n)	Resposta ao tratamento (%)
T1 (1mL vulva)	68	49	72,1
T2 (1mL IM)	66	35	53,0
T3 (2 mL IM)	65	42	64,6
Total	199	126	63,3

Embora a dose 50% da convencional aplicada na vulva apresente resultados aparentemente mais satisfatórios, não houve diferenças entre os tratamentos nas taxas de sincronização (Tabela 01;  $P>0,05$ ). Portanto, as doses reduzidas de 50% da convencional são eficientes em provocar estro quando administradas nas vias intramuscular (IM) ou intra-vulvosubmucosa (IVSM) o que leva à redução dos custos dos programas de sincronização. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por ALVAREZ et al. (1991); NOVAES et al. (1991) e BARSUTO-KUBA et al. (1992).

Em relação às vias de aplicação, este estudo observou que tanto a via IM como IVSM são efetivas quando 50% da dosagem de um luteolítico é administrado, o que concorda com HORTA et al. (1986); RAO & RAO (1990); ALVAREZ et al. (1991); VIANA et al. (1997) e NAPOLEAN et al. (1998) que objetivam o uso destas duas rotas, sendo mais práticas do que as injeções de  $PGF2\alpha$  nas vias intravenosas (STEVENS et al.,1995) ou infusões intrauterinas (CHENAULT et al.,1976). Adicionalmente, a injeção aplicada na vulva, neste presente experimento, não apresentou qualquer lesão local que impossibilitasse seu uso, como também relatado por HORTA et al. (1986).

A Tabela 01 corresponde ao total de animais usados para sincronização, apresentando em cada tratamento animais com histórico de estro anterior à aplicação do luteolítico e animais que não apresentavam histórico. Já na Tabela 02, os animais foram divididos em grupos com e sem histórico somando as respostas dos três tratamentos.

Tabela 02- Taxa de sincronização (agrupando os três tratamentos) dos animais que apresentavam histórico e que não apresentavam histórico de estro anterior a aplicação de um agente luteolítico.

Grupos	Total de animais (n)	Estro (n)	Resposta ao tratamento (%)
Com histórico	103	71	68,9
Sem histórico	96	55	57,3
Total	199	126	63,3

Não houve diferença entre os animais que receberam luteolítico (em diferentes doses e vias) com histórico de estro anterior ou não ( $P>0,05$ ). Pode-se sugerir, que animais que não apresentam históricos, podem ser selecionados para sincronização como receptoras em um programa de transferência de embriões desde que apresentem CL funcional detectados pela palpação transretal com também relatado por HOLY (1984), FERNANDES et al. (1994) e RIBADU et al. (1994).

Quando os dados foram separados de acordo com os tratamentos e seus grupos experimentais (com ou sem histórico), as taxas de sincronização também não apresentaram diferenças ( $P> 0,05$ ; Tabelas 03 e 04).

Tabela 03- Taxa de estro até 96 horas após a sincronização de animais sem histórico prévio de estro, selecionados apenas pela presença de CL característico em um dos ovários via palpação transretal.

Tratamento	Total de animais (n)	Estro (n)	Resposta ao tratamento (%)
T1(1 mL vulva)	30	20	66,7
T2(1mL IM)	33	15	45,5
T3(2 mL IM)	33	20	60,6
Total	96	55	57,3

Vale ressaltar que os perfis hormonais e ovarianos para as luteólises naturais e as induzidas ocorrem de maneira semelhante (VIANA et al., 1999). Diante disto, não é possível especificar, se os animais demonstrados nesta Tabela 03 encontravam-se nos dias de suas luteólises naturais ou se foram submetidos à luteólise induzida pelo Cloprostenol. Entretanto, é improvável que todos estes animais que responderam à sincronização estavam próximos ao dia das luteólises naturais (acima de 16 dias do ciclo estral conforme observado por VIANA et al., 1999), sugerindo mais uma vez que a palpação via transretal, como exame anterior à sincronização de estro é efetiva.

Quando se observa a média dos resultados dos animais que apresentaram histórico de estro anterior à aplicação do cloprostenol (Tabela 04), verificou-se que as respostas à sincronização estão de acordo com as observadas por ALVAREZ et al. (1989); ALVAREZ et al. (1991); NOVAES et al. (1991).e VIANA et al. (1997).

Tabela 04- Taxas de sincronização de estro, em bovinos, em intervalos até 96 horas após a aplicação do luteolítico em diferentes fases do diestro (7-16 dias).

Tratamento	Total de animais (n)	Dias do ciclo	Estro (n)	Resposta ao tratamento (%)
T1(1 mL vulva)	38	11,2 ± 2,4	29	76,3
T2(1mL IM)	33	11,2 ± 2,4	20	60,6
T3(2 mL IM)	32	10,9 ± 2,5	22	68,8
Total	103	11,1± 2,4	71	68,9

Estes resultados demonstram que não houve diferença entre os valores obtidos nos diferentes tratamentos ( $P > 0,05$ ) onde, 50% da dose aplicada IVSM ou IM é efetiva em provocar estro em animais em diferentes fases de diestro (7-16 dias do ciclo estral).

As taxas de sincronização obtidas neste experimento estão próximas àquelas observadas por vários pesquisadores quando 25% ou 50% da dose foram administrados (HORTA et al., 1986; PORTA et al., 1988; ALVAREZ et al., 1991; BARSUTO-KUBA et al., 1992; VIANA et al., 1997; MISHRA & MISHRA, 1998) onde pequenas variações de resposta à sincronização foram encontradas, provavelmente devido ao fato de que em muitos destes trabalhos, o intervalo para observação de estro foi maior ou igual a 120 horas, enquanto que os resultados demonstrados aqui apresentam apenas os animais que responderam em intervalos iguais ou inferiores a 96 horas o que pode ter contribuído para uma possível variação dos resultados comparados a estes anteriormente citados.

Com relação às doses inferiores daquelas utilizadas neste experimento, ONO et al. (1982); HORTA et al. (1986); PORTA et al. (1988); ALVAREZ et al. (1989); ALVAREZ et al. (1991); MISHRA & MISHRA (1998) e DUTT & KHARCHE (2000), demonstram que a dose 25% IVSM é tão efetiva quanto a dose convencional IM para a sincronização de estro. Já BARSUTO-KUBA et al. (1992) relatam que a dose 20% da convencional aplicada via IM apresenta diferença ( $P < 0,05$ ) em relação à dose completa IM. Esta observação sugere que análogos da  $PGF2\alpha$  utilizados em

concentrações inferiores a 25% da recomendada, quando aplicada via IM, será metabolizada logo em sua primeira passagem pelo pulmão (FERREIRA & VANE, 1967) resultando em pequenas concentrações da droga que alcançará o ovário iniciando o processo de luteólise. Entretanto, esta mesma dose (20%) aplicada IVSM apresenta resposta luteolítica, podendo sugerir que uma rota local de transporte desta droga da vulva ao útero-ovário, sem passar pela circulação sistêmica seria a responsável pela luteólise, como mencionado por HORTA et al. (1986).

Os resultados das taxas de gestação das receptoras de embrião estão demonstrados na Tabela 05. Não houve perdas de gestação entre os dias 25 e 60 após a transferência.

Tabela 05- Taxas de gestação em receptoras sincronizadas com Cloprostenol Sódico por diferentes doses e vias, inovuladas com embriões não congelados.

Tratamentos	Animais (n)	Gestantes	
		(n)	(%)
T1 (1mL vulva)	22	10	45,5
T2 (1mL IM)	16	08	50,0
T3 (2 mL IM)	20	11	55,0
Total	58	29	50,0

Foram usados neste experimento, apenas 58 embriões não pela falta de sincronia das receptoras com as doadoras ou pelo fato da escassez de receptoras fisiologicamente compatíveis para tal, mas sim pela quantidade de embriões que foram coletados durante o período experimental.

Com relação às doses e vias de aplicação para sincronização de estro, não houve diferenças ( $P > 0,05$ ) entre as taxas de gestação das receptoras de embriões transferidos a fresco, quando sincronizadas com 50% ou 100% das doses de Cloprostenol Sódico pelas vias intravulvo-submucosa (IVSM) ou intramuscular (IM) (Tabela 05). Portanto, 50% da dose administrada IM ou IVSM é efetiva, não interfere nas taxas de gestação e por consequência na fertilidade dos animais, concordando com os achados de DUTT et al. (1995) e MISHRA & MISHRA (1998) que trabalharam com doses reduzidas via IVSM para sincronização de receptoras.

Sobre os resultados das taxas de gestação de transferência de embriões a fresco encontrados na literatura, estes são muito variáveis (MACMILLAN, 1998), onde os resultados deste presente estudo estão de acordo com os encontrados por DEMCZUK et al. (1998); MACMILLAN (1998); MISHRA & MISHRA (1998) e FERNANDES (1999) e inferiores aos encontrados por ETHERINGTON et al. (1986); DUTT et al. (1995); MISHRA et al. (1996); TWAGIRAMUNGU et al. (1996) e SPELL et al. (2001). Os valores superiores aos encontrados neste estudo, podem ter sido alcançados por diversas razões, já que as variabilidades entre as receptoras na habilidade de iniciar e manter a gestação, não são claramente conhecidas (MACMILLAN & DONILSON, 1999). Adicionalmente, estas diferenças encontradas podem ter sido provocadas pelas variações, entre os experimentos, no manejo, alimentação, sanidade, qualidade e quantidade de hormônio administrado na doadora (diferenças de protocolos de superovulação) e qualidade embrionária. ETHERINGTON et al. (1986) e DEMCZUK et al. (1998) relatam ainda que o grau de sincronização entre receptoras e doadoras podem colaborar com as diferenças das taxas de gestação, devido ao efeito do ambiente uterino das receptoras quando os embriões são transferidos, fato este que pode ter contribuído para os resultados encontrados neste presente estudo.

Em relação ao efeito da idade do CL em que os animais foram sincronizados, sobre as taxas de gestação encontradas, o presente estudo não caracterizou diferenças ( $P > 0,05$ ) nas diferentes fases de diestro, corroborando aos achados de TWAGIRAMUNGU et al. (1996), sugerindo que receptoras de embrião, que se encontram entre os dias sete a 15 do ciclo estral são passíveis de responder ao tratamento com agentes luteolíticos e apresentar fertilidade comparada aos animais que apresentam estros naturais, conforme descrito por BURFENING et al. (1978), JACKSON et al. (1983), TWAGIRAMUNGU et al. (1996) e VIANA et al. (1999).

#### 4. CONCLUSÕES

As doses de Cloprostenol Sódico, diminuídas de 50% da convencional, apresentam efetividade semelhante na sincronização do estro, quando administradas nas vias intramuscular (IM) ou submucosa vulvar (IVSM).

A fertilidade do estro induzido, em receptoras de embrião, não é afetada pela redução da dose de Cloprostenol Sódico em 50%.

#### 5-REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALVAREZ, R.H., MEIRELLES, C.F., AMBROSANO, G.M.B., OLIVEIRA, J.V., POZZI, J.R. The use of lower doses of prostaglandin analogue, cloprostenol, for oestrus synchronization in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v.25, p. 93-96, 1991.

ALVAREZ, R.H., MEIRELLES, C.F., OLIVEIRA, J.V., POZZI, J.R., JUNIOR, F.G.C. Indução de cio e luteólise em novilhas tratadas com uma mini-dose de cloprostenol administrada pela via intramuscular ou intravulvosubmucosa. *Bol. Ind. Anim.*, v.46, n. 1, p. 37-44, 1989.

BARSUTO-KUBA, V.M., DE LA TORRE, S.F., VALENCIA, S.F., GONZALEZ, P.E. Effect of diferent routes and doses of PGF2-alpha in the fertility of F-1 zebu cattle. Proc. Int. Cong. Anim. Reprod. *Anim. Reprod. Sci.*, v.28, n.3, p.305, 1992.

BURFENING, P.J., ANDERSON, D.C., KINKIE, R.A., WILLIAMS, J., FRIEDRICH, R.L. Synchronization of estrus with PGF2 $\alpha$  in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, v.47, n. 5, p. 999-1003, 1978.

CALLEJAS, S.; CABODEVILA J.; ALBERIO R.; DORAY J.; CATALANO R.; TERUEL M.; PEREZ-ZANGARI G. Estudio del efecto luteolítico de una dosis reducida de cloprostenol, benzoato de estradiol y la combinación de ambos. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, v. 15, n.3-4, p, 1024-1025, 1995.

CHENAULT, J.R.; THATCHER, W.W.; KALRA, P.S.; ABRAMS, R.M.; WILCOX, C.J. Plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone following prostaglandin F2 alpha injection. *J. Dairy Sci.*, v.59, n.7, p.1342-1346, 1976.

Dados Bioclimáticos:

disponível em: <http://www.citybrazil.com.br/mg> (acesso em 15/03/03).

disponível em: <http://www.pmnf.rj.gov.br/dadosgerais/index.htm>

(acesso em 24/03/03).

DEMCZUK, E., KOZICKI, L. E., PONTELLI, E. S., SALLES, J. O. Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.35, n.04, p. 174-177, 1998.

DUTT, T., KHARCHE, S.D. Intravulvo-submucosal administration of dinoprost trometamine for estrus synchronization/induction in crossbred cows. *Ind. J. Anim. Sci.*, v. 70, n. 1, p. 46-47, 2000.

DUTT T., KHARCHE S.D., ANSARI, M.R., TANEJA, V.K. Superovulation with follitropin, estrus synchronization/induction using intravulvo-submucosal administration of lupristol and embryo transfer in crossbred cows. *Ind. J. Anim. Sci.*, v. 65, p. 990-992, 1995.

ETHERINGTON, W.G., KILMER, B.A., BURKE, J.E., MONTGOMERY, M.E., WILSON, D.C. Pregnancy rates related to stage of estrous cycle at prostaglandin treatment in an embryo transfer recipient herd. *Theriogenology*, v.25, n.6, p. 845-853, 1986.

FERNANDES, C. A. C. *Efeito do Tratamento com FSH Sobre a Taxa de Gestação de Novilhas Mestiças Usadas como Receptoras de Embrião*. UFV, Departamento de Veterinária, 1994. 64p. (Tese, Mestrado).

FERNANDES, C.A.C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, n.3, p.263-266, 1999.

FERNANDES C. A .C., TORRES, C. A .A ., COSTA, E.P. Comparação entre doses e vias de aplicação de cloprostenol para sincronização de estro em bovinos. *Rev.Bras. Rep. Anim.*, v.18, n. 3-4, p. 105-109, 1994.

FERREIRA, A.M. & TORRES, C.A.A. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.28, p.411-418, 1993.

FERREIRA S.A., VANE, J.R. Prostaglandins: their disappearance from and release into the circulation. *Nature*, v. 216, p. 868-873, 1967.

HOLY, L. Submucous vestibulo-vaginal implantation of cloprostenol (Oestrophan Spofa) to cows, as related to oestral activity, conception and progesterone levels in milk. *Veter. Med.*, v. 29, n. 9, p. 513-519, 1984.

HORTA, A . E. M., COSTA, C.M.S.G., ROBALO SILVA, J., RIOS VASQUES, M.I. Possibility of reducing the luteolytic dose of cloprostenol in cyclic dairy cows. *Theriogenology*, v.25, n.2, p. 291-301, 1986.

Instituto Nacional de Meteorologia: disponível em:

<http://www.inmet.gov.br/produtos> (acesso em 01/02/03).

JACKSON, P.S., ESSLEMONT, R.L., BAILIE, J.H. Subsequent fertility following cloprostenol induced luteolysis in the bovine. *Vet. Rec.*, v. 112, p. 153-154, 1983.

LINDNER G.M.; WRIGHT R.W. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, v.20, p. 407-416, 1983.

MACMILLAN, W.H. Statistical models predicting embryo survival to term in cattle after embryo transfer. *Theriogenology*, v.50, p. 1053-1070, 1998.

MACMILLAN, W.H., DONNILSON, M.J. Understanding maternal contributions to fertility in recipient cattle: development of herds with contrasting pregnancy rates. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 57, p. 127-140, 1999.

MISHRA, U.K., MISHRA, O. P. Induction of estrus and multiple ovulation by administration of cloprostenol and super-ov through intra-vulvo submucosal (IVSM) route and embryo transfer in Sahiwal cows. *Ind. J. Anim. Sci.*, v.68, n. 5, p.450-453, 1998.

MISHIRA U.K., MISHIRA, O.P., KHAN, J.R. Estrus synchronization, superovulation and nonsurgical embryo transfer in Sahiwal cows (*Bos Indicus*). *Ind. J. Anim. Sci.*, v. 66, n. 2, p. 1271-1273, 1996.

NAPOLEAN, R.E., THEJOMOORTY, P., SUNDARARAMAN, M.N., GAJENDRAN, K., PATTABIRAMAN, S.R. Estrus synchronization and conception rate in crossbred cows with prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  using two routes of administration. *Ind. J. Anim. Sci.*, v. 68, n. 6, p. 561, 1998.

NOVAES, A.S.; VALE FILHO, V.R.; CARVALHO, J.C.C. Sincronização de cio em novilhas e vacas holandesas-PB pelo uso de Cloprostenol em dose reduzida via submucosa vulvar. In: IX CONGRESSO BRAS. REPROD. ANIMAL, 1991, *Anais...* Belo Horizonte-M.G., 1991. p.347.Resumo.

ONO, H., FUKUI, Y., TERAWAKI, Y., OHBOSHI, K., YAMAZAKI, D. An intravulvosubmucous injection of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in anoestrous cows. *Anim.Reprod. Sci.*, v. 5, p. 1-5, 1982.

PORTA, M.A. D.; RESTLE, J.; GARCIA, G. G. Sincronização de cio em vacas de distintos grupos genéticos, utilizando prostaglandina em diferentes doses e vias de aplicação. *Rev. Centro de Ciências Rurais*, Santa Maria, v. 18, n.(3-4), p. 329-334, 1988.

RAO, K.H. & RAO, A.V.N. Luteolytic effect of a small dose of cloprostenol administered via intravulval route in riverine buffaloes. In: PROCEEDINGS OF II WORLD BUFFALO CONGRESS HELD IN INDIA during 12-16 December 1988 (volume III). *Physiology and Reproduction*, p. 159-161, 1990.

RIBADU, A.Y., WARD, W.R., DOBSON, H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet. Rec.*, v. 135, p. 452-457, 1994.

RIBEIRO JÚNIOR, I. *Análises estatísticas no SAEG*. Viçosa: Editora UFV, 2001. 301p.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. 2ªed. Belo Horizonte. FUNDAÇÃO DE ENSINO E PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA. 2002. 263p.

SPELL, A.R., BEAL, W.E., CORAH, L.R., LAMB, G.C. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, v.56, p. 287-297, 2001.

STEVENS, R.D., SEGUIN, B.E., MOMONT, H.W. J. Evaluation of the effects of route of administration of cloprostenol on synchronization of estrus in diestrous dairy cattle. *Am. Vet. Med.Assoc.*, v.207, n.02, p.214-216, 1995.

TWAGIRAMUNGU, H., BOUSQUET, D., DUROCHER, J., GUILBAULT, L.A. Effects of estrus synchronization with prostaglandin and GnRH on fertility in dairy recipient heifers. *Theriogenology*, v.45, n.1, p. 229, 1996.

VIANA, J.H.M., FERREIRA, A.M., SÁ, W.F., CAMARGO, L.S.A. Regressão luteal e dinâmica folicular após luteólise natural ou induzida por cloprostenol em vacas da raça Gir. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.*, v. 51, n.3,p. 257-262, 1999.

VIANA, J.H.M., TORRES, C. A . A., FERNANDES, C.A .C., FERREIRA, A . M. Relação do diâmetro folicular com resposta à sincronização de estro em novilhas. *Rev. Bras. Rep. Anim.*, v.21, n.4, p.15-21, 1997.

## CAPÍTULO II

### DOSES E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DE CLOPROSTENOL SÓDICO E SEU EFEITO NO INTERVALO DE RESPOSTA AO ESTRO E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROGESTERONA EM RECEPTORAS DE EMBRIÃO BOVINO.

#### RESUMO

Este trabalho teve como objetivo a administração de um agente luteolítico (Cloprostenol Sódico - Ciosin<sup>®</sup> - Coopers) em diferentes doses e vias, para avaliar as taxas de sincronização, intervalo da aplicação ao estro e concentrações de progesterona sérica (P4) em receptoras de embrião bovino. Ainda, órgãos genitais foram coletados em matadouros para o estudo da angioarquitetura, por meio de infusões venosas de contrastes radiográficos. Foram utilizadas 199 receptoras mestiças Holandês-Zebu com escore corporal  $\geq 3,0$  numa escala de 1 a 5 e peso vivo entre 320-450Kg. Destas, 103 apresentavam histórico de estro anterior aos tratamentos (dias 7-16 do ciclo estral; estro= dia zero) e 96 não apresentavam histórico, apenas avaliadas pela palpação transretal para a presença de corpo lúteo característico. Os animais foram divididos ao acaso em três grupos experimentais. Tratamento 1: 68 animais (38 com histórico de estro anterior) receberam 1 mL de Cloprostenol na parede interna da vulva (IVSM). Tratamento 2: 66 animais (33 com histórico) receberam 1 mL de Cloprostenol via intramuscular (IM) e Tratamento 3: 65 animais (32 com histórico) receberam 2 mL de Cloprostenol via IM. Considerou-se o reflexo de imobilidade como indicativo do estro e foram considerados os animais que manifestaram estro até 96 horas após a aplicação. As concentrações séricas de P4 foram analisadas por RIA no momento anterior à aplicação da droga e 48 horas após. Não houve diferença na taxa de sincronização ( $P>0,05$ ) entre os três tratamentos (72,1%; 53,0%; 64,6% respectivamente). O intervalo de resposta ao estro foi semelhante ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos ( $69,3 \pm 15,2$ ;  $67,9 \pm 16,7$ ;  $68,3 \pm 16,9$  horas, respectivamente), mas apresentaram diferenças ( $p<0,05$ ) quando os animais com histórico de estro foram divididos em classes luteais, nas quais os animais pertencentes aos dias 11-13 do ciclo estral apresentaram intervalos maiores ( $75,3 \pm 13,3$  horas), em relação aos dos dias 7-10 do ciclo ( $63,6 \pm 18,3$  horas) e aos dos dias 14-16 ( $61,1 \pm 11,3$  horas). Quanto a P4, a queda percentual dos valores de

progesterona após 48 horas da aplicação foram semelhantes ( $p>0,05$ ) nos três tratamentos (79%; 68% e 83%, respectivamente). Sobre a angioarquitetura dos órgãos genitais, observou-se que a veia vaginal caudal drena a parede da vagina e apresenta anastomoses com os vasos provenientes da cervix, corpo e cornos uterinos. Este estudo demonstrou que receptoras bovinas, quando sincronizadas com Cloprostenol em doses 50% reduzidas, tanto pelas vias IM ou IVSM apresentam taxas de sincronização, intervalos de resposta ao estro e queda dos valores séricos de progesterona semelhantes. As variações nos intervalos de resposta ao estro são influenciadas pela fase de diestro em que o animal se encontra e não pela rota ou dose de administração. O estudo da angioarquitetura sugere a presença de uma rota venosa local que transporta o luteolítico da vulva para o útero, quando administrado por esta via.

Palavras chave: cloprostenol, sincronização, progesterona, angioarquitetura.

#### **ABSTRACT**

This work had as objective to study different doses and vias of administration of an luteolytic agent (Cloprostenol Sodic-Ciosin<sup>®</sup> - Coopers) to evaluate synchronization rates, interval of application to the estrus, hormonal profiles of progesterone in bovine embryo recipients. Still, genital organs of bovine females were collected at slaughterhouses for the study of the angioarchitecture, through veined infusions of radiografic contrasts. There were used 199 Holtein-Zebu embryo recipients with corporal score  $\geq 3,0$  in a scale from 1 to 5 and live weight among 320-450Kg. A total of 103 animals presented historic of estrus previous to the treatments (7-16 days of the estrous cycle; estrous = day 0) and 96 animals didn't present historic of estous, these were examined by rectal palpation for the presence of ripe CL. The animals were randomly assigned to three experimental groups. In Treatment 1, 68 animals (38 with report of previous estrus) received 1 mL of Cloprostenol via intra-vulvo-submucosal (IVSM). In Treatment 2, 66 animals (33 with report of previous estrus) received 1 mL of Cloprostenol via intramuscular (IM) and in Treatment 3, 65 animals (32 with report of previous estrus) received 2 mL of Cloprostenol via IM. It was considered immobility reflex as an indicative of estous and only the animals that showed estrus up to 96 hours after the application of the Cloprostenol were used. The plasma progesterone concentrations (P4) were analyzed

by RIA in the moment previous to the application of the drug and 48 hours after. There was not difference in synchronization rates ( $P > 0,05$ ) among the three treatments (72,1%; 53,0%; 64,6%, respectively). The answer interval to the estrus was similar ( $p > 0,05$ ) among the three treatments ( $69,3 \pm 15,2$ ;  $67,9 \pm 16,7$ ;  $68,3 \pm 16,9$  hours, respectively), but they showed differences ( $p < 0,05$ ) when the animals with report of estrus were divided in luteal classes, in witch animals belonging to days 11-13 of estrous cycle showed larger intervals ( $75,3 \pm 13,3$  hours), in relation to days 7-10 of the estrous cycle ( $63,6 \pm 18,3$  hours) and to days 14-16 ( $61,1 \pm 11,3$  hours). As for the plasma P4 concentrations, the percentile fall of the progesterone values after 48 hours of the application was similar ( $p > 0,05$ ) in the three treatments (79%; 68% and 83%, respectively). Regarding the angioarchitecture of the genital organs it was observed that the caudal vaginal vein drains the vagina mucosal and it presents anastomosis with the vases from the cervix, body and uterine horns. This study demonstrated that bovine embryos recipients, when synchronized with Sodic Cloprostenol in dose 50% reduced, as by via IM or via IVSM showed similar synchronization rates, answer intervals to the estrus and fall of progesterone concentrations. The variations in the answer intervals to the estrous are influenced by the diestrous phase and not for the via or dose of administration of Cloprostenol. The study of the angioarchitecture suggests the presence of a local route veined that transports the Cloprostenol of the vulva for the uterus, when administered by this road.

Key words: cloprostenol, synchronization, progesterone, angioarchitecture.

## 1. INTRODUÇÃO

O conhecimento dos eventos reprodutivos de uma espécie é fundamental para o emprego de biotécnicas como a sincronização de estro, inseminação artificial e transferência de embriões, permitindo otimizar o potencial reprodutivo, bem como acelerar o ganho genético.

A prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) apresenta atividade luteolítica, o que despertou interesse dos profissionais ligados à reprodução, como um recurso potencial para controlar o ciclo estral dos bovinos e de outras espécies de interesse zootécnico. Entre as drogas utilizadas para controlar o ciclo estral, se encontram a PGF2 $\alpha$  natural

ou seus análogos sintéticos, entre eles o Cloprostenol o qual tem sido amplamente utilizado com resultados satisfatórios (CALLEJAS et al., 1995).

Devido ao seu efeito luteolítico, a  $PGF2\alpha$  é um agente efetivo no controle da ovulação em bovinos. No entanto, em condições de campo, a aplicação de  $PGF2\alpha$  necessita ser esquematizada para que possa promover a luteólise na maioria dos animais tratados (THATCHER & CHENAULT, 1976). A rotina do uso de  $PGF2\alpha$  promove a oportunidade de melhorar a eficiência de detecção de estro e, portanto, a performance reprodutiva (HEUWIESER et al., 1997), uma vez que uma eficiente e precisa detecção de estro é o fator chave que determina o sucesso da reprodução de um rebanho (HEERSCHE JR & NEBEL, 1994).

Tem sido grande a variação nos intervalos tratamento-manifestação do estro, quando agentes luteolíticos são administrados o que contribui negativamente nos resultados de sincronização (ADAMS, 1994). O longo intervalo do diestro no qual os animais são selecionados para a sincronização, torna imprevisível o tamanho do folículo dominante no momento da luteólise sendo esta uma característica fundamental para a melhoria da sincronização, pois o intervalo da luteólise à manifestação de estro parece estar relacionado com o tempo necessário para que o folículo dominante complete seu desenvolvimento até o tamanho pré ovulatório (QUIRK et al., 1986).

Em várias espécies, incluindo a bovina, a  $PGF2\alpha$  causa regressão do CL por meio de uma rota local ou direta entre o corno uterino e o ovário adjacente. A rota para a luteólise envolve um íntimo contato entre as veias que drenam o corno uterino e a artéria ovariana ipsilateral a este corno, em um mecanismo denominado de contra-corrente (DEL CAMPO & GINTHER, 1973a, DEL CAMPO & GINTHER, 1973b; GINTHER & DEL CAMPO, 1973; BAIRD, 1992).

Apesar de vários autores terem utilizado com sucesso doses menores de  $PGF2\alpha$  pela via vulvar (ALVAREZ et al., 1989; RAO & RAO, 1990; NOVAES et al., 1991; BARSUTO-KUBA et al., 1992; FERNANDES et al., 1994; CHOHAN, 1998; COSTA et al., 2000), não há descrição do mecanismo pelo qual este hormônio alcança o CL, existindo apenas especulações, sugerindo a existência de alguma conexão vascular entre a drenagem sangüínea da vagina e vulva com o útero, o que possibilitaria uma maior concentração de  $PGF2\alpha$  que alcança o CL (HORTA et al., 1986; FERNANDES et al., 1994) sem passar pela circulação sistêmica o que provocaria sua metabolização pelos pulmões (FERREIRA & VANE, 1967). Desta

forma, uma dose menor poderia ser utilizada sem reduzir a taxa de sincronização de estro. No entanto, há necessidade de estudos adicionais, uma vez que baixas doses de PGF2 $\alpha$  também têm apresentado resultados satisfatórios quando aplicadas por via IM (COSTA et al.,2000).

Os objetivos deste trabalho são: avaliar os efeitos das diferentes vias e doses de um agente luteolítico sobre a taxa de sincronização, intervalo de aplicação ao estro e perfis hormonais de progesterona, bem como estudar a angioarquitetura dos órgãos genitais de fêmeas bovinas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi conduzido em quatro propriedades nas regiões próximas de Alfenas-MG com latitude sul 21° 25' 45'', longitude oeste 45° 56' 50'', altitude 882m e Nova Friburgo-RJ com latitude sul 22° 16' 55'', longitude oeste 42° 31' 52'' e altitude 846m no período de abril a agosto de 2002. Apresentam clima, pela classificação Koppen, CWA (temperaturas moderadas com verão quente e chuvoso), com temperaturas médias anuais entre 21-23°C, onde no mês mais frio, a média de temperatura é menor que 20°C e regime de chuvas com média 1600mm/ano. Estas regiões, durante o experimento, apresentaram temperatura média de 15-21°C e foram classificadas pelo índice de conforto térmico (avaliado pelo índice de temperatura e umidade) como “sem estresse” por todo o período experimental (Instituto Nacional de Meteorologia).

Foram utilizadas 199 fêmeas mestiças Holandês-Zebu, receptoras de embrião, com escore corporal  $\geq 3,0$  numa escala de 1 a 5 (FERREIRA & TORRES, 1993) e peso vivo entre 320-450 Kg. Um total de 103 animais apresentavam histórico de estro anterior aos tratamentos de sincronização enquanto que 96 não apresentavam histórico.

Os animais foram submetidos à avaliação ginecológica por meio de exames pela via palpação transretal e/ou vaginoscopia no momento anterior ao início dos tratamentos. Foram descartados do experimento todos os animais que apresentavam anormalidades detectáveis nos órgãos genitais. A avaliação do útero e CL foi realizada pela palpação transretal onde foram usados neste experimento apenas os animais que apresentavam classificação de CL característico e consistência uterina flácida. Todos os 199 animais foram avaliados por apenas um examinador.

Os animais receberam, durante o período experimental, alimentação que consistia basicamente de capim *Brachiaria* e suplementação mineral.

Todas as fêmeas foram sincronizadas de acordo com os programas de transferência de embriões de cada propriedade, recebendo Cloprostenol Sódico (Ciosin-Coopers<sup>®</sup>), no período da manhã e foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais:

**Tratamento 1:** 68 novilhas receberam 265 µg (1 mL) de Cloprostenol Sódico, realizadas com agulhas 25 X 0,7 mm, na parede interna da vulva (IVSM) ipsilateral ao corpo lúteo detectado pela palpação transretal. Do total de animais, 38 apresentavam histórico de estro anterior ao tratamento (7-16 dias do ciclo estral, dia zero = dia do estro) e 30 não apresentavam histórico de estro, recebendo o tratamento apenas pela avaliação da presença de CL característico e consistência uterina flácida via palpação transretal.

**Tratamento 2:** 66 novilhas receberam 265 µg (1 mL) de Cloprostenol Sódico, via intramuscular (IM) na região da garupa, com agulhas 25 X 0,7 mm. Do total de animais, 33 apresentavam histórico de estro anterior ao tratamento (7-16 dias do ciclo estral, dia zero = dia do estro) e 33 não apresentavam histórico de estro, apenas avaliados como mencionado no tratamento 1.

**Tratamento 3:** 65 novilhas receberam 530 µg (2 mL) de Cloprostenol Sódico, via intramuscular (IM), na região da garupa, com agulhas 25 X 0,7 mm. Trinta e dois animais apresentavam histórico de estro anterior ao tratamento (7-15 dias do ciclo estral, dia zero = dia do estro) e 33 não apresentavam histórico de estro, apenas avaliados como mencionado no tratamento 1.

Todos os animais do experimento foram mantidos em piquetes em que foi realizada a observação visual de estro por 30 minutos, auxiliado por rufiação, no mínimo duas vezes ao dia, às sete e às 18 horas. Foram anotados os dias e o período do dia (manhã ou tarde) do estro de cada animal. Considerou-se o reflexo de imobilidade, como indicativo do estro e somente foram considerados os animais que manifestaram estro até 96 horas após a aplicação (segundo FERNANDES, 1999).

As coletas de sangue para dosagem de progesterona foram realizadas em apenas uma amostragem dos animais no momento anterior a aplicação do luteolítico e 48 horas após. As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados sem anticoagulante pela punção da artéria ou veia coccígeas. Após a obtenção de pelo

menos três mL de sangue, os tubos foram estocados a 4° C por no máximo 48 horas até o momento da centrifugação a 1700 giros por 10 minutos para completa separação do soro. Esse foi recuperado com pipetas automáticas (graduação até 2 mL) e transferido para um frasco de vidro previamente esterilizado, identificado e estocado a temperatura de -20°C.

As análises de progesterona foram realizadas com o uso de Kit comercial de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida (Coat-a-count progesterone kit, DPC, Diagnostic Products Co., Los Angeles, CA, USA) no Laboratório de Preparo de Amostras e Radioimunoensaio do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Para a avaliação da anatomia circulatória do trato genital, foram utilizados órgãos genitais de fêmeas abatidas (novilhas ou vacas) no matadouro municipal de Ubá-MG que não apresentassem patologia evidente e nem gestação inicial. Os órgãos foram levados para o Laboratório de Anatomia Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, em caixas de isopor onde foram lavados externamente com água corrente e após a lavagem, os tecidos foram umidificados e estocados em refrigeradores até serem estudados (conforme GINTHER & DEL CAMPO, 1974).

Para o estudo, os órgãos genitais foram retirados dos refrigeradores e dispostos em bandejas à temperatura ambiente e um ramo da veia vaginal caudal (próximo à região caudal da vagina) foi localizado e canulado com sonda uretral recebendo em torno de 100 mL de soro fisiológico 0,9% NaCl para a retirada completa de sangue (GINTHER & DEL CAMPO, 1974). Foram pinçados os vasos que apresentassem qualquer rompimento devido às manipulações dos órgãos genitais.

Após tal procedimento, o ramo da veia vaginal caudal foi infundido com contraste radiográfico intravascular (Diatrizoato de Meglumina- Hypaque<sup>®</sup> M60%) em volumes que variaram em torno de 50 a 70mL. A injeção foi contínua até que as veias ficassem preenchidas e começando a se distender. Após este procedimento, os órgãos foram secados externamente e submetidos à radiografia. As lâminas radiográficas das infusões venosas foram analisadas para a verificação de possíveis anastomoses que indicassem alguma relação da artéria ovárica (uteroovariana) com o sangue (venoso) drenado da região vulvar.

Os dados foram digitados em planilhas eletrônicas e posteriormente dispostos para as análises estatísticas usando o programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas (UFV – RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

Os dados das taxas de sincronização em relação aos tratamentos foram avaliados pelo Teste Qui-Quadrado a 5% de probabilidade (SAMPAIO, 2002). A resposta à sincronização conforme VIANA et al. (1997) foi definida como o percentual de animais em estro até 96 horas após o tratamento, dentre o total de animais tratados.

Para os efeitos da idade do corpo lúteo, divididos em três classes: 1= 7-10 dias do ciclo estral, 2= 11 a 13 dias e 3= 14-16 dias (modificado de TANABE & HANN, 1984) foram realizados os testes de normalidade (Teste de LILLIEFORS) e homocedasticidade (Teste de COCHRAN e BARTLETT) e posteriormente comparados com o intervalo à manifestação de estro por análises de variância e submetidos ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Posteriormente, os CLs foram classificados em classe 1= 7-10 dias e classe 2= 11-16 dias do ciclo estral (modificado de VIANA et al.,1997). Estas duas classes foram comparadas com a taxa de sincronização pelo teste não paramétrico de Wilcoxon e com o intervalo a manifestação de estro por análise de variância e, caso significativo, foi submetido ao Teste de Tukey (5% de probabilidade).

Para a comparação dos intervalos aplicação-estro entre os tratamentos, também foram realizados os testes de normalidade (Teste de LILLIEFORS) e homocedasticidade (Teste de COCHRAN e BARTLETT) e foram submetidos à análise de variância.

Para avaliar os efeitos dos tratamentos e da idade do CL sobre a concentração sérica de progesterona, no momento da aplicação (zero hora) e 48 horas após, foram realizados os testes de normalidade e homocedasticidade. Posteriormente foram submetidos à análise de variância e, caso significativo, ao teste de Duncan a 5% de probabilidade.

### **3- RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Efeito das diferentes doses e vias de aplicação de Cloprostenol Sódico na taxa de sincronização e intervalo de resposta ao estro.**

As taxas de sincronização e os intervalos de resposta ao estro (até 96 horas) após a aplicação de Cloprostenol Sódico por diferentes doses e vias estão apresentados na Tabela 01.

Tabela 01- Taxas de sincronização (%) e intervalo (horas) de resposta ao estro após a aplicação de cloprostenol sódico em fêmeas bovinas.

Tratamento	Total de animais (n)	Estro (n)	Resposta ao tratamento (%)	Intervalo médio aplicação-estro (horas)
T1(1mL vulva)	68	49	72,1	69,3 ± 15,2
T2(1mL IM)	66	35	53,0	67,9 ± 16,7
T3(2 mL IM)	65	42	64,6	68,3 ± 16,9
Total	199	126	63,3	68,6 ± 16,1

Embora a dose 50% da convencional aplicada na vulva apresente resultados aparentemente mais satisfatórios, não houve diferenças entre os tratamentos nas taxas de sincronização (Tabela 01) ( $P > 0,05$ ). Os resultados encontrados neste experimento, usando 50% ou 100% da dose recomendada pelo fabricante, apresentam-se em concordância com as taxas de sincronização obtidas por ALVAREZ et al. (1991); NOVAES et al. (1991) e BARSUTO-KUBA et al. (1992), os quais também não observaram diferenças entre as diversas dosagens e vias. Portanto, as doses reduzidas de 50% da convencional são eficientes em induzir estro quando administradas via intramuscular (IM) ou via intra-vulvosubmucosa (IVSM) reduzindo, assim, os custos de sincronização.

As diferentes doses (sejam elas integrais ou reduzidas em 50%) aplicadas pelas vias IM ou IVSM apresentaram semelhanças do intervalo da aplicação ao estro (Tabela 01;  $p > 0,05$ ). Estes resultados estão de acordo aos obtidos por TANABE & HANN (1984) e WATTS & FUQUAY (1985) quando doses integrais de um produto luteolítico foram administradas via IM e semelhantes a VIANA et al. (1997) e NAPOLEAN et al. (1998) quando doses reduzidas (60 e 40% respectivamente) foram administradas via IVSM. Adicionalmente, HOLY (1984), HORTA et al. (1986) e ALVAREZ et al. (1989) também encontraram intervalos próximos ao deste estudo quando 50% ou 25% da dose foi administrada via IVSM. Desta maneira, pode-se indicar que não é a dose luteolítica ou a via de aplicação a responsável pelo grau de sincronia das receptoras com as doadoras visto que os animais deste experimento apresentaram intervalos semelhantes entre os tratamentos, mas pode-se imaginar que o fator responsável pelo intervalo aplicação-estro seria o estágio folicular (KASTELIC et al., 1990, VIANA et al., 1999a, ALI et al., 2001) bem como a

fase de diestro em que o animal se encontra no momento do tratamento (MACMILLAN & HENDERSON 1983; WATTS & FUQUAY 1985; ETHERINGTON et al., 1986; MOMONT, 1992).

### 3.2 Efeito das diferentes fases de diestro sobre as taxas de sincronização e intervalos de resposta após a aplicação de Cloprostenol Sódico.

Os resultados dos intervalos de resposta ao estro e taxas de sincronização estão representados na tabela 02.

Tabela 02- Taxas de sincronização (%) e intervalos (horas) de resposta ao estro após a aplicação de Cloprostenol Sódico em diferentes fases de diestro.

Classes (dias do ciclo estral)	Animais (n)	Média ± DP (dias do ciclo estral)	Resposta ao estro (%)	Intervalo médio aplicação-estro (horas)
1 (7-10 dias)	20	8 ± 1,27	55,5	63,6 ± 18,3 <sup>A</sup>
2 (11-13 dias)	40	12 ± 0,78	75,5	75,3 ± 13,3 <sup>B</sup>
3 (14-16 dias)	11	15 ± 0,84	78,6	61,1 ± 11,3 <sup>A</sup>

A,B: valores com letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

A Tabela 02 demonstra que animais pertencentes à classe luteal 2 (dias 11-13 do ciclo estral, estro=dia zero) apresentam maiores intervalos ao estro (p<0,05) quando comparados às classes luteais 1 (07-10 dias do ciclo) e 3 (14-16 dias do ciclo). Estes resultados estão de acordo com os expostos na literatura (MACMILLAN & HENDERSON, 1983; TANABE & HANN, 1984; ETHERINGTON et al., 1986) constatando que o intervalo da aplicação do luteolítico ao estro é maior nos animais que receberam a aplicação na fase luteal mediana do que animais que receberam a aplicação em fases luteais iniciais e tardias.

QUIRK et al. (1986); KASTELIC et al. (1990); ASSEY et al. (1993) e VIANA et al. (1999a) comentam que o tamanho e a viabilidade do folículo dominante no momento da aplicação de luteolítico podem afetar o comprimento do intervalo do tratamento à ovulação. Adicionalmente, a fase de diestro em que se aplica o

luteolítico pode ser uma importante fonte de variação nesta resposta (WATTS & FUQUAY, 1985; ETHERINGTON et al., 1986; VIANA et al., 1997).

Os bovinos apresentam basicamente, duas ou três ondas de crescimento folicular onde os dias da emergência folicular seriam  $-0,2 \pm 0,1$  e  $9,6 \pm 0,2$  para duas ondas e  $-0,5 \pm 0,3$ ;  $9,0 \pm 0,0$  e  $16,0 \pm 1,1$  para três ondas (ovulação= dia zero) (GINTHER et al., 1989). KASTELIC et al. (1990) relatam que em novilhas, os folículos dominantes da primeira onda se encontram no dia cinco em fase de crescimento e no dia oito em fase estática colaborando, assim, para um menor intervalo de resposta quando a PGF2 $\alpha$  exógena é administrada nesta fase, pois quando a luteólise ocorre na presença de um folículo em fase de crescimento ou estática inferior a três dias (ALI et al.,2001), este será o folículo ovulatório (KASTELIC et al., 1990).

Porém, nos animais que se encontram no dia 12 do ciclo estral, o folículo ovulatório da primeira onda provavelmente apresenta-se em regressão, não apto a ovular enquanto que os folículos da segunda onda estão em fase inicial de crescimento (GINTHER et al.,1989), levando ao maior intervalo de resposta. Deste modo, quando os animais são tratados no momento em que a segunda onda está em crescimento inicial (por volta do dia 12 do ciclo estral) haverá maior intervalo ao estro (conforme KASTELIC & GINTHER, 1991).

Estas observações podem explicar os achados do presente estudo onde os animais tratados do dia 11 ao 13 do ciclo (classe 2) apresentariam provavelmente folículos da primeira onda em regressão e da segunda onda em crescimento, levando ao maior intervalo, concordando com os achados de THATCHER & CHENAULT (1976); TANABE & HANN (1984); STEVENSON et al. (1984); ETHERINGTON et al. (1986); VIANA et al. (1999a) e COLAZO et al. (2002). Sugere-se também que os animais que foram tratados a partir do dia 14 (classe 3) provavelmente apresentavam folículos da segunda onda aptos a ovular (conforme GINTHER et al., 1989) resultando em intervalos menores.

Outra importante observação sobre a aplicação de luteolítico em diferentes fases de diestro diz respeito à taxa de sincronização. Quando os animais pertencentes às classes luteais 2 e 3 foram agrupados (correspondendo, portanto, aos dias 11-16 do ciclo estral) e comparados com a classe 1 (07-10 dias do ciclo), as taxas de sincronização foram diferentes (76,1% versus 55,5%;  $P < 0,05$ ) indicando que corpos lúteos em fases medianas e tardias respondem melhor à sincronização do que animais

em fase luteal inicial (concordando com TANABE & HANN, 1984; WATTS & FUQUAY, 1985 e ETHERINGTON et al., 1986).

Uma explicação para tais observações seria o fato da luteólise ser caracterizada por dois processos: a regressão funcional e a estrutural do corpo lúteo (MIYAMOTO, 1996), onde a regressão funcional é caracterizada pela diminuição da produção de progesterona e a estrutural pela degradação tecidual (PATE, 1994). Além das células luteínicas, outras células não luteais (parenquimais, endoteliais e fibroblastos, NISWENDER et al., 1990) são requeridas para regressão completa do corpo lúteo se proceder (SPINOSA et al., 1997). Um somatório de eventos e interações que ocorrem com as células luteais e não luteais em fases medianas e tardias do diestro são provavelmente o diferencial das respostas quando os agentes luteolíticos são administrados durante estas fases.

O sistema imune colabora com células linfocíticas (WEBB et al., 2002) e macrófagos (MIYAMOTO, 1996) a partir do dia 14 do ciclo (WEBB et al., 2002), sendo responsáveis principalmente pela fagocitose das células não luteais presentes no CL. Adicionalmente, as células luteais (esteroidogênicas) sofrem apoptose, possivelmente iniciado por hipóxia (NISWENDER et al., 1990), onde a Endotelina-1 (ET-1) é uma potente vasoconstritora produzida pelas células endoteliais, que leva à inibição da atividade esteroidogênica (MILVAE et al., 1996; OHTANI et al., 1998; LEVY et al., 2000), mostrando uma possível interação entre as células endoteliais (não luteais) e luteais durante a luteólise.

A sensibilidade e responsividade do CL à  $PGF2\alpha$  aumenta com o tempo do ciclo estral, sendo que a afinidade de adesão da  $PGF2\alpha$  aos receptores aumentam 203 vezes a partir do dia 13 (RAO et al., 1979) o que pode colaborar com a suposição de melhor resposta a partir deste dia. É importante que a  $PGF2\alpha$  exerça seu papel em apenas uma passagem pelo CL, pois apresenta curta meia vida (TSAI & WILTBANK, 1998) e é 90% metabolizada em apenas uma passagem pelos pulmões (FERREIRA & VANE, 1967). A  $PGF2\alpha$  produzida pelas células luteais potencializa o efeito da  $PGF2\alpha$  exógena e desempenha função autócrina/parácrina para aumentar este efeito (TSAI & WILTBANK, 1997). Portanto, quanto maior afinidade dos receptores à  $PGF2\alpha$ , melhor seria a resposta à luteólise e, esta afinidade aumenta a partir do dia 13 do ciclo o que contribui para melhor resposta à sincronização a partir deste dia, como verificado neste presente estudo.

Vários eventos e interações que acontecem com as células não luteais e luteais como a infiltração de linfócitos e macrófagos (MIYAMOTO, 1996; WEBB et al., 2002), liberação de ET-1 pelas células endoteliais levando a apoptose de células esteroidogênicas (OHTANI et al., 1998), aumento da sensibilidade à PGF2 $\alpha$  (RAO et al., 1979) entre outros fatores ainda não elucidados (WEBB et al., 2002), podem provavelmente interferir no aumento da taxa de sincronização quando agentes luteolíticos são administrados em fases luteais medianas e tardias do ciclo estral.

### 3.3 Queda das Concentrações de Progesterona Séricas após 48 horas da injeção de luteolítico.

As médias das concentrações de Progesterona Sérica (P4), às zero e 48 horas após a aplicação do luteolítico nos diferentes tratamentos estão representados na Tabela 03.

Tabela 03- Valores médios das concentrações de Progesterona (ng/ml) no momento anterior a aplicação do luteolítico (0 hora) e 48 horas após. Porcentagens de queda das concentrações de progesterona após 48 horas da aplicação do luteolítico.

Tratamento	Animal (n)	Dias do ciclo estral	P4 0 hora (ng/ml)	P4 48 horas (ng/ml)	Queda (%)
1 (1 mL IVSM)	13	11,0 $\pm$ 2,5	2,00 $\pm$ 1,05 <sup>A</sup>	0,34 $\pm$ 0,17 <sup>A</sup>	79 $\pm$ 15
2 (1 mL IM)	11	11,5 $\pm$ 2,1	2,31 $\pm$ 1,43 <sup>A</sup>	0,60 $\pm$ 0,28 <sup>B</sup>	68 $\pm$ 20
3 (2 mL IM)	12	11,3 $\pm$ 2,8	3,44 $\pm$ 1,29 <sup>B</sup>	0,54 $\pm$ 0,30 <sup>AB</sup>	83 $\pm$ 08
Total	36	11,0 $\pm$ 2,5	2,60 $\pm$ 1,39	0,50 $\pm$ 0,27	76 $\pm$ 16

A,B: Valores diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Duncan (p<0,05).

Na avaliação dos dados apresentados nesta Tabela 03, pode-se destacar que o percentual de queda em 48 horas após a aplicação do luteolítico foi semelhante entre os tratamentos. Estes achados concordam com ALVAREZ et al. (1989) e COLAZO et al. (2002) que encontraram reduções de P4 às 48 horas semelhantes quando doses diminuídas em 50 ou 25% da convencional nas vias IM ou IVSM foram administradas, o que indica a viabilidade destas doses nestas duas vias.

Adicionalmente, neste presente estudo o intervalo de resposta ao estro foi semelhante ( $p>0,05$ ) nos três tratamentos e as taxas de sincronização também não apresentaram diferenças (Tabela 01;  $P>0,05$ ). Portanto, 50% da dose aplicada via IVSM ou via IM apresenta semelhança de efetividade para sincronização do estro concordando com os achados de ALVAREZ et al. (1991) e NOVAES et al. (1991).

Provavelmente, as diferenças encontradas nas concentrações de P4 às zero horas (Tabela 03) se devam à características intrínsecas dos animais em produzir progesterona, pois as variações das concentrações deste esteróide em animais na fase de diestro do ciclo estral são relativamente grandes (HOWELL et al., 1994; e BATTOCCHIO et al., 1999). Mas fica claro que os animais destes três grupos experimentais estavam aptos a receber o Cloprostenol, pois além de estarem reconhecidamente na fase de diestro (dias 7-16 do ciclo estral), também apresentavam concentrações séricas de progesterona acima de 1 ng/mL de acordo com os protocolos preconizados por ALVAREZ et al. (1989; 1991) e COLAZO et al., (2002).

Entretanto, dados na literatura revelam que há animais entre os dias 7-14 do ciclo com concentrações de P4 inferiores a 1,0 ng/mL (VACA et al., 1983; HORTA et al., 1986; ALVAREZ et al., 1991). Também SPELL et al. (2001) encontraram animais gestantes com P4 de 0,6 ng/ml. Dados semelhantes aos destes estudos foram encontrados neste presente experimento onde cinco animais entre os dias sete e 12 do ciclo apresentavam concentrações de P4 entre 0,5-0,9 ng/mL. Adicionalmente, oito animais dos grupos experimentais analisados para P4 não foram observados em estro até 96 horas após a aplicação do luteolítico, e apresentavam valores de P4 acima de 0,5 ng/mL e abaixo de 1,0 ng/mL. Portanto, não se pode mencionar que houve falhas na observação visual do estro já que estes animais podem não ter respondido ao tratamento, mas apresentando condições para tal.

Sobre as concentrações séricas de P4 às 48 horas, a menor concentração da P4 nos animais do Tratamento 1 em relação aos animais do Tratamento 2 (Tabela 03) possa ser devido a uma passagem direta da luteolisina aplicada na região vulvar até o ovário, através de conexões venosas presentes, diminuindo a concentração desta droga que seria transportada pela circulação sistêmica, como sugerido por HORTA et al. (1986); ALVAREZ et al. (1991); FERNANDES et al. (1994) e KHARCHE et al. (1996). Porém a  $PGF2\alpha$ , quando administrada via IM, será drenada para a circulação sistêmica e sofrerá metabolização (FERREIRA & VANE, 1967), diminuindo a

concentração de luteolisina que alcança o ovário, levando a uma queda mais lenta da progesterona, embora ela também aconteça, como demonstrado neste trabalho.

No presente estudo, as médias de P4 à zero hora e 48 horas após a aplicação foram de  $2,56 \pm 1,38$  ng/mL e  $0,48 \pm 0,27$  ng/mL para animais com histórico e  $1,91 \pm 1,58$  ng/ml e  $0,37 \pm 0,23$  ng/ml para animais sem histórico, respectivamente não apresentando diferenças ( $p > 0,05$ ) nos perfis hormonais entre os animais com e sem histórico, indicando que os animais sem histórico prévio de estro apresentavam perfis hormonais semelhantes aos animais com histórico no momento da aplicação do luteolítico, sugerindo que o exame apenas pela palpação transretal para a presença de um CL característico e consistência uterina flácida é eficiente como método de sincronização, também demonstrado por ONO et al. (1982); HOLY (1984); ASSEY et al. (1993); CHOHAN et al. (1993); FERNANDES et al. (1994) e STEVENS et al. (1995).

Os valores de P4 à zero hora e 48 horas nos animais em diferentes fases do diestro estão representados na Tabela 04.

Tabela 04- Concentrações séricas de P4 (ng/mL) em animais em diferentes fases de diestro no momento anterior e 48 horas após a aplicação do Cloprostenol Sódico.

Dias do ciclo estral	Animal (n)	[P4]	[P4]	Queda (%)
		0 hora	48 horas	
7-10 dias	12	$1,84 \pm 1,35$	$0,35 \pm 0,17$	$75 \pm 15$
11-13 dias	17	$2,88 \pm 1,33$	$0,55 \pm 0,25$	$76 \pm 18$
14-15 dias	07	$3,02 \pm 1,18$	$0,54 \pm 0,38$	$80 \pm 12$

Na zero hora, embora não apresentaram diferenças ( $P > 0,05$ ) quando as três classes luteais foram analisadas, os valores médios dos animais pertencentes aos dias 7-10 do ciclo estral foram menores ( $1,84 \pm 1,35$  ng/ml;  $p < 0,05$ ) quando comparados aos animais a partir do dia 11 do ciclo estral ( $2,92 \pm 1,27$  ng/ml) e correlação de 0,37 ( $p < 0,05$ ) entre a idade do CL e as concentrações de progesterona, indicando que quanto maior a idade do CL e por conseqüência, sua maturidade, maior é a síntese de progesterona pelo mesmo. Estas observações corroboram aos achados de WATTS & FUQUAY (1985); STEVENS et al. (1995) e VIANA et al. (1999b).

A Tabela 04 demonstra que a redução das concentrações de P4 ocorreu de maneira semelhante ( $p>0,05$ ) nos animais que estavam em diferentes fases de diestro, indicando que o CL é responsivo ao luteolítico entre os dias 7-15 do ciclo estral concordando com as observações feitas por THATCHER & CHENAULT (1976); MOMONT (1992); SAKAMOTO et al. (1995); TSAI & WILTBANK (1997, 1998) e LEVY et al. (2000). Adicionalmente, o intervalo de resposta ao estro foi superior ( $p<0,05$ ) no grupo correspondente aos dias 11-13 do ciclo (Tabela 02). Estas observações sugerem que o fator determinante para o intervalo aplicação – estro é o status fisiológico dos folículos presentes (KASTELIC et al., 1990; VIANA et al., 1997, 1999a) uma vez que o perfil da queda de P4 ocorre de maneira semelhante entre os dias 7-15 do ciclo, dados estes também observados por STEVENSON et al. (1984); STEVENS et al. (1995) e STEVENSON et al. (1998).

Embora os perfis de queda da progesterona são semelhantes entre as classes luteais, a taxa de sincronização foi diferente ( $P<0,05$ ) quando os animais da classe luteal 1 (entre os dias 7-10) foram comparados com os animais que estavam acima do dia 11 do ciclo (55,5% versus 76,11%). Os mecanismos que levam à luteólise induzida não estão totalmente elucidados (segundo WEBB et al., 2002), mas para que uma completa regressão do CL se proceda, outros fatores além da diminuição da progesterona mostram-se importantes, como a luteólise estrutural (MYAMOTO, 1996), sugerindo que mais estudos com estes objetivos são necessários.

### **3.4 Estudo da angioarquitetura os órgãos genitais de fêmeas bovinas.**

O ramo venoso utilizado para estudar as anastomoses vaginais e uterinas, neste experimento, consistiu de um ramo da veia vaginal, infundido com contraste radiográfico na região cranial da vagina (Figuras 1e 2). SOUZA et al. (1998) informam que a artéria vaginal caudal nutre a parede da vagina. Entretanto, poucos estudos são realizados em relação às veias vaginais caudais, porque o plexo venoso contém fortes valvas que impede a passagem de substâncias no sentido contrário ao fluxo estabelecido por estes vasos, como descrito por DEL CAMPO & GINTHER, (1973 a, b).

Neste experimento, o ramo venoso utilizado para a infusão estava próximo à região cranial da vagina e não em regiões mais próximas à vulva pelo fato que vasos

mais distais ao órgão apresentavam pequenos diâmetros e com certa fragilidade que impossibilitou a passagem de uma cânula, mesmo esta sendo extremamente fina.

Os resultados encontrados neste experimento estão de acordo com outros pesquisadores (DEL CAMPO & GINTHER, 1973 a,b; DYCE et al., 1990) no que tange a evidência das relações e anastomoses existentes entre as veias que drenam a região da vagina e a drenagem principal uterina que é através da veia útero-ovariana. Demonstra ainda, concordância com os relatos de DEL CAMPO & GINTHER (1973 a, b); GINTHER & DEL CAMPO (1974); GINTHER (1976) e DYCE et al. (1990) em relação à presença de uma grande veia (veia vaginal) que é originada da região vaginal e da cérvix, formando uma intensa rede de anastomoses na superfície ventral do útero entre os antímeros direito e esquerdo, como demonstrado na Figura 1.

Na Figura 2 pode-se verificar que regiões posteriores ao local da infusão estão radiopacas sugerindo que ramos destas regiões apresentam anastomoses com a grande veia vaginal como mencionado por GINTHER & DEL CAMPO (1973) e, por conseguinte apresentam conexões com a drenagem uterina (Figuras 1 e 2).

Neste experimento, as infusões foram realizadas em um único sentido, não apresentando barreiras (ocasionadas pelas fortes valvas) na passagem do contraste, podendo sugerir que o sangue das regiões da vagina e cérvix deixam o útero não apenas pela veia vaginal, mas também pela veia útero-ovariana. Este sentido de fluxo alcança a drenagem ovariana e como demonstrado na Figura 3 alcança ainda a veia útero-ovariana responsável pela passagem de luteolisina ao CL.

Através deste experimento, pode-se sugerir que a  $PGF2\alpha$  aplicada na vulva é drenada tanto por ramos da veia vaginal como pela veia útero-ovariana (maior drenagem dos órgãos genitais; relatado por DYCE et al., 1990). Estas duas veias desembocam na veia íliaca interna (GINTHER, 1976). Os vasos existentes nas regiões próximas a cérvix (veias vaginal cranial e caudal) apresentam anastomoses com os vasos uterinos como descrito por DEL CAMPO & GINTHER (1973b), e desta maneira as veias destas regiões (cérvix e vagina) também poderiam transportar a  $PGF2\alpha$  da região vulvar até o útero.

Sugere-se, que o luteolítico injetado via IVSM alcança o CL não somente pelo transporte da luteolisina para a veia vaginal e íliaca interna alcançando a circulação sistêmica, mas também pelo transporte desta substância drenada via veia vaginal e suas anastomoses uterinas, sem passar pela circulação sistêmica, evitando uma associada metabolização (como sugerido por HORTA et al., 1986). Esta rota de

transferência tem um mérito funcional porque mais de 90% da PGF2 $\alpha$  é metabolizada a componentes inativados como a 15-ceto-13, 14-diidroprostaglandina F2 alpha pela passagem aos pulmões, quando administrado pela rota IM. Portanto a transferência local permite a conservação da molécula biologicamente ativa, requerendo menor quantidade do produto a ser injetado como sugerido por Swenson 1984 citado por MISHRA & MISHRA (1998).

Adicionalmente, o cloprostenol pode ser injetado através da rota IVSM, sem a necessidade de ser administrado ipsilateral ao ovário que apresenta o CL, pois há anastomoses entre os vasos dos antímeros direito e esquerdo que drenam a região da vagina, como também observado GINTHER (1976).

Na luteólise natural, é sabido que pequenas quantidades de prostaglandina começam a ser liberadas em pulsos pelo endométrio, sendo drenadas pela veia útero-ovárica e atinge a artéria ovariana, em um mecanismo denominado contra corrente (GINTHER, 1976). Estas quantidades iniciais de PGF2 $\alpha$  (cloprostenol) que alcançam o ovário agem no CL que sintetiza adicionais PGF2 $\alpha$  (TSAI & WILTBANK, 1997) e por consequência, secreção de ocitocina, a qual, por um mecanismo de feedback positivo, induz a liberação de mais PGF2 $\alpha$  pelo endométrio (BAIRD, 1992). Este presente trabalho leva a sugerir, que a via IVSM de aplicação de prostaglandina transportaria parte desta substância ao útero e, por conseguinte ao ovário (drenagem venosa vagina-útero) sem passar pela circulação sistêmica, sendo mais eficiente que a via IM, além de possibilitar o uso de menor dosagem de PGF2 $\alpha$  para o controle do ciclo estral em bovinos.

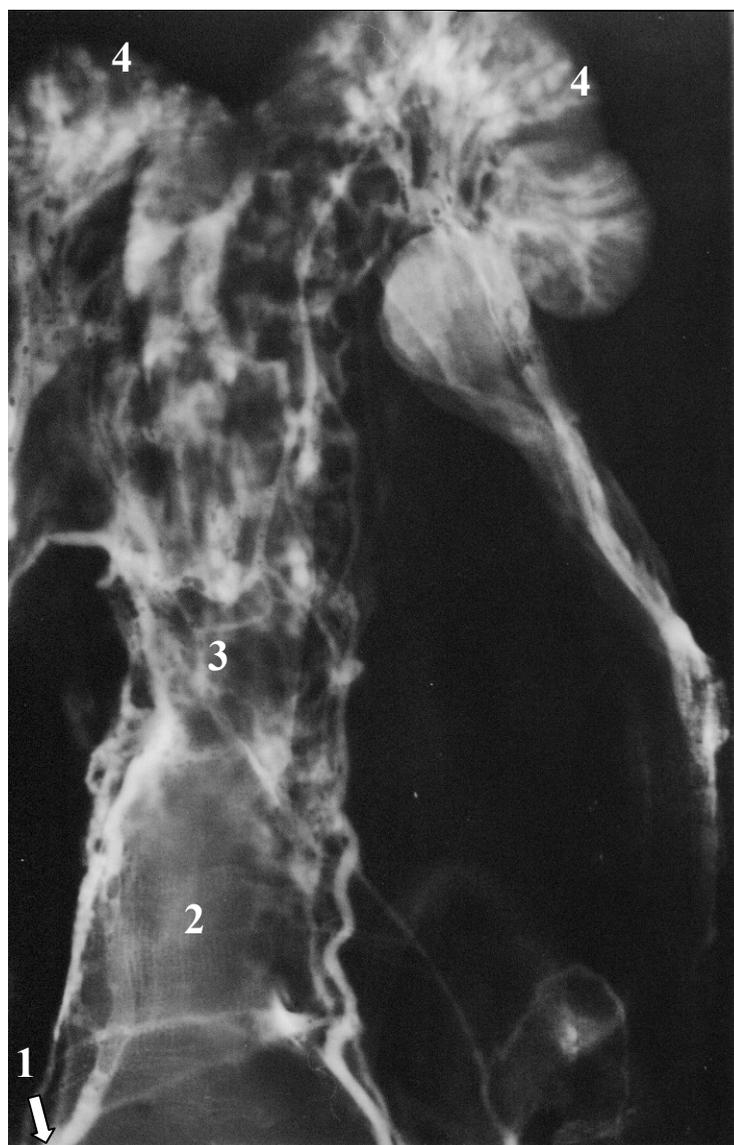


Figura 1- Lâmina Radiográfica de um órgão genital de fêmea bovina (vista ventral), coletado em matadouro. A infusão de contraste radiográfico foi realizada em um único vaso no sentido cranial ao órgão. 1= local da infusão de contraste radiográfico (ramo da veia vaginal localizado na região caudal da vagina); 2= cervix; 3= corpo do útero; 4= cornos uterinos.

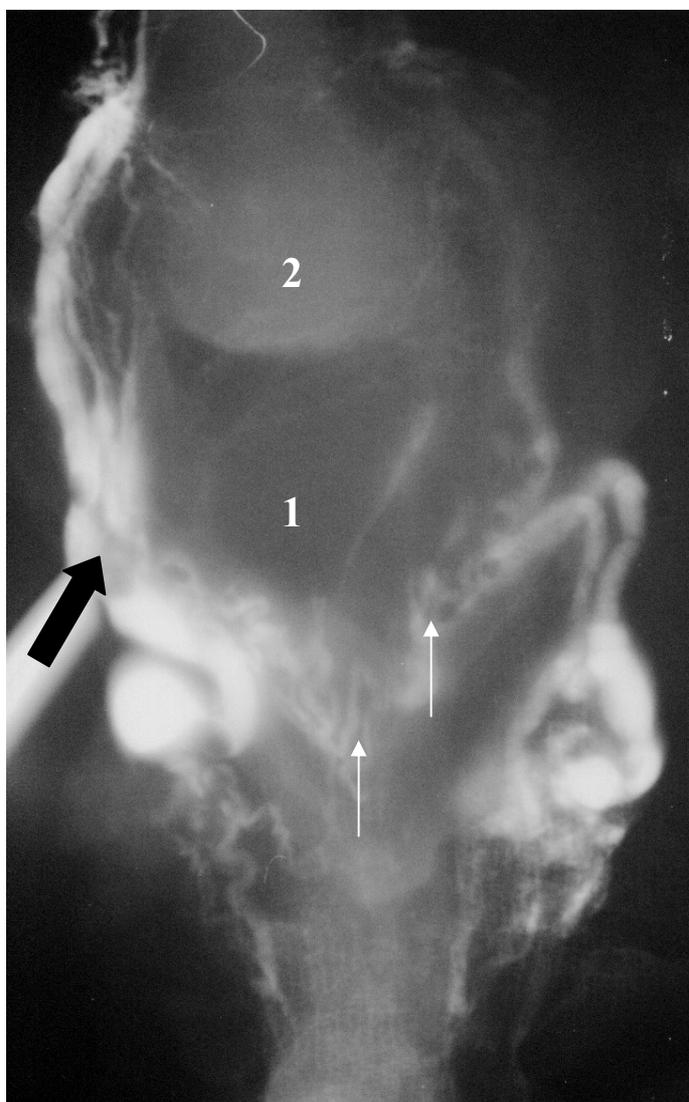


Figura 2 - Lâmina Radiográfica de um órgão genital de fêmea bovina (vista ventral), indicando o ramo da veia vaginal (seta larga) em que foi realizada a infusão do contraste (sentido cranial ao órgão). As setas (→) indicam as anastomoses venosas nas regiões caudais ao local da infusão. 1= vagina; 2= abertura caudal da cérvix.

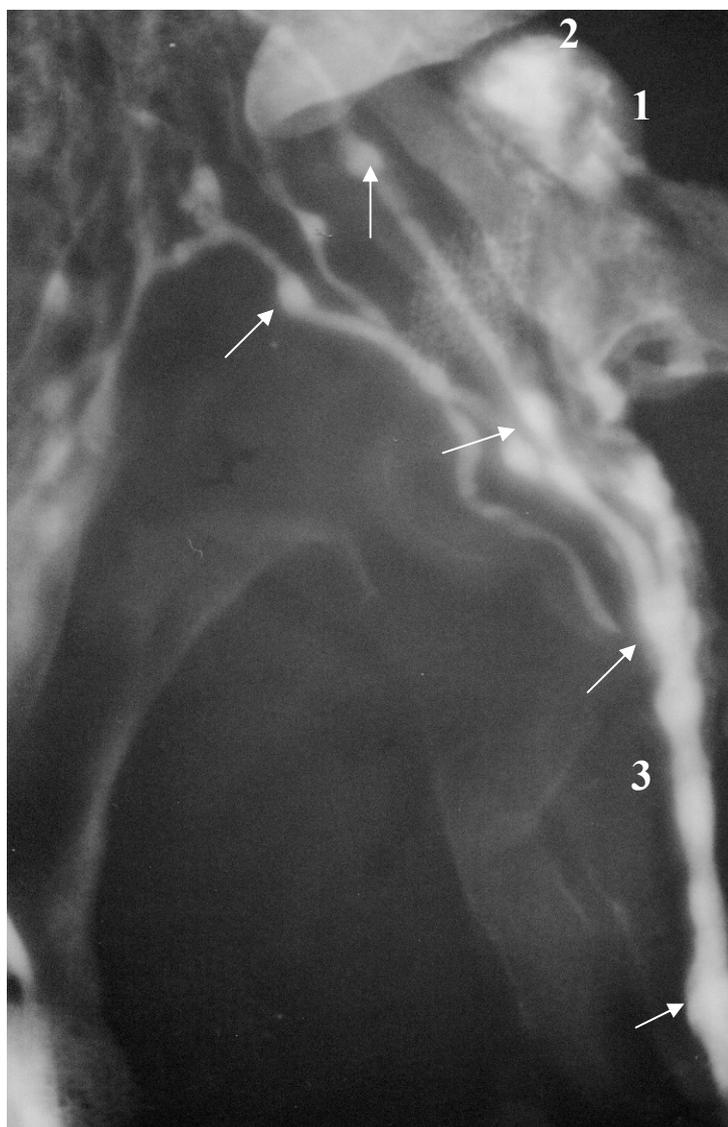


Figura 3 – Lâmina Radiográfica de um órgão genital de fêmea bovina (vista ventral), infundido com contraste radiográfico em um único ramo da veia vaginal, no sentido cranial ao órgão. 1= Ovário, 2= Corpo Lúteo, 3= Veia útero-ovariana (veia ovariana). As setas (→) indicam as valvas da veia ovariana e dos ramos uterinos da veia ovariana.

#### 4. CONCLUSÕES

As doses de Cloprostenol Sódico, diminuídas de 50% da convencional, utilizadas nas vias intramuscular (IM) ou submucosa vulvar (IVSM) apresentam efetividade na sincronização do estro e eficiência em induzir a queda das concentrações de progesterona.

O intervalo de aplicação ao estro não é influenciado pela rota ou dose de cloprostenol, e sim pela fase de diestro em que o animal se encontra no momento do tratamento.

Os órgãos genitais de fêmeas bovinas apresentam anastomoses entre os ramos da veia vaginal e as veias que drenam a cérvix, corpo e cornos uterinos, sugerindo que parte da dosagem de agentes luteolíticos administrados via IVSM pode ser transportada diretamente ao útero e, por conseguinte ao ovário por uma rota local sem passar pela circulação sistêmica.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADAMS, G.P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization and superstimulation. *Theriogenology*, v.41, p.19-24, 1994.

ALI, A., LANGE, A., GILLES, M., GLATZEL, P.S. Morphological and functional characteristics of the dominant follicle and corpus luteum in cattle and their influence on ovarian function. *Theriogenology*, v. 56, p. 569-576, 2001.

ALVAREZ, R.H., MEIRELLES, C.F., AMBROSANO, G.M.B., OLIVEIRA, J.V., POZZI, J.R. The use of lower doses of prostaglandin analogue, cloprostenol, for oestrus synchronization in heifers. *Animal Reproduction Science*, v.25, p. 93-96, 1991.

ALVAREZ, R.H., MEIRELLES, C.F., OLIVEIRA, J.V., POZZI, J.R., JUNIOR, F.G.C. Indução de cio e luteólise em novilhas tratadas com uma mini-dose de cloprostenol administrada pela via intramuscular ou intravulvosubmucosa. *Boletim Indústria Animal*, v.46, n. 1, p. 37-44, 1989.

ASSEY, R.J., PURWANTARA, B., GREVE, T., HYTTEL, P., SCHMIDT, M.H. Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis. *Theriogenology*, v.39, p. 1321-1330, 1993.

BAIRD, D.T. Lutetropic control of the corpus luteum. *Animal Reproduction Science*, v.28, p. 95-102, 1992.

BARSUTO-KUBA, V.M., DE LA TORRE, S.F., VALENCIA, S.F., GONZALEZ, P.E. Effect of different routes and doses of PGF<sub>2</sub>-alpha in the fertility of F-1 zebu cattle. Proc. Int. Cong. Anim. Reprod. *Animal Reproduction Science*. v.28, n.3, p.305, 1992.

BATTOCHIO, M.; GABAI, G.; MOLLO, A.; VERONESI, M.C.; SOLDANO, F.; BONO, G.; CAIRLI, F. Agreement between ultrasonographic classification of the

CL and plasma progesterone concentration in dairy cows. *Theriogenology*, v.51; 1059-1069, 1999.

CALLEJAS, S.; CABODEVILA J.; ALBERIO R.; DORAY J.; CATALANO R.; TERUEL M.; PEREZ-ZANGARI G. Estudio del efecto luteolítico de una dosis reducida de cloprostenol, benzoato de estradiol y la combinación de ambos. *Revista Argentina de Producción Animal*, v. 15, n.3-4, p, 1024-1025, 1995.

CHOHAN, K. R. Estrus synchronization with lower dose of PGF $2\alpha$  and subsequent fertility in subestrous buffalo. *Theriogenology*, v.50, p.1101-1108, 1998.

CHOHAN, K.R., IQBAL, J., ALI, M., MAHMOOD, T. Luteolytic response of prostaglandin $2\alpha$  at reduce dose via intra-vulvo-submucosal route in nili-ravi buffaloes. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 13, n. 1, p. 40-41, 1993.

COLAZO, M.G., MARTINEZ, M.F., KASTELIC, J. P., MAPLETOFT, R.J. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. *Animal Reproduction Science*, v.2295, p. 1-16, 2002.

COSTA, D.S.; HENRY, M.; WHITHE, C.R. Sincronização de cio em vacas zebu com etiproston. *Hora Veterinária*, n.117, p.23-25, 2000.

Dados Bioclimáticos:

disponível em: <http://www.citybrazil.com.br/rj> (acesso em 15/03/03).

disponível em: <http://www.citybrazil.com.br/mg> (acesso em 15/03/03).

Disponível em:<http://www.pmnf.rj.gov.br/dadosgerais/index.htm> (acesso em 24/03/2003).

DEL CAMPO, C.H., GINTHER, O.J. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: horses, sheep, swine. *American Journal Veterinary Research*, v.34, n. 3, p. 305-316, 1973a.

DEL CAMPO, C.H., GINTHER, O.J. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and unilateral luteolytic effect of the uterus: angioarchitecture in sheep. *American Journal Veterinary Research*, v.34, n.11, p. 1377-1386, 1973b.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Tratado de Anatomia Veterinária, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 567p., 1990.

ETHERINGTON, W.G., KILMER, B.A., BURKE, J.E., MONTGOMERY, M.E., WILSON, D.C. Pregnancy rates related to stage of estrous cycle at prostaglandin treatment in an embryo transfer recipient herd. *Theriogenology*, v.25, n.6, p. 845-853, 1986.

FERNANDES, C.A.C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n.3, p. 263-266, 1999.

FERNANDES C. A .C., TORRES, C. A .A ., COSTA, E.P. Comparação entre doses e vias de aplicação de cloprostenol para sincronização de estro em bovinos. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v.18, n. 3-4, p. 105-109, 1994.

FERREIRA, A.M. & TORRES, C.A.A. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.28, p.411-418, 1993.

FERREIRA S.A., VANE, J.R. Prostaglandins: their disappearance from and release into the circulation. *Nature*, v. 216, p. 868-873, 1967.

GINTHER, O. J. Comparative anatomy of uteroovarian vasculature. *Veterinary Scope*, [16,17] XX (1), p. 1-17, 1976.

GINTHER, O.J., DEL CAMPO, C.H. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: areas of close apposition between the ovarian artery and vessels which contain uterine venous blood in sheep. *American Journal Veterinary Research*, v.34, n.11, p. 1387-1393, 1973.

GINTHER, O.J., DEL CAMPO, C.H. Vascular anatomy of the uterus and varies and the unilateral luteolytic effect of the uterus: cattle. *American Journal Veterinary Research*, v.35, n.2, p.193-203, 1974.

GINTHER, O.J., KNOPF, L., KASTELIC, J.P. J. Temporal Associations Among Ovarian Events In Cattle During Oestrus Cycles With Two And Three Follicular Waves. *Journal Reproduction Fertility*, v. 87, p. 223-230, 1989.

HEERSCHER JR, G., NEBEL, R.L. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *Journal Dairy Science*, v. 77, p. 2754-2761, 1994.

HEUWIESER, W., OLTENACU, P. A ., LEDNOR, A .J., FOOTE R.H. Evaluation of different protocols for prostaglandin synchronization to improve reproductive performance in dairy herds with low estrus detection efficiency. *Journal Dairy Science*, v.80, p. 2766-2774, 1997.

HOLY, L. Submucous Vestibulo-Vaginal Implantation of Cloprostenol (Oestrophan Spofa) To Cows, As Related To Oestral Activity, Conception And Progesterone Levels In Milk. *Veterinarni Medicina*, v. 29, n. 9, p. 513-519, 1984.

HORTA, A . E. M., COSTA, C.M.S.G., ROBALO SILVA, J., RIOS VASQUES, M.I. Possibility of reducing the luteolytic dose of cloprostenol in cyclic dairy cows. *Theriogenology*, v.25, n.2, p. 291-301, 1986.

HOWELL, J.L.; FUQUAY, J.W., SMITH, A.E. Corpus Luteum growth and function in lactating Holstein cows during Spring and Summer. *J. Dairy Sci*, v.77; p.735-739, 1994

Instituto Nacional de Meteorologia:

disponível em: [http:// www.inmet.gov.br/produtos](http://www.inmet.gov.br/produtos) (acesso em 01/02/03).

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. *Nomina anatomica veterinaria*. 4.ed. Zurich, 1994. (Together with *nomina histológica*, 2.ed., 1992 and *nomina embriologica veterinaria* 1992).

KASTELIC, J.P., GINTHER, O. J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Animal Reproduction Science*, v. 26, p. 13-24, 1991.

KASTELIC, J.P., KNOPF, L., GINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandinF2 $\alpha$  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Animal Reproduction Science*, v.23, p. 169-180, 1990.

KHARCHE S.D., DUTT TRIVENI, ANSARI M.R., MOHANTY, T.K., MAJUMDAR, A., TANEJA, V.K. Estrus Synchronization and Superovulation Response with PMSG in Crossbred Cows. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 66, p. 49-51, 1996.

LEVY, N., KOBAYASHI, S., ROTH, Z., WOLFENSON, D., MIYAMOTO, A., MEIDAN, R. Administration of prostaglandinF2 $\alpha$  during the early bovine luteal phase does not alter the expression of ET-1 and its type A receptor: a possible cause for corpus luteum refractoriness. *Biology of Reproduction*, v, 63, p. 377-382, 2000.

MACMILLAN, K.L., HENDERSON, H.V. Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2 $\alpha$  to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v. 6, p. 245-254, 1983.

MILVAE, R. A., HINCKLEY, S. T., CARLON, J. C. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. *Theriogenology*, v. 45, p. 1327-1349, 1996.

MISHRA, U.K., MISHRA, O. P. Induction of estrus and multiple ovulation by administration of cloprostenol and super-ov through intra-vulvo submucosal (IVSM)

route and embryo transfer in Sahiwal cows. *Indian Journal of Animal Sciences*, v.68, n. 5, p.450-453, 1998.

MIYAMOTO, A. Intraluteal mechanisms involved in prostaglandinF2 $\alpha$ -induced luteolysis in Ewes. *Journal of Reproduction and Development*, v.42, suppl, p.61-63, 1996.

MOMONT, H.W. Influence of day of estrous cycle on response to PGF2 $\alpha$  products: implications for AI programs for dairy cattle. Proc. Int. Cong. Anim. Reprod. *Animal Reproduction Science*. v.28, n.3, p.327, 1992.

NAPOLEAN, R.E., THEJOMOORTY, P., SUNDARARAMAN, M.N., GAJENDRAN, K., PATTABIRAMAN, S.R. Estrus synchronization and conception rate in crossbred cows with prostaglandin F2 $\alpha$  using two routes of administration. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 68, n. 6, p. 561, 1998.

NISWENDER, K.D., BRADEN T.D., NISWENDER, G.D. Nuclear changes in ovine luteal cells in response to PGF2 $\alpha$ . Sawyer, H.R., *Domestic Animal Endocrinology*, v.7, n. 2, p. 229-238, 1990.

NOVAES, A.S.; VALE FILHO, V.R.; CARVALHO, J.C.C. Sincronização de cio em novilhas e vacas holandesas-PB pelo uso de Cloprostenol em dose reduzida via submucosa vulvar. In: IX CONGRESSO BRAS. REPROD. ANIMAL, 1991, *Anais...* Belo Horizonte-M.G., p.347.Resumo, 1991.

OHTANI, M.; KOBAYASHI, S.; MIYAMOTO, A.; HAYASHI, K., FUKUI, Y. Real-time relationships between intraluteal and plasma concentrations of endothelin, oxytocin, and progesterone during prostaglandinF2 $\alpha$ - induced luteolysis in the cow. *Biology of Reproduction*, v.58, p. 103-108, 1998.

ONO, H.,FUKUI, Y., TERAWAKI, Y., OHBOSHI, K., YAMAZAKI, D. An intravulvosubmucous injection of prostaglandinF2 $\alpha$  in anoestrous cows. *Animal Reproduction Science*, v. 5, p. 1-5, 1982.

PATE, J. L. J. Cellular components involved in luteolysis. *Journal Animal Science*, v.72, p. 1884-1890, 1994.

QUIRK, S.M., HICKEY, G.J., FORTUNE, J.E. Growth and regression of ovarian follicles during follicular phase of the estrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF $2\alpha$ -induced luteolysis. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 77, p. 211-219, 1986.

RAO, C.V., ESTERGREEN, F.R., CARMAN, JR., MOSS, G.E. Receptors for Gonadotrophin and Prostaglandin F $2\alpha$  In Bovine Corpora Lutea Of Early, Mid And Late Luteal Phase. *Acta Endocrinologica*, v.91, p.529, 1979.

RAO, K.H. & RAO,A.V.N. Luteolytic effect of a small dose of cloprostenol administred via intravulval route in riverine buffaloes. In: PROCEEDINGS OF II WORLD BUFFALO CONGRESS HELD IN INDIA during 12-16 December 1988 (volume III). *Physiology and Reproduction*, p. 159-161, 1990.

RIBEIRO JÚNIOR, I. Análises Estatísticas no SAEG. Viçosa: Editora UFV, 2001. 301p.

SAKAMOTO, K., MIWA, K., EZASHI, T., OKUDA-ASHITAKA, E., OKUDA, K., HOUTANI, T., SUGIMOTO, T., ITO, S., HAYAISHI, O. Expression of mRNA encoding the prostaglandinF $2\alpha$  receptor in bovine corpora lutea throughout the oestrous cycle and pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 103, p. 99-105, 1995.

SAMPAIO, I.B.M. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. 2ªed. Belo Horizonte. FUNDAÇÃO DE ENSINO E PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA. 2002. 263p.

SOUZA, A.L., MARIANA, A.N.B. Estudo Da Origem E Distribuição Das Artérias Do Útero Em Fetos De Búfala Sem Raça Definida (*Bubalus Bubalis*, Linnaeus, 1758). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.35, n.5, p.201-204, 1998.

SPELL, A.R., BEAL, W.E., CORAH, L.R., LAMB, G.C. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, v.56, p. 287-297, 2001.

SPINOSA, H.S., GÓRNIAK, S.L., BERNARDI, M.M. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. 1997.545p.

STEVENS, R.D., SEGUIN, B.E., MOMONT, H.W. J. Evaluation of the effects of route of administration of cloprostenol on synchronization of estrus in diestrous dairy cattle. *American Veterinary Medical Association*, v.207, n.02, p.214-216, 1995.

STEVENSON, J.S., LAMB, G.C., KOBAYASHI, Y., HOFFMAN, D.P. Luteolysis during two stages of the estrous cycle: subsequent endocrine profiles associated with radiotelemetrically detected estrus in heifers. *Journal Dairy Science*, v. 81, p. 2897-2903, 1998.

STEVENSON, J.S., SCHMIDT, M.K., CALL, E.P. Stage of estrous cycle, time of insemination, and seasonal effects on estrus and fertility of holstein heifers after prostaglandin  $f2\alpha$ . *Journal Dairy Science*, v. 67, p. 1798-1805, 1984.

TANABE, T.Y., HANN, R.C. Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin  $F2\alpha$ . I. influence of stage of cycle at treatment. *Journal of Animal Science*, v. 58, p. 805-811, 1984.

THATCHER, W.W., CHENAULT, J.R. Reproductive physiological responses of cattle to exogenous prostaglandin  $F2\alpha$ . *Journal of Dairy Science*, v.59, n.7: 1366-1375, 1976.

TSAI, S., WILTBANK, M.C. Prostaglandin  $F2\alpha$  induces expression of prostaglandin G/H Synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. *Biology of Reproduction*, v.57, p.1016-1022, 1997.

TSAI, S., WILTBANK, M.C. Prostaglandin F2 $\alpha$  regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biology of Reproduction*, v. 58, p. 346-352, 1998.

VACA, L.A., GALINA, C., FERNANDEZ-BACA, S., ESCOBAR, J., RAMIREZ, B. Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrous cycle in zebu cows. *Theriogenology*, v.20, n.01, p.67-76, 1983.

VIANA, J.H.M., FERREIRA, A.M., SÁ, W.F., CAMARGO, L.S.A. Regressão luteal e dinâmica folicular após luteólise natural ou induzida por cloprostenol em vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n.3, p. 257-262, 1999a.

VIANA, J.H.M., FERREIRA, A.M., SÁ, W.F., CAMARGO, L.S.A. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n.3, ver p. 251-256, 1999b.

VIANA, J.H.M., TORRES, C. A . A., FERNANDES, C.A .C., FERREIRA, A . M. Relação do diâmetro folicular com resposta à sincronização de estro em novilhas. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v.21, n.4, p.15-21, 1997.

WATTS, T.L., FUQUAY, J.W. Response and Fertility of Dairy Heifers Following Injection with Prostaglandin F2 $\alpha$  during Early, Middle or Late Diestrus. *Theriogenology*, v. 23, p.655-661, 1985.

WEBB, R., WOAD, D.G., ARMSTRONG, D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domestic animal endocrinology*, v. 5339, p. 1-9, 2002.

#### **4. CONCLUSÕES GERAIS**

As doses de Cloprostenol Sódico, diminuídas de 50% da convencional, utilizadas nas vias intramuscular (IM) ou submucosa vulvar (IVSM) apresentam efetividade na sincronização do estro e eficiência em induzir a queda das concentrações de progesterona.

A fertilidade do estro induzido, em receptoras de embrião, não é afetada pela redução da dose de Cloprostenol Sódico em 50%.

O intervalo de aplicação ao estro não é influenciado pela rota ou dose de cloprostenol, e sim pela fase de diestro em que o animal se encontra no momento do tratamento.

Os órgãos genitais de fêmeas bovinas apresentam anastomoses entre os ramos da veia vaginal e as veias que drenam a cérvix, corpo e cornos uterinos, sugerindo que parte da dosagem de agentes luteolíticos administrados via IVSM pode ser transportada diretamente ao útero e, por conseguinte ao ovário por uma rota local sem passar pela circulação sistêmica.