

JOSÉ ROGÉRIO MOURA DE ALMEIDA NETO

**ESTRÓGENO EXÓGENO PARA INDUÇÃO DO
COMPORTAMENTO DE ESTRO NO INÍCIO DO CICLO ESTRAL
EM VACAS LEITEIRAS**

Dissertação 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
2008**

JOSÉ ROGÉRIO MOURA DE ALMEIDA NETO

**ESTRÓGENO EXÓGENO PARA INDUÇÃO DO
COMPORTAMENTO DE ESTRO NO INÍCIO DO CICLO ESTRAL
EM VACAS LEITEIRAS**

Dissertação 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: 26 de setembro de 2008

Prof. Ademir de Moraes Ferreira
(Co-orientador)

Prof. Tarcizio Antônio Rêgo de Paula
(Co-orientador)

Prof. José Domingos Guimarães

Prof. Wanderlei Ferreira de Sá

Prof. Eduardo Paulino da Costa
(Orientador)

Dedico

Primeiramente a Deus, sem ele nada disso seria possível...

Aos meus Pais, que sempre me ajudaram, sempre que precisei estiveram do meu lado...

Aos meus Irmãos, por sempre estarem torcendo pelo nosso sucesso...

A minha Noiva que me ajudou desde o início...

A dois grandes mestres que eu tenho na vida o Professor Ademir e o Professor Eduardo...

MUITO OBRIGADO

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por mais essa vitória, pela força concedida na realização dos meus sonhos.

Agradecimento especial aos meus pais José Rogério e Maria de Fátima, que acreditaram no meu sonho e estiveram sempre ao meu lado, acompanhando-me a cada degrau superado rumo a esta realização.

Aos meus irmãos Rafael e Maria Elisa, que apesar da distância estão sempre torcendo por mim.

À Valesca, que apesar da distância, esteve sempre ao meu lado, apoiando-me e dando-me forças para a realização desse curso, além de me ajudar até na realização do experimento.

À Universidade Federal de Viçosa e o departamento de Medicina Veterinária, pelo acolhimento para a realização de mais este curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Eduardo Paulino da Costa, pela orientação, pelos ensinamentos e, principalmente, pela amizade.

Ao professor Ademir de Moraes Ferreira, pela orientação, pelos ensinamentos e, principalmente, pela amizade desde os tempos da graduação.

Aos membros da banca, Wanderlei Ferreira de Sá, José Domingos Guimarães e Tarcizio Antônio Rêgo de Paula pela honrosa participação na defesa e pelas sugestões valiosas, que contribuíram para o engrandecimento deste trabalho.

A EMBRAPA GADO DE LEITE na pessoa de seus Pesquisadores Wanderlei Ferreira de Sá e Célio de Freitas, pela parceria, que nos permitiram desenvolver os trabalhos na Fazenda Experimental de Santa Mônica.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Santa Mônica da Embrapa, nas pessoas de Shim, Adilson, Assis, Jonathan (estagiário) e Sidney, pela companhia e pelo auxílio.

Aos Pequenos Produtores de leite, que são um estímulo a mais para continuar nesta estrada...

Aos amigos e colegas do curso de Pós-graduação: Rafael, Giancarlo, Flávio, Gustavo, Leonardo, Erick, Bruno, Morgana, André Ricardo, pela agradável convivência, pela amizade e auxílios prestados.

À Rosi, secretária da Pós-graduação da Veterinária, pelo acolhimento, orientações e pela amizade construída ao longo do curso.

Se hoje comemoro mais uma conquista, esta se deve a vocês que estiveram ao meu lado em todos os momentos, que fizeram de meus sonhos seus próprios objetivos e de meus objetivos sua própria luta. Neste momento de alegria, no qual celebro o final de uma etapa da Pós-Graduação (Mestrado), agradeço a todos vocês que, pela amizade ou pelo simples convívio, me apontaram o caminho. A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, que, para mim, é mais que um trabalho e, sim, sonho, o meu muito obrigado.

BIOGRAFIA

JOSÉ ROGÉRIO MOURA DE ALMEIDA NETO, filho de Jose Rogério Moura de Almeida Filho e Maria de Fátima de Almeida, nasceu na cidade de Valença, Rio de Janeiro, em 30 de junho de 1983.

Em fevereiro de 2000, ingressou no Faculdade de Medicina Veterinária de Valença -RJ., graduando-se em Medicina Veterinária, em julho de 2005.

Em outubro de 2006, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, a nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, tendo defendido dissertação em 06 de outubro de 2008.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Bases fisiológicas do ciclo reprodutivo e função ovariana.....	3
2.2. Dinâmica do crescimento folicular ovariano	3
2.3. Controle do crescimento e do desenvolvimento folicular	4
2.4. Formação do corpo lúteo (luteogênese)	5
2.4.1. Alterações morfológicas	5
2.4.2. Alterações bioquímicas e endócrinas.....	7
2.4.3. Características morfológicas do corpo lúteo	8
2.4.4. Produção de progesterona.....	8
2.5. Prostaglandina.....	9
2.5.1. Considerações Gerais	9
2.5.2. Mecanismo de ação da PGF2 α no corpo lúteo jovem e maduro.....	10
2.6. Ação luteolítica do estradiol	14
2.7. Encurtamento do ciclo estral e/ou prolongamento da fase estrogênica e seu benefício na melhora da eficiência reprodutiva	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Localização	18
3.2. Delineamento Experimental	18
3.3. Avaliação ultra-sonográfica e parâmetros avaliados	19
3.4. Coleta sangue e dosagens de progesterona.....	20
3.5. Análise estatística	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

RESUMO

ALMEIDA NETO, José Rogério Moura de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2008. **Estrógeno Exógeno para Indução do Comportamento de Estro no Início do Ciclo Estral em Vacas Leiteiras.** Orientador: Eduardo Paulino da Costa. Co-orientadores: Ademir de Moraes Ferreira e Wanderlei Ferreira de Sá .

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do estrógeno exógeno, em fase precoce do ciclo estral, na redução do intervalo de estros. O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Santa Mônica (CESM). Foram utilizadas 16 vacas mestiças holandês-zebu, distribuídas em dois grupos em função do hormônio utilizado (estradiol). Estes animais apresentavam escore corporal $\geq 3,0$ (escala de 1 a 5), não-lactantes, com peso vivo médio de 458 Kg. Animais estavam ciclando regularmente, foram selecionados por meio de exame ginecológico (palpação retal e vaginoscopia), sendo utilizados no experimento aqueles sem qualquer alteração clínica ou reprodutiva. As vacas foram incluídas ao acaso nos respectivos tratamentos. Tratamento 1: oito vacas receberam 2,5 mL de Cipionato de estradiol no 1º dia do ciclo estral, via intramuscular (IM), na região da garupa, com agulha 25 X 0,7 mm, (considerando dia 0 o dia do estro). Tratamento 2 (Testemunha): oito vacas sem tratamento constituíram o grupo controle. A manifestação de estro foi monitorada visualmente durante uma hora por três vezes ao dia. Os exames ultra-sonográficos foram realizados por via transretal. As medições tiveram início no dia do estro e foram feitas diariamente pela manhã, por um único operador. Foram registrados o diâmetro máximo do maior e do segundo maior folículo presente em cada ovário. As características morfológicas do corpo lúteo foram avaliadas diariamente ao longo do ciclo estral, medindo-se a área da seção transversal (cm²). As coletas de sangue para as dosagens de progesterona tiveram início no dia do estro (dia 0) e foram realizadas a cada três dias até o próximo estro. Todos os animais que receberam estrógeno no 1º dia após o estro, manifestaram os sinais característicos de estro (psíquicos,

útero túrgido e muco abundante) um dia após o tratamento. Verificou-se ainda que seis desses animais apresentaram esses sinais por dois dias consecutivos. Esta redução do intervalo de estro para apenas dois dias pode favorecer a eliminação de bactérias do útero (quando presentes), aumentando, conseqüentemente, a eficiência reprodutiva. Sabe-se que algumas alterações que ocorrem no estro podem favorecer a eliminação de infecções uterinas (clínicas ou subclínicas), sendo que a redução no intervalo desses é indicada para tratamento destas patologias. Excetuando o dia da emergência da 1ª onda folicular, todas as outras variáveis estudadas (número e comprimento de ondas, características dos folículos dominantes e subordinados, assim como os parâmetros relacionados ao corpo lúteo e produção de progesterona) não foram afetadas pela aplicação de estrógeno um dia após o estro. No presente experimento, a dinâmica folicular das vacas mestiças (Holandês X Zebu) apresentou padrão de duas ou três ondas de crescimento folicular, independente do tratamento com estrógeno, sendo a mesma para os animais do grupo tratado e controle (37,5 de ciclos com duas ondas e 62,5% com três). A aplicação de Cipionato de Estradiol em vacas mestiças (Hol X Zebu), um dia após o estro natural promove o aparecimento de sinais de estro (psíquicos, útero túrgido e muco abundante) dois dias após o estro natural, sem afetar o ciclo estral subsequente.

ABSTRACT

ALMEIDA NETO, José Rogério Moura de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, september, 2008. **Use of exogenous estrogen for the induction of estrus behavior at the beginning of estrous cycle in dairy cows.** Adviser: Eduardo Paulino da Costa. Co-advisers: Ademir de Moraes Ferreira and Wanderlei Ferreira de Sá.

The objective of this work was to check the exogenous estrogen, in early phase of estrous cycle, on the range of estrus reduction. The experiment was conducted in Campo Experimental Santa Mônica (CESM). Sixteen Holstein-zebu crossbred cows were used, distributed in two groups, according to the used hormone (estradiol). These animals had body score $\geq 3,0$ (scale of 1 to 5), were non-lactating, with average live weight of 458 kg. Animals cycling regularly were selected by gynecological exam (rectal palpation and vaginoscopic examination). The animals without any clinical or reproductive alterations were used in the experiment. The cows were casually included in their treatments. Treatment 1: eight cows received 2,5 mL of estradiol cypionate at the first day of the estrous cycle (considering day 0 the estrus day), intramuscularly (IM) injected into the hip region, with a 25 X 0,7 mm needle. Treatment 2 (control): eight cows without treatment constituted the control group. The expression of estrus was monitored visually during one hour, three times a day. The ultrasound scans were conducted via transrectal. The measurements began at the estrus day and were done daily in the morning by a single operator. The diameters of the biggest and the second biggest follicles in each ovary were registered. The morphologic characteristics of the corpus luteum were evaluated daily during the estrous cycle, measuring the cross-sectional area (cm²). The blood collections for the measurements of the levels of progesterone began at the estrus day (0 day) and were conducted once every three days until the next estrus day. All the animals that received estrogen at the first day after the estrus showed the estrus signals (psychics, turgid uterus and abundant mucus) the next day. It was observed that six animals showed these signals for two consecutive days. This reduction of the range of estrus for two days can promote the elimination of uterus bacteria (if

present), enhancing, consequently, the reproductive capacity. It's known that some estrus alterations can promote the elimination of in-uterus infections (clinical or sub clinical), and the reduction of the range of estrus is indicated for the treatment of such diseases. Except for the day of the first follicular wave emergence, all the other studied variables (number and wave length, characteristics of dominant and subordinate follicles and the parameters related to the corpus luteum and progesterone production) weren't affected by the application of estrogen the day after the estrus. In this experiment, the follicular dynamic of the crossbred cows (Holstein X Zebu) showed a two or three follicular wave growth pattern, regardless of the treatment with estrogen and was the same to the treated and control groups (37,5% with two wave cycles and 62,5% with three wave cycles). The application of estradiol cipionate in crossbred cows (Holstein X Zebu) the day after the natural estrus promote the emergence of estrus sign (psychic, turgid uterus and abundant mucus) two days after the natural estrus, without affecting the next estrous cycle.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a importância social e econômica do leite é inquestionável. A busca de sistema de produção economicamente eficiente é constante. Atualmente, percebe-se uma grande tendência para a adoção de sistemas de produção leite a pasto com fêmeas bovinas mestiças (Holandês x Zebu), visando reduzir o uso de concentrado e, conseqüentemente, o custo de produção. Assim, pesquisas com animais mestiços atendem a um número expressivo de produtores.

Em qualquer sistema de produção de leite adotado, a frequência de partos nos rebanhos é o fator de maior importância para a eficiência da atividade, pelo seu efeito direto na produção de leite e de bezerras. O atraso na concepção de uma fêmea bovina aumenta o custo de produção e afeta o desempenho econômico. Neste contexto, as infecções uterinas representam um dos principais fatores de infertilidade e/ou esterilidade em vacas leiteiras, contribuindo para o alongamento do intervalo de partos, juntamente com a falha na identificação de estro, anestro e outras doenças infecciosas e metabólicas (Ferreira & Sá, 1987).

Sabe-se que nos bovinos, o estrógeno possui efeito luteolítico, em determinadas fases do ciclo estral (Roberts, 1986), e que o endométrio sob ação da progesterona tem seus mecanismos de defesa reduzidos. Ao contrário, concentrações plasmáticas e uterinas elevadas de estrógenos aumentam a ação do sistema imune (Paisley, 1986; Dhaliwal *et al.*, 2001).

Métodos para sincronizar, antecipar ou atrasar o aparecimento do estro têm sido desenvolvidos e utilizados em muitos rebanhos leiteiros e de corte, visando facilitar e tornar mais eficiente o manejo reprodutivo. Os protocolos mais comumente usados em vacas leiteiras para sincronização ou antecipação do estro têm como base a utilização de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}). Estudos têm mostrado que a PGF_{2α} pode reduzir o intervalo de estros (em vacas com atividade ovariana luteal cíclica), auxiliando na recuperação de processos infecciosos do útero (clínicos ou subclínicos), melhorando conseqüentemente a eficiência reprodutiva de rebanhos leiteiros (Ferreira, 1980; Heuwieser *et al.*, 2000; Dhaliwal *et al.*, 2001; Ferreira, 2003). Com base nestas informações,

conclui-se que quanto mais precoce for a luteolise no ciclo estral, menos tempo o animal permanecera em fase progesterônica, o que é desejável para casos de infecção uterina em vacas com atividade ovariana luteal cíclica (AOLC). No entanto, a $\text{PGF2}\alpha$ não regride o corpo lúteo com menos de cinco dias após o estro (Vasconcelos, 2000; Moore & Thatcher, 2006).

Utilizando a $\text{PGF2}\alpha$ no precoce ciclo estral, consegue-se redução do intervalo de estros de 21 para sete a oito dias. Entretanto, não foi encontrado na literatura pesquisada métodos alternativos no intuito de reduzir ainda mais este intervalo, o que seria benéfico no contexto da eficiência reprodutiva, e mais especificamente na melhora do ambiente uterino. Adicionalmente, $\text{PGF2}\alpha$ não induz o estro em vacas com anestro provocado por subnutrição, ocorrendo nas práticas rotineiras de campo um certo equívoco entre induzir e sincronizar o estro. A sincronização somente pode ser efetiva em fêmeas bovinas que apresentam AOLC.

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do estrógeno exógeno, em fase precoce do ciclo estral, na redução do intervalo de estros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Bases fisiológicas do ciclo reprodutivo e função ovariana

Os bovinos são animais poliéstricos anuais (Hafez & Hafez, 2004), ou seja, apresentam vários ciclos estrais ao longo do ano. Ciclo estral é o conjunto de fenômenos ocorridos entre dois estros sucessivos de um mesmo animal. Em fêmeas bovinas o ciclo estral varia de 17 a 25 dias, com intervalos médios de 20 dias para novilhas e 22 dias para vacas (Sirois & Fortune, 1988).

2.2. Dinâmica do crescimento folicular ovariano

O processo de foliculogênese compreende dois estágios, independentes de gonadotrofinas no início e dependentes após determinado diâmetro dos folículos, e pode ser dividida em três fases: *recrutamento*; *seleção* e *dominância* (Driancourt, 1991; Ireland et al., 2000).

O padrão de crescimento folicular nos bovinos ocorre em forma de ondas, onde são recrutados cerca de 5 a 10 folículos em cada ovário (Kastelic, 1994). Um dos folículos recrutados cresce rapidamente (seleção e dominância), enquanto os demais iniciam um processo de atresia (folículos subordinados). O folículo dominante permanece estático por alguns dias, e ao regredir, possibilita o surgimento de uma nova onda de crescimento folicular. Se a fase de dominância coincidir com a regressão do corpo lúteo, o folículo atingirá o estágio pré-ovulatório e provavelmente ovulará (Gong e Webb, 1996a).

Normalmente os ciclos estrais de vacas e novilhas compreendem duas (Ginther et al., 1989; Figueiredo et al., 1995) a três (Sirois e Fortune, 1988; Bo et al., 1993) ondas de crescimento folicular. Para os ciclos de duas ondas, o primeiro folículo dominante é anovulatório e o segundo, ovulatório. No caso de três ondas, apenas o último folículo dominante é ovulatório. O surgimento das ondas de crescimento folicular pode ser detectado nos dias 0 (dia da ovulação) e 10 ou 0, 9 e 16, para os ciclos com duas e três ondas, respectivamente (Ginther et al., 1989). O número de ondas por ciclo estral parece estar associado com o comprimento do ciclo e com a duração da fase luteínica

(Fortune,1993). Isto pode ser demonstrado pelo surgimento de novas ondas de crescimento folicular quando se prolonga a fase luteínica pela administração de progesterona exógena (Fortune et al., 1991).

2.3. Controle do crescimento e do desenvolvimento folicular

O eixo hipotálamo-hipófise-ovário, por meio de suas gonadotrofinas, é fundamental na regulação do desenvolvimento folicular. Todavia, fatores de crescimento como: IFG-I (fator de crescimento semelhante a insulina), EGF (fator de crescimento epidermal), FGF (fator de crescimento de fibroblastos), $TGF\alpha$ e $TGF\beta$ (fator modificador do crescimento), além da inibina e ativina estão relacionados ao controle deste desenvolvimento (Webb & Armstrong, 1998; Hanzen et al., 2000).

O FSH e o LH são os reguladores primários, porém, os estágios iniciais da foliculogênese não são dependentes de gonadotrofinas. O primeiro, é importante para o recrutamento folicular e o segundo, está envolvido na seleção do folículo dominante (Driancourt,1991; Webb & Armstrong, 1998).

A seleção folicular é dada pela produção de substâncias que diminuem a sensibilidade ao FSH, ou pela redução da concentração deste hormônio a um nível insuficiente para manter o desenvolvimento dos folículos menores, mas capaz de manter o crescimento do maior folículo. O folículo dominante produz fatores autócrinos (IGF-I e $TGF\beta$) que o torna mais sensível às menores concentrações de FSH, podendo chegar até a ovulação. Entretanto, a atividade autócrina (EGF, $TGF\alpha$, FGF) dos folículos subordinados os impossibilita de crescerem sob baixas concentrações de FSH, tornando-os atrésicos (Driancourt,1991).

A dominância folicular pode ser morfológica e funcional. Todavia, nem sempre o maior folículo consegue dominar os menores e impedir o surgimento de uma nova onda de crescimento folicular (Fortune, 1993). As ondas aparecem logo após haver um aumento nas concentrações periféricas de FSH (Gong e Webb,1996).

Os esteróides ovarianos e as proteínas foliculares são considerados fatores controladores da foliculogênese, agindo em feed-back para a secreção

de gonadotrofinas. Normalmente o estradiol e a ativina promovem o crescimento e diferenciação folicular, prevenindo a luteinização precoce dos folículos, enquanto os andrógenos, progesterona, inibina e folistatina atuam contrariamente (Findlay et al., 1996). A produção e a proporção de esteróides ovarianos são importantes na determinação da integridade ou atresia folicular. Os elevados níveis de estradiol indicam normalidade dos folículos em crescimento. A alteração na razão estrógeno:andrógeno relaciona-se com a atresia folicular.

O hormônio de crescimento (GH), a insulina e o IGF-I, podem afetar a função ovariana por ação direta sobre as células tecais e da granulosa, onde amplificam a ação hormonal das gonadotrofinas (Adashi, 1992; Webb & Armstrong, 1998), sem contudo ocorrer aumento nas concentrações plasmáticas (Gong et al., 1991), e no número de receptores ovarianos para estas gonadotropinas (Gong et al., 1991; 1993a; Chalupa et al., 1997; Webb & Armstrong, 1998).

2.4. Formação do corpo lúteo (luteogênese)

O corpo lúteo nas fêmeas bovinas é a principal fonte de progesterona circulante, e a função luteal é responsável pela duração e regularidade dos ciclos estrais, número de ondas de crescimento folicular, controle da ocorrência de ovulações e manutenção da gestação (Schams, 1996). O corpo lúteo é uma glândula endócrina temporária que funciona durante o diestro nos animais com AOLC ou durante a gestação (González, 2002a). O controle de sua função envolve interações endócrinas dentro do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, participação de fatores moduladores com ação parácrina e autócrina, e a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ endometrial (Schams, 1996).

2.4.1. Alterações morfológicas

O processo de luteinização envolve a transformação de um folículo pré-ovulatório em uma estrutura altamente vascularizada, capaz de secretar grande quantidade de progesterona (Smith *et al.*, 1994). Este processo envolve extenso remodelamento tecidual semelhante ao observado nos processos

cicatriciais e em neoplasias, caracterizado por hiperplasia, hipertrofia e migração celular, e por intensa angiogênese, com migração e proliferação de células endoteliais e desenvolvimento de rede capilar (Luck & Zhao, 1995). A preparação para a formação do tecido luteal e produção de progesterona se inicia antes da ovulação e independe desta. Folículos terciários e cistos foliculares podem sofrer luteinização sem que ocorra ruptura de sua parede (Westfahl, 1993). O processo final de maturação folicular é importante para o posterior desenvolvimento do corpo lúteo (Parkinson *et al.*, 1994).

Após a descarga de LH, as células foliculares passam por modificações morfológicas, endócrinas e bioquímicas associadas à luteinização (Smith *et al.*, 1994). As células da granulosa sofrem hipertrofia, dissociação e retração para a base do folículo e as células do *cumulus* sofrem expansão. As células da teca sofrem hiperplasia, dissociação, migração para a cavidade folicular e dispersão entre células da granulosa (Niswender *et al.*, 1994). As alterações vasculares na teca interna podem ser importantes no aumento do aporte de LH para as células da granulosa (Smith *et al.*, 1994). A congestão e isquemia alternada provocam rompimento de vasos, dando início à angiogênese.

Após a ovulação ocorre o colapso do folículo ovulatório e a invasão de fibroblastos, células endoteliais e células da teca interna. Observa-se um aumento na taxa de proliferação celular nas células da teca, fibroblastos e células endoteliais, mas não nas células da granulosa (Smith *et al.*, 1994). O rompimento de capilares da teca resulta em hemorragia, com formação do coágulo (corpo hemorrágico), que serve de matriz para proliferação das células da parede folicular. A angiogênese resulta no estabelecimento de rede microvascular no corpo lúteo em desenvolvimento. A formação desta rede ocorre sob estímulo de vários fatores angiogênicos que estimulam a proliferação e migração das células endoteliais (Espey, 1994; Schams, 1996).

O corpo lúteo em desenvolvimento pode ser identificado de um a cinco dias após a ovulação, dependendo da técnica utilizada e da raça das fêmeas avaliadas (Tom *et al.*, 1998; Viana *et al.*, 1998b). O volume de tecido luteal aumenta progressivamente até em torno do 7º dia do ciclo estral, permanecendo relativamente estável ao longo do diestro (Kastelic *et al.*, 1990; Viana *et al.*, 1998b). O crescimento do corpo lúteo reflete o processo de hipertrofia das células luteais grandes e hiperplasia das células luteais

pequenas, responsáveis, respectivamente, por 40% e 20% do volume total do corpo lúteo (Wiltbank, 1994). Cavidades luteais são normalmente observadas em 37 a 77% dos corpos lúteos (Viana *et al.*, 1998a), podendo ser originadas de uma ocupação incompleta da cavidade folicular pelas células em processo de luteinização (Tom *et al.*, 1998).

2.4.2. Alterações bioquímicas e endócrinas

A onda pré-ovulatória de LH induz alterações na expressão e regulação das enzimas envolvidas na esteroidogênese (Espey, 1994). A expressão e atividade das enzimas relacionadas à conversão do colesterol em progesterona aumentam, inclusive nas células originadas da granulosa. Por outro lado, as enzimas envolvidas na conversão de progesterona em andrógenos e destes, em estrógenos, têm sua expressão rapidamente reduzida com a luteinização, resultando em uma produção praticamente nula de andrógenos e estradiol 17 β pelo corpo lúteo (Smith *et al.*, 1994).

A concentração plasmática de progesterona é normalmente baixa durante o estro (abaixo de 1ng/mL), mas aumenta progressivamente, refletindo as alterações na esteroidogênese luteal. O pico na produção de progesterona ocorre na metade do período do diestro (Parkinson *et al.*, 1994; Figueiredo *et al.*, 1997). Como o volume do corpo lúteo atinge seu valor máximo antes da concentração máxima de progesterona, a variação na produção desta, observada após o 7º dia do ciclo, parece ser decorrente da maturação funcional do corpo lúteo e não do aumento na massa de tecido luteal (Viana *et al.*, 1998b). Os níveis de progesterona plasmática são virtualmente indetectáveis logo depois da ovulação, mas aumentam gradualmente a partir do 3º dia do ciclo, mantendo-se elevados durante 12 dias (González, 2002a).

A secreção de inibina, característica do folículo pré-ovulatório, é reduzida após ovulação, enquanto a ocitocina começa a ser produzida e armazenada em grânulos nas células originadas da granulosa, sendo um importante produto de secreção do corpo lúteo cíclico (Smith *et al.*, 1994), e de fundamental importância no desencadeamento do mecanismo luteolítico no ciclo estral normal.

2.4.3. Características morfológicas do corpo lúteo

O corpo lúteo é constituído por um conjunto de células heterogêneas com características morfológicas, endócrinas e bioquímicas distintas. Duas populações de células podem ser caracterizadas em bovinos, com capacidade esteroidogênica (parenquimais), que são as *células luteais grandes e pequenas* (Parkinson *et al.*, 1994). Estas células derivam, respectivamente, das células das camadas foliculares da granulosa e da teca (Smith *et al.*, 1994).

As células luteais grandes são esféricas, com 22 a 50µm de diâmetro, e apresentam grande quantidade de organelas e grânulos secretórios (ocitocina) e estão relacionadas à alta capacidade esteroidogênica e de síntese de proteínas. Elas são responsáveis pela maior parte (80%) da produção basal de progesterona, porém apresentam poucos receptores e baixa resposta à estimulação pelo LH (Parkinson *et al.*, 1994; Wiltbank, 1994). Estas células são também responsáveis pela secreção de ocitocina e constituem o sítio primário de resposta à PGF2 α e ao estrógeno (Wiltbank *et al.*, 1995a), representando 40% do volume do corpo lúteo, mas apenas 10% do total das células. As células luteais pequenas têm 12 a 22 µm de diâmetro, participam pouco na produção basal de progesterona, mas apresentam um maior número de receptores e respondem rapidamente à estimulação pelo LH, com aumento na produção de progesterona, representando 20% do volume do corpo lúteo e 25% do total de células (Niswender *et al.*, 1994; Wiltbank, 1994).

Sob ação do LH parte das células luteais pequenas poderia ser convertida em células luteais grandes. Os fibroblastos poderiam formar células luteais pequenas, funcionando como reserva destas (Smith *et al.*, 1994). As células luteais grandes e pequenas atuam de maneira sinérgica na produção de progesterona e podem interagir com as células não esteroidogênicas, por meio da produção local de hormônios, fatores de crescimento e citocinas, no controle do crescimento e função luteal (Wiltbank *et al.*, 1995a).

2.4.4. Produção de progesterona

Os ovários da vaca são a principal fonte de progesterona encontrada no sangue periférico. Após o período de luteogênese, a presença de um corpo lúteo funcional determina a manutenção de valores plasmáticos de progesterona elevados durante todo o diestro, até a ocorrência da luteólise natural, quando a progesterona retorna a níveis basais (Niswender *et al.*, 1994). Nesta fase luteal (4–17 dias), o corpo lúteo secreta significativa quantidade de progesterona, que geralmente excede a concentração de 1ng/mL no dia quatro do ciclo estral (Wiltbank & Niswender, 1992; Gutierrez *et al.*, 1994; Youngquist, 1997; Mapletoft *et al.*, 2000 e Wiltbank *et al.*, 2000).

Tanto as células luteais pequenas quanto as grandes atuam na produção de progesterona. A produção total depende da eficiência na síntese pelas células esteroidogênicas e na taxa de liberação na corrente sanguínea (Kappel *et al.*, 1984). O fornecimento de dietas hiperlipídicas apresenta resultados inconstantes, induzindo (Staples *et al.*, 1998) ou não (Carr *et al.*, 1994) aumento na produção de progesterona pelo tecido luteal. Parte do efeito observado na suplementação lipídica pode ser devida apenas à redução no balanço energético negativo (Staples *et al.*, 1998).

O LH estimula a função esteroidogênica, particularmente nas células luteais pequenas, resultando em aumento na produção de progesterona (Wiltbank, 1994). Parte da produção de progesterona independe do estímulo pelo LH, principalmente nas células luteais grandes, responsáveis pela maior parte da esteroidogênese basal. Outros fatores estão envolvidos na regulação da produção de progesterona, como a ocitocina, PGE₂, insulina, fatores de crescimento e GH (Del Vecchio *et al.*, 1996).

O balanço energético negativo reduz a frequência dos pulsos de LH e a produção de progesterona (Ferguson, 1996), mas não a duração da fase luteal em vacas e novilhas de raças leiteiras (Villa-Godoy *et al.*, 1988). A redução na produção de progesterona pode afetar a regularidade dos ciclos estrais, a concepção e a manutenção da gestação (Ferguson, 1996).

2.5. Prostaglandina

2.5.1. Considerações gerais

As prostaglandinas foram descobertas por Kurzrok & Lieb (1930), que descreveram os efeitos que o sêmem humano exerce sobre o miométrio (González, 2002c). Em 1935, Von Euler, foi o primeiro a identificar o princípio ativo responsável por tais ações, denominando-o de prostaglandina, o qual foi detectada no líquido seminal de carneiros, possivelmente secretada pela próstata (Gonçalves *et al.*, 2002).

Mais tarde, pesquisadores do Instituto Karolinska de Estocolmo, separaram a primeira prostaglandina ($F2\alpha$) na forma pura cristalina, a partir de carneiros e em 1962 conseguiram estabelecer sua estrutura química (González, 2002c).

Embora as prostaglandinas sejam freqüentemente comparadas aos hormônios, as mesmas diferem destes, pois são formadas em quase todos os tecidos e não em glândulas especializadas e, geralmente, agem localmente em vez de serem transportadas pelo sangue até a célula-alvo (Booth & McDonald, 1992). A prostaglandina ativa chega aos ovários pelo mecanismo de contracorrente, o qual transfere a prostaglandina da veia uterovariana para a artéria ovariana, evitando que o hormônio seja inativado. Em condições normais, as prostaglandinas têm uma meia-vida e uma concentração no sangue muito baixas devido à sua grande sensibilidade à oxidação que ocorre no pulmão (Gonçalves *et al.*, 2002).

2.5.2. Mecanismo de ação luteolítica da $pgf2\alpha$ no corpo lúteo jovem e maduro

A luteólise pode ser induzida com uma aplicação única de prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) ou seus análogos sintéticos, somente a partir do 5º dia do ciclo estral (Mapletoft *et al.*, 2000; Moore & Thatcher, 2006), podendo ocasionar rápido declínio da progesterona plasmática para níveis basais dentro de 24 horas (Diskin *et al.*, 2002). Outros autores afirmam que os receptores para $PGF2\alpha$ no corpo lúteo (CL) são refratários à prostaglandina durante os dias 1º a 4º do ciclo estral (Wiltbank & Niswender, 1992; González, 2002a), e que após 6º dia da ovulação uma injeção de $PGF2\alpha$ pode causar regressão do

CL em vacas. Wiltbank *et al.* (2000) afirmam que o CL na fase inicial (antes do dia sete) não regride após o tratamento com prostaglandina F2 α .

A hipótese para a PGF2 α não atuar até um certo tempo após a ovulação é devido a deficiência no número ou na afinidade de receptores. Foi demonstrado que receptores com alta afinidade pela PGF2 α estão presentes em corpos lúteos dois dias após a ovulação (Wiltbank *et al.*, 1995a).

Wiltbank *et al.* (1995b) verificaram em novilhas e vacas em lactação, que a aplicação de PGF2 α antes do dia cinco do ciclo não tem efeito luteolítico, embora haja receptores. Novilhas respondem mais precocemente no ciclo que vacas, esta conclusão baseou-se nos resultados obtidos pelos referidos autores, que são mostrados na Tabela 1, e que são confirmados nos estudos de Wiltbank & Niswender (1992), Youngquist (1997), Mapletoft *et al.* (2000), Wiltbank *et al.* (2000) e González (2002a), segundo os quais o CL não responde à PGF α nos primeiros dias após o estro.

TABELA 1 – Resposta de novilhas e vacas em lactação à PGF2 α

Dia de aplicação da PGF2 α no ciclo estral	Taxa de Resposta à PGF2 α	
	Novilhas	Vacas
3	0 / 27 (0%)	-----
5	11 / 27 (41 %)	0 / 15 (0%)
7	23 / 26 (88 %)	25 / 38 (66 %)
8	-----	31 / 34 (91%)
10	24 / 24 (100%)	21 / 24 (88%)

A maturidade do CL no momento do tratamento com PGF2 α influencia a resposta luteolítica. Assim, a PGF2 α não induz efetivamente a luteólise durante os primeiros cinco ou seis dias após o estro (Momont & Seguin, 1984). No entanto, parece que o CL maduro possui um sistema de retroalimentação positiva, resultando na produção de PGF2 α intraluteal que pode continuar o processo de luteólise iniciado por um único tratamento com PGF2 α exógena (Wiltbank, 1997). Portanto, se este conceito estiver correto e o CL imaturo não possuir o sistema de retroalimentação positiva, então é de se esperar que

injeções múltiplas de $\text{PGF2}\alpha$ possam completar o processo luteolítico nos estágios iniciais do CL (Mapletoft *et al.*, 2000). A este respeito, a luteólise e a ovulação foram induzidas em 56/60 novilhas (93%) injetadas com $\text{PGF2}\alpha$ de manhã e à noite, no 4° ou 5° dia após o estro (Adams *et al.*, 1994).

Assim, pode-se esperar que duas ou mais injeções de $\text{PGF2}\alpha$ induzam a regressão do CL ainda considerado não responsivo (Wiltbank, 1997).

A alta afinidade de receptores para a $\text{PGF2}\alpha$ ocorre principalmente nas células luteais grandes (Wiltbank & Niswender, 1992). As células luteais pequenas secretam grandes quantidades de progesterona quando estimuladas pelo LH (efeito luteotrópico), enquanto que as células luteais grandes, responsáveis pela maior parte da progesterona basal, sofrem inibição da síntese de progesterona por ação da $\text{PGF2}\alpha$ (efeito luteolítico). Essa ação luteolítica é efetivada através das células luteais grandes, embora se aceite que sejam necessários fenômenos de comunicação intercelular entre células luteais grandes e pequenas, bem como, entre células luteais e não luteais, para que a regressão do CL progrida (Milvae *et al.*, 1996).

Segundo González (2002b), o papel do sistema imune no processo da luteólise ainda não está suficientemente esclarecido, sendo objeto de estudo atualmente. Em geral, é aceito que a morte das células luteais pode acontecer por dois mecanismos: *apoptose* ou *necrose*. A primeira se refere a um processo fisiológico, enquanto que a segunda se refere à morte celular patológica. No CL, o fator desencadeante seria a diminuição da secreção de progesterona e/ou a presença de citoquininas.

Para se ter ação da $\text{PGF2}\alpha$, as vacas tem que ter CL funcional (entre 5° e 16° dias do ciclo estral), quando 90 a 95 % das vacas apresentam estro até sete dias após a injeção, e 70 a 90 % desses estros ocorrem entre o 3° e o 5° dia após a $\text{PGF2}\alpha$ (Wiltbank *et al.*, 2000).

As prostaglandinas provocam regressão do CL somente entre o 5° e o 16° dia do ciclo, ou seja, na presença de um CL funcional, causando manifestação de estro e ovulação em um período entre dois a cinco dias após sua administração (Gonçalves *et al.*, 2002). O momento exato entre a administração de prostaglandina e a manifestação do estro vai depender da população e tamanho de folículos no ovário. A mais consistente resposta, ou

seja, a mínima variabilidade no intervalo para o estro, resultou de um tratamento com $\text{PGF2}\alpha$ durante o início do diestro (7 e 8 dias após o estro) e no período final do diestro (15 dias após o estro), em relação ao tratamento durante a fase intermediária do diestro (10 a 13 dias após o estro), de acordo com Mapletoft et al. (2000). O tratamento com $\text{PGF2}\alpha$ quando o folículo dominante (FD) de uma onda está em seu crescimento avançado (≥ 9 mm) ou no início de sua fase estática resultará em ovulação entre dois e três dias. Já o tratamento do meio para o final da fase estática, ou seja, quando o FD não é mais funcional, resultará em ovulação do FD da próxima onda quatro a cinco dias depois do tratamento, ou seja, se a $\text{PGF2}\alpha$ é aplicada após o final do período de dominância funcional de um folículo, muitos dias são necessários para um novo folículo dominante crescer suficientemente para ovular. Por esta razão, os animais apresentarão estro em diferentes intervalos após a aplicação de $\text{PGF2}\alpha$ (Kastelic & Guinther, 1991).

Vacas leiteiras lactantes demonstram uma grande variação no intervalo do tratamento e apresentação do estro. Fatores como o estresse da lactação, desenvolvimento folicular e outros, fazem com que haja manifestação do estro em vacas leiteiras entre dois e sete dias após o tratamento com $\text{PGF2}\alpha$ (Pankowski., 1994).

Um dos primeiros mecanismos sugeridos para ação da $\text{PGF2}\alpha$ foi de redução do sangue e subsequente hipóxia do tecido luteal causando regressão do corpo lúteo (Wiltbank & Niswender, 1992). Este mecanismo tanto pode ser devido à degeneração dos capilares luteais, como à provável vasoconstrição que a prostaglandina poderia causar (González, 2002a). O mais provável efeito das prostaglandinas capaz de explicar a luteólise é a inibição da utilização de lipoproteínas e, portanto, a limitação do substrato disponível para a esteroidogênese, efeito que parece ter lugar nas mitocôndrias das células luteais (González, 2002a).

A ocitocina, tanto de origem ovárica, como da neurohipófise, estimula a liberação de $\text{PGF2}\alpha$ unicamente, quando os níveis de progesterona estão baixos, devido ao bloqueio deste hormônio sobre a expressão dos receptores de ocitocina no endométrio durante a fase luteal (10-12 dias). A queda da progesterona, associada ao efeito estimulatório dos estrógenos (das ondas

foliculares) sobre a expressão dos receptores de ocitocina no útero, facilita a resposta do mecanismo de *feedback* proposto (Parkinson *et al.*, 1990).

Henricus *et al.* (1974) observaram o efeito da $\text{PGF2}\alpha$ em vários estágios do ciclo estral (3 a 5, 9 a 10, 16 e 17 dias) de 30 novilhas, verificando que o estro ocorreu em todos os animais dentro de dois a cinco dias, exceto naqueles tratados aos três e quatro dias do ciclo estral.

Watts & Fuquay (1982) consideraram que do dia seis a 10 do ciclo estral, o corpo lúteo seria *jovem* e do dia 11 a 16 seria *velho*. Estes autores aplicaram 25 mg de Lutalyse® (análogo sintético – Dinoprost) em novilhas nestes períodos e observaram que a idade do CL limita a resposta à $\text{PGF2}\alpha$, sendo 96,6% de resposta à $\text{PGF2}\alpha$ com CL velho e obteve resposta de 59,3% à $\text{PGF2}\alpha$ com corpos lúteos novos. Fuquay (1983), por sua vez, testou a eficácia da $\text{PGF2}\alpha$ no CL *Jovem* (6-11 dias) e *Maduro* (11-16 dias) num total de 250 vacas. A apresentação do estro ocorreu em 149 vacas com CL *Jovem*, 59,7 % apresentaram estro e das 101 vacas com CL *Maduro*, 94,1 % apresentaram estro.

Watts & Fuquay (1985) aplicaram 25 mg de $\text{PGF2}\alpha$ em dias alternados do ciclo estral, e obtiveram uma taxa de cios observados de 63 % entre cinco e sete dias; 83.6 % de oito a 11 dias e 100 % de 12 a 15 dias, confirmando a menor resposta à $\text{PGF2}\alpha$ no CL *Jovem*.

Costa *et al.* (2000) concluíram que o CL de fêmeas zebuínas é responsivo à $\text{PGF2}\alpha$ exógena nos primeiros dias do diestro (6, 7, 8, 9º dia), sendo que no 6º dia os animais apresentaram o estro mais rapidamente, indicando que a partir do dia seis do ciclo estral já existe um número mínimo de receptores necessários para a ação da $\text{PGF2}\alpha$ em animais zebuínos.

2.6. Ação luteolítica do estradiol

Em bovinos o estrógeno, em determinadas fases do ciclo estral, leva a regressão do corpo lúteo, supressão da secreção de LH e estímulo à produção de prostaglandinas (Roberts, 1986; Pratt *et al.*, 1991; Burke *et al.* 1996). Doses farmacológicas de estrogênio são capazes de induzir luteólise durante o ciclo estral (Wiltbank, 1966) e abortamento em vacas gestantes (Hill & Pierson,

1958). O mecanismo pelo qual os estrógenos causam luteólise ainda é obscuro. O 17β -estradiol causa somente regressão parcial do corpo lúteo em novilhas histerectomizadas, mas luteólise completa é observada em animais normais (Brunner, *et al.*, 1969). Hixon *et al.*, (1975) demonstraram que o tratamento com uma dose de $\text{PGF}2\alpha$, que era luteolítica em ovelhas normais, não era capaz de induzir luteólise em ovelhas privadas de estrogênio endógenos através da destruição dos folículos por aplicação com raio-X nos ovários. Posteriormente, uma interação luteolítica entre $\text{PGF}2\alpha$ e estrogênio também foi demonstrada ser independente do útero (Gengenbach *et al.*, 1977).

Stellflug *et al.* (1977) observaram uma ação permissiva dos estrógenos na luteólise induzida por $\text{PGF}2\alpha$. A luteólise somente ocorria naquelas novilhas que apresentavam um aumento na concentração plasmática de estrogênio após a injeção de $\text{PGF}2\alpha$.

Efeitos diretos dos estrógenos sobre a função do corpo lúteo também foram demonstrados por Karsh & Sutton (1976) os quais observaram que quando o estrogênio era administrado diretamente no estroma ovariano de macacos, adjacente ao corpo lúteo, ocorria uma nítida redução da fase luteínica acompanhada por diminuição das concentrações sanguíneas de progesterona. Entretanto, esse efeito não era observado quando estrógenos eram administrados no ovário oposto. Tem sido observado que a adição de concentrações farmacológicas de estrógenos em incubações de células luteínicas de bovinos cultivadas "in vitro" causa inibição do estímulo à síntese de progesterona pelo LH e AMP cíclico (Williams & Marsh, 1979).

2.7. Encurtamento do ciclo estral e/ou prolongamento da fase estrogênica e seu benefício na melhora da eficiência reprodutiva

O endométrio é mais susceptível para infecção sob influência da progesterona que de estrogênio. Três são as razões para se usar a $\text{PGF}2\alpha$ para o tratamento de endometrites de vacas apresentando corpo lúteo: **1)** induz luteólise e o animal manifesta o estro e, desse modo, remove o efeito supressivo da progesterona no mecanismo de defesa uterino e ao mesmo tempo estimula esse efeito por ação do estrogênio; **2)** estimula a contração do

miométrio ajudando a expelir os debris e microorganismos contaminantes do lúmen uterino; **3)** efeito estimulatório na atividade fagocitária das células polimorfonucleares do útero (Dhaliwal *et al*, 2001). As endometrites estão associadas com baixas taxas de concepção e aumento do intervalo de partos (Williams *et al.*, 2005). Em um trabalho realizado por Chow (1984), sobre endometrites em vacas, foi obtido melhoria na eficiência reprodutiva (taxa de concepção e período de serviço), com a redução do período de estros, utilizando a PGF2 α como agente luteolítico.

Assim, pela ação luteolítica, a PGF2 α tem sido usada como tratamento de escolha para endometrites em vacas com um funcional corpo lúteo. Deste modo, ocorre a luteólise, levando conseqüentemente ao estro e reduzindo a elevada concentração de progesterona, o que é benéfico para a eficiência reprodutiva (Ferreira, 1980; Heuwieser *et al*, 2000; Dhaliwal *et al*, 2001; Noakes *et al.*, 2003), com a vantagem de se evitar o descarte do leite por alguns dias após o uso de antibióticoterapia (Ferreira, 2003). Quanto mais precoce no ciclo estral for a resposta do CL à prostaglandina, mais eficiente deverá ser o tratamento das infecções uterinas em fêmeas bovinas com atividade ovariana luteal cíclica, por reduzir a fase progesterônica ou diestro, na qual a resistência imunológica do órgão é menor (Ferreira, 2003).

Miller *et al.* (1980) onde avaliaram 3.582 vacas com 21 a 35 dias pós-parto, sendo as mesmas distribuídas em três grupos, Grupo A (sem infecção uterina clínica); Grupo B (moderada infecção uterina) e Grupo C (severa infecção uterina). O grupo B foi subdividido em dois subgrupos, Grupo Bc: controle e o Grupo Bt: tratado. Não houve diferença na fertilidade entre os subgrupos B e o grupo A, sendo que o grupo C teve índices reprodutivos inferiores. Os autores especularam que poderiam ter incluído vacas não infectadas (Grupo A) no grupo de moderada infecção (Grupo B) ou vacas infectadas (infecção sub-clínica) no grupo A (vacas sem infecção), pela falta de eficiência no diagnóstico e pelos resultados parecidos dos grupos A e B. Segundo Grunert & Gregory (1989), em 20% das endometrites não se encontra exsudação uterina.

O endométrio sob ação da progesterona tem seus mecanismos de defesa reduzidos (altera à função fagocítica dos leucócitos), em relação à maior resistência do sistema imune quando concentrações plasmáticas e

uterinas de estrógeno forem altos e, conseqüentemente, baixas as concentrações de progesterona (Paisley, 1986). Foram inoculadas cepas de *E. coli*, durante as fases luteal e folicular, para se avaliar a resposta do útero a infecções em diferentes fases do ciclo estral. Na inoculação durante a fase progesterônica houve grande proliferação de bactérias, mas o mesmo não ocorreu durante a fase estrogênica, quando houve uma rápida resposta, com ausência de exsudato já no terceiro e quarto dia pós-inoculação (Hawk *et al.*, 1957). Em outro experimento, os animais que receberam progesterona apresentaram uma redução na atividade fagocitária no útero, além de redução na migração de leucócitos para o útero (4 a 16 horas pós-inoculação), enquanto que nos animais submetidos ao tratamento com estrógeno houve aumento da atividade fagocitária, além de ter aumentado a migração de leucócitos para o útero (2 a 4 horas pós-inoculação), segundo Hawk *et al.*, (1960).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização

O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Santa Mônica (CESM), pertencente à Embrapa Gado de Leite e localizado no distrito de Juparanã, Município de Valença – RJ, no período de 01 de março de 2008 a 15 de maio de 2008.

3.2. Delineamento Experimental

Foram utilizadas 16 vacas mestiças holandês-zebu, distribuídas em dois grupos em função do hormônio utilizado (estradiol). Estes animais apresentavam escore corporal $\geq 3,0$ (escala de 1 a 5) de acordo com Ferreira & Torres (1993), não-lactantes, com peso vivo médio de 458 Kg.

Os animais estavam ciclando regularmente, sendo selecionados através de exame ginecológico (palpação retal e vaginoscopia), aqueles sem qualquer alteração clínica ou reprodutiva, foram utilizados no experimento.

As vacas foram mantidas em pastagens formadas por capim braquiária (*Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha*), onde recebiam mistura mineral à vontade, bem como água disponível em bebedouros cimentados nos piquetes.

As vacas foram incluídas ao acaso nos respectivos tratamentos.

Tratamento 1: oito vacas receberam 2,5 mL de Cipionato de estradiol no 1º dia do ciclo estral, via intramuscular (IM), na região da garupa, com agulha 25 X 0,7 mm, (considerando dia 0 o dia do estro).

Tratamento 2 (Testemunha): oito vacas sem tratamento constituíram o grupo controle.

A manifestação de estro foi monitorada visualmente durante uma hora por três vezes ao dia: manhã (06:00 às 07:00h), meio-dia (12:00 às 13:00h) e à tarde (18:00 às 19:00h), com auxílio de rufião preparado por aderência peniana e equipado com buçal marcador com tinta de fácil identificação. Durante os horários de observação, quando necessário, os animais foram movimentados visando o agrupamento dos mesmos, com maior contato entre si e evitando assim, preferências por parte do grupo sexualmente ativo. Foram considerados em estro os animais que aceitavam monta pelo rufião ou pelas companheiras de rebanho, e que se apresentavam com intensa marcação pela tinta do buçal marcador.

3.3. Avaliação ultra-sonográfica e parâmetros avaliados

Os exames ultra-sonográficos foram realizados por via transretal, utilizando-se um aparelho portátil da marca ALOKA, modelo SSD-500, acoplado a um transdutor linear de 5 MHz. As medições tiveram início no dia do estro e foram realizadas diariamente pela manhã, por um único operador, durante um período interestral de 16 animais, totalizando 16 períodos. Foi registrado o diâmetro máximo do maior e do segundo maior folículo presente em cada ovário. Os valores obtidos foram tabulados para representação gráfica da dinâmica folicular dos animais.

O intervalo estral (dias) foi definido como o número de dias compreendidos entre dois estros consecutivos, caracterizado pelo comportamento estral (Rhodes et al., 1995).

A emergência da onda folicular foi estabelecida como o primeiro dia em que se encontrou um folículo com diâmetro entre 4 e 5 mm. Cada onda foi dividida em fase de crescimento, fase estática e de regressão. A fase de crescimento foi do dia da detecção do folículo até o dia em que cessou o seu crescimento progressivo. A fase estática entre o último dia de crescimento até o início da fase de redução de seu diâmetro, e a fase de regressão, entre o último dia do diâmetro estático até chegar a um diâmetro de 4 a 5 mm (Ginther et al., 1989).

O folículo dominante de cada onda foi definido como aquele que possuía o maior diâmetro, o qual excedeu o de todos os outros folículos da

onda. Considerou-se apenas um folículo subordinado, por cada onda, sendo classificado como um dos que apareceram simultaneamente com o folículo dominante, porém de menor diâmetro e de menor persistência.

Os diâmetros do folículo dominante e do subordinado foram medidos pela maior distância (mm) entre dois pontos da cavidade antral dos folículos a partir de 4 mm. Quando o folículo atingiu seu diâmetro máximo, calculou-se a duração em dias.

O comprimento da onda de crescimento folicular correspondeu ao número de dias entre sua emergência e a regressão do folículo dominante até um diâmetro de 4 ou 5 mm. O dia da detecção da onda e da divergência folicular foram definidos como o dia do primeiro registro de um folículo de diâmetro entre 4 e 5 mm e, o dia em que o folículo dominante e o subordinado divergiram suas curvas de crescimento, respectivamente.

As características morfológicas do corpo lúteo foram avaliadas diariamente ao longo do ciclo estral, medindo-se a área da seção transversal (cm²) e das cavidades luteais (área e máximo diâmetro longitudinal e transversal), segundo os procedimentos de Pierson e Ginther (1988). A área do tecido luteal foi calculada pela diferença entre a área da seção transversal do CL e da cavidade luteal. O volume do tecido luteal e da cavidade do corpo lúteo foi calculada pela fórmula matemática: $V = 4/3 \pi \cdot a/2 \cdot (b/2)^2$, onde a= eixo longitudinal e b= eixo transversal, modificada de Grygar et al. (1997). O volume da cavidade luteal foi subtraído do volume do corpo lúteo para determinar o volume do tecido luteal em corpos lúteos cavitários.

3.4. Coleta de sangue e dosagens de progesterona

As coletas de sangue para as dosagens de progesterona tiveram início no dia do estro (dia 0) e foram realizadas a cada três dias até o próximo estro. Todas as coletas foram realizadas sempre antes de qualquer procedimento. Foi considerada atividade luteal a concentração de progesterona a partir de 1,0 ng/mL (Youngquist 1997; Mukasa-Mugerwa *et al.* 1991; Wiltbank & Niswender 1992; Gutierrez *et al.* 1994; Mapletoft *et al.* 2000; Wiltbank *et al.* 2000; Gonsalves *et al.* 2002; González 2002a).

As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados de 15 ml com sem solução anti-coagulante, por punção da artéria ou veia coccígea, e condicionados em caixa de isopor com gelo. Os tubos foram imediatamente centrifugados a 3.000 rpm durante 15 minutos, para a separação do soro, que foi transferido para tubetes plásticos previamente identificados, e então, estocados a uma temperatura de -20°C, até sua análise.

As concentrações de progesterona foram determinadas usando o método de quimioluminescência com kits comercialmente disponíveis Diagnostic Products Corporation (DPC - Immunolite), dos Estados Unidos. O coeficiente de variação intra e interensaios foram 4,5, 5 e 8% para a progesterona. A sensibilidade foi 0,2 ng/mL para a progesterona.

3.5. Análise estatística

As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de Normalidade (Lilliefors) e Homocedasticidade (Bartlett). Posteriormente, as médias foram comparadas utilizando o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Para as análises com mais de um grau de liberdade, foi realizado o teste de comparação de médias de Tuckey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Quando não atendiam as premissas de normalidade e homocedasticidade, mesmo após as transformações apropriadas, os dados foram submetidos ao teste não-paramétrico de Wilcoxon (SAEG, 1999).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais que receberam estrógeno no 1º dia após o estro natural, manifestaram os sinais característicos de estro (psíquicos, útero túrgido e muco abundante) um dia após o tratamento, sendo que seis deles apresentaram esses sinais por dois dias consecutivos. Sabe-se que esta redução do intervalo de estro para apenas dois dias pode favorecer a eliminação de bactérias do útero (quando presentes), aumentando, conseqüentemente, a eficiência reprodutiva (Ferreira et al., 2000; Dhaliwal et al., 2001; Noakes et al., 2003).

Algumas alterações características do estro podem favorecer a eliminação de infecções uterinas (clínicas ou subclínicas), sendo a redução no intervalo dos mesmos indicada para tratamento destas patologias (Dhaliwal et al., 2001). Adicionalmente, o tratamento com estrógeno no primeiro dia após o estro natural, possui a vantagem de ser de menor custo, em relação aos tratamentos tradicionais com (antibióticos e prostaglandinas), além de evitar o descarte de leite pelo uso de antibióticos (Ferreira, 2003).

Excetuando o dia da emergência da 1ª onda folicular, todas as outras variáveis estudadas (número e comprimento de ondas, características dos folículos dominantes e subordinados, assim como os parâmetros relacionados ao corpo lúteo e produção de progesterona) não foram afetadas pela aplicação de estrógeno um dia após o estro (Tabela 2).

Verificou-se que a dinâmica folicular das vacas mestiças (Holandês X Zebu) apresentou padrão de duas ou três ondas de crescimento folicular, independente do tratamento com estrógeno, sendo a mesma para os animais do grupo tratado e controle (37,5 e 62,5% para ciclos com duas e três ondas, respectivamente). Esta predominância encontrada de ciclos com três ondas, também foi verificada por Savio et al. (1988) em gado europeu, Viana et al. (2000) em vacas gir e Borges et al. (2001) em novilhas mestiças Holandês X Zebu.

Segundo Taylor & Rajamahendran (1991) e Guinther et al. (1996), as variações no número de ondas foliculares, provavelmente estão relacionadas com a duração do ciclo estral e o tempo de vida útil do corpo lúteo, Assim

sendo, quanto maior a vida útil do corpo lúteo, maior será o número de ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral.

Tabela 2 – Características das ondas de crescimento folicular das vacas controle e tratadas com estrógeno no início do ciclo estral.

Características	Ondas Foliculares			
	Tratadas		Controle	
	2 ondas (n=3)	3 ondas (n=5)	2 ondas (n=3)	3 ondas (n=5)
Intervalo estral (dias)	19,5 ± 1,0 ^a	20,6 ± 0,5 ^b	19,8 ± 0,7 ^a	20,75±0,7 ^b
Comprimento onda (dias)				
1 ^a onda	14,0 ± 2,1 ^{a,A}	13,06±1,1 ^{a,A}	13,87±1,8 ^{a,A}	13,26±1,9 ^{a,A}
2 ^a onda	9,33 ± 1,6 ^{a,B}	11,20±2,1 ^{b,B}	9,61 ± 1,3 ^{a,B}	11,12±1,8 ^{b,B}
3 ^a onda	-	6,54±1,2 ^{a,C}	-	6,94 ± 1,8 ^{a,C}
Dia da detecção onda				
1 ^a onda	3,33 ± 0,5 ^{a,A}	3,43 ± 0,4 ^{a,A}	0,28 ± 0,6 ^{b,A}	0,38 ± 0,4 ^{b,A}
2 ^a onda	9,97 ± 1,1 ^{a,B}	9,02 ± 0,8 ^{b,B}	9,33 ± 1,3 ^{a,B}	8,43 ± 1,0 ^{b,B}
3 ^a onda	-	14,72±1,0 ^{a,C}		15,35±1,7 ^{a,C}

Médias com letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ou teste F. Médias com letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ou teste F.

Não houve diferença entre os animais do grupo tratado com estógeno e controle, quanto ao intervalo de estro (Tabela 2). Entretanto, foi observado um menor intervalo de estro para ciclos com duas ondas de crescimento folicular, quando comparado com ciclos de três ondas ($P < 0,05$). Esta condição também foi encontrada por Viana et al. (2000), Borges et al. (2001) e Santos (2001). Assim, é provável que a menor duração do corpo lúteo encontrada em ciclos com duas ondas de crescimento folicular (Tabela 3), tenha provocado um encurtamento no intervalo de estro, concordando com a hipótese de Taylor & Rajamahendran (1991) e Guinther et al. (1996).

De acordo com Driancourt (2001), o estrógeno injetado precocemente após a ovulação em bovinos pode ter ação anti-luteotrópica. Esta condição não ocorreu no presente trabalho, pois a duração da fase luteal do grupo tratado e controle não diferiram ($P > 0,05$). Além disso, o tamanho do corpo lúteo (Tabela

4) e a produção de progesterona (Tabela 5), não foram diferentes para os grupos experimentais.

Tabela 3– Duração do corpo lúteo (dias) das vacas controle e tratadas com estrógeno no início do ciclo estral.

Tratamento	Onda folicular	
	2 ondas	3 ondas
Tratado	15,3 ± 1,4 ^{a,A}	17,6 ± 1,8 ^{b,A}
Controle	14,8 ± 1,8 ^{a,A}	17,8 ± 1,2 ^{b,A}

Médias com letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha são diferentes (P<0,05) pelo teste F. Médias com letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna são diferentes (P<0,05) pelo teste F.

Tabela 4 – Parâmetros do corpo lúteo das vacas controle e tratadas com estrógeno no início do ciclo estral.

Parâmetros Do corpo lúteo	Onda folicular	
	Tratado	Controle
Área inicial (cm ²)	1,43 ± 0,6 ^a	1,29 ± 0,1 ^a
Área final (cm ²)	1,42 ± 0,2 ^a	1,31 ± 0,3 ^a
Área máxima (cm ²)	3,81 ± 0,9 ^a	3,68 ± 0,8 ^a
Dia da área e volume máximos	10,02 ± 1,9 ^a	10,11 ± 1,9 ^a
Volume máximo (cm ³)	4,03 ± 1,2 ^a	4,13 ± 0,7 ^a

Médias com letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha são diferentes (P<0,05) pelo teste de F.

Tabela 5- Concentrações plasmáticas de progesterona das vacas controle e tratadas com estrógeno no início do ciclo estral.

Dia do ciclo estral	Progesterona (ng/mL)	
	Tratado	Controle
0	0,32 ± 0,6 ^a	0,21 ± 0,6 ^a
3	0,56 ± 0,6 ^a	0,67 ± 0,6 ^a
6	3,33 ± 1,1 ^a	4,01 ± 1,3 ^a
9	8,17 ± 0,9 ^a	8,95 ± 1,5 ^a
12	13,85 ± 2,1 ^a	14,23 ± 1,6 ^a
15	13,67 ± 1,9 ^a	13,86 ± 1,3 ^a
18	5,23 ± 3,6 ^a	4,76 ± 2,8 ^a
21	0,36 ± 2,8 ^a	0,29 ± 2,6 ^a

Médias com letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha são diferentes (P<0,05) pelo teste de F.

Com relação à emergência da 1ª onda de crescimento folicular, observou-se um atraso nos animais do grupo tratado com estrógeno ($P < 0,05$), tanto para ciclos com duas como com três ondas foliculares, em relação ao grupo controle (Tabela 2). Resultados semelhantes aos verificados no grupo controle foram encontrados por Borges et al. (2001), onde o aparecimento da 1ª onda folicular ocorreu nos dias 0,42 e 0,38, em novilhas mestiças, com duas e três ondas foliculares, respectivamente. De acordo com O'Rourke et al. (2000) e Burke et al. (2003) o estrógeno administrado na fase de dependência do folículo ao FSH atua em receptores da hipófise anterior, bloqueando a secreção de FSH. O que provocaria atresia dos folículos dependentes desta gonadotrofina. Dessa forma, a emergência de uma nova onda é atrasada por três a cinco dias, fato confirmado no presente estudo.

A emergência da segunda onda de crescimento folicular em ciclos com duas ondas, ocorreu nos dias $9,97 \pm 1,1$ e $9,33 \pm 1,3$ para os animais do grupo tratado e controle, respectivamente, corroborando com os resultados relatados por Guinther et al. (1989), Hamilton et al. (1995), Figueiredo et al. (1997), Borges et al., (2001) e Alves et al. (2002). Já nos ciclos com três ondas foliculares, a emergência da segunda e da terceira ondas ocorreu, respectivamente, nos dias $9,02 \pm 0,8$ e $14,72 \pm 1,0$ (grupo tratado) e $8,43 \pm 1,0$ e $15,35 \pm 1,7$ (grupo controle), não havendo diferença entre os grupos ($P > 0,05$). Estes valores estão próximos aos dias 9 e 16 dias relatados por Kastelic (1994) e 8,2 e 16 dias citados por Borges et al. (2001).

Segundo Adams et al. (1992) e Driancourt (2001), o surgimento das ondas foliculares é precedido pela elevação (pico) nas concentrações de FSH, o que ocorre também em bovinos. Nos quais um pico de FSH precede a emergência da primeira onda folicular (dia zero do ciclo estral), sendo que a segunda e terceira ondas foliculares surgem a cada 8 a 10 dias, e também são precedidas por discreta elevação do FSH plasmático. A emergência de uma nova onda folicular está relacionada, com o início da atresia do folículo dominante da onda anterior (Guinther et al., 1989), condição que foi observada tanto para o grupo tratado com estrógeno como para o controle (Tabela 2).

Assim uma nova onda folicular não surge enquanto o folículo dominante estiver na fase de crescimento ou no início da sua fase estática (Ginther et al.,

1989), quando produz fatores reguladores do crescimento dos demais folículos. Durante a fase luteal, os elevados níveis de progesterona inibem o aumento de frequência dos pulsos de LH (responsável pela maturação final do folículo), levando à regressão folicular ou perda de dominância (Ireland et al., 2000). Conseqüentemente, o folículo dominante deixa de secretar os fatores reguladores, permitindo um aumento nos níveis de FSH e o surgimento de uma nova onda folicular (Monniaux et al., 1997).

Quanto à duração das ondas foliculares, não foram encontradas diferenças, para os animais tratados e controle, em ciclos com duas ondas foliculares ($P>0,05$) (Tabela 2). A duração da primeira onda foi maior do que a encontrada por Oliveira (1997) e Alves et al. (2002), semelhantes aos relatados por Figueiredo et al. (1997) em animais da raça Nelore (14,75 dias) e por Sávio et al. (1988) em vacas mestiças Holandês X Hereford (14,25 dias) e inferiores aos 17 dias encontrados por Borges et al., (2001). Já, em relação à duração da segunda onda de crescimento, os resultados foram semelhantes aos períodos relatados por Figueiredo et al., (1997) e Borges et al., (2001). No presente experimento, a duração da segunda onda foi menor do que a da primeira, nos animais dos dois grupos estudados ($P<0,05$). Esta condição pode ser devida à redução na função luteal (luteólise), que retira o efeito negativo da progesterona sobre o crescimento folicular, permitindo assim, que os folículos dominantes, livres do “feedback” negativo, cresçam rapidamente e atinjam o tamanho ovulatório (SÁVIO et al., 1992 e Borges et al., 2001).

Nos ciclos com três ondas de crescimento folicular, não foram encontradas diferenças na duração das ondas, entre os animais tratados e controle, ($P>0,05$) (Tabela 2). Os valores encontrados foram próximos dos relatados por Figueiredo et al., (1997) em Nelore e Borges et al., (2001) em novilhas mestiças Holandes X Zebu. No presente experimento, observou-se que a 3ª onda folicular apresentou menor duração que a 2ª ($P<0,05$), diferente do que foi encontrado por Alves et al., (2002), os quais observaram duração semelhante entre a 2ª e 3ª ondas foliculares, mas corroborando com os resultados encontrados por Guinther et al (1989) e Borges et al., (2001). Esta condição pode ser devido à redução na função luteal (luteólise), conforme relatado por Sávio et al. (1992) e Borges et al. (2001).

Os parâmetros dos folículos dominantes de vacas com padrão de duas e três ondas, em função do grupo, são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Comparação das características dos folículos dominantes das vacas controle e tratadas com estrógeno no início do ciclo estral.

Características	Ondas Foliculares			
	Tratado		Controle	
	2 ondas (n=3)	3 ondas (n=5)	2 ondas (n=3)	3 ondas (n=5)
Diâmetro máximo (mm)				
1° folículo	12,77±2,0 ^{a,A}	12,52±1,8 ^{a,A}	13,07±2,8 ^{a,A}	12,94±2,0 ^{a,A}
2° folículo	13,78±1,7 ^{a,A}	11,01±1,3 ^{b,B}	13,17±1,1 ^{a,A}	10,98 ± 1,2 ^{b,B}
3° folículo	-	12,86±1,3 ^{a,A}	-	12,16 ± 1,1 ^{a,A}
Dia do diâmetro máximo				
1° folículo	8,12 ± 1,8 ^{a,A}	7,75 ± 1,0 ^{a,A}	6,82 ± 1,3 ^{a,A}	6,62 ± 1,5 ^{a,A}
2° folículo	18,0 ± 2,0 ^{a,B}	12,46 ± 2,7 ^{b,B}	18,12 ± 1,8 ^{a,B}	13,06 ± 2,1 ^{b,B}
3° folículo	-	20,09±1,3 ^{a,C}	-	20,28 ± 1,0 ^{a,C}
Duração do crescimento (dias)				
1° folículo	4,82 ± 1,8 ^{a,A}	4,32 ± 1,0 ^{a,A}	6,52 ± 1,1 ^{a,A}	6,51 ± 1,5 ^{a,A}
2° folículo	8,58 ± 1,3 ^{a,B}	5,12 ± 2,3 ^{b,B}	8,11 ± 1,9 ^{a,B}	5,23 ± 1,9 ^{b,B}
3° folículo	-	5,23 ± 1,1 ^{a,B}	-	5,31 ± 1,2 ^{a,B}
Início da atresia (dia)				
1° folículo	9,02 ± 2,6 ^a	9,18±2,2 ^{a,A}	9,04 ± 1,1 ^a	8,15 ± 2,0 ^{a,A}
2° folículo	-	15,24±1,9 ^{a,B}	-	16,01 ± 2,3 ^{a,B}
3° folículo	-	-	-	-

Médias com letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ou teste F. Médias com letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ou teste F.

Após o surgimento das ondas foliculares, o folículo dominante cresceu entre 3,32 a 8,58 dias, e o diâmetro alcançado variou de 10,98 a 13,78 mm, resultados semelhantes aos encontrados por Borges et al., (2001) para novilhas mestiças Holandês X Zebu (10,0 a 13,0 mm), e inferiores aos encontrados por Guinther et al., (1989) para animais da subespécie *Bos taurus taurus* (13 a 18 mm). Os menores valores em relação aos taurinos podem estar relacionados à menor taxa de crescimento dos folículos dominantes de vacas

de raças zebuínas (1,33 mm/dia), segundo Coutinho et al. 2007, quando comparada a de vacas das raças européias (2,05 mm/dia; Murphy et al., 1990). O maior diâmetro do folículo dominante foi verificado nos dias $8,12 \pm 1,8$ e $18 \pm 2,0$ (grupo tratado) e $6,82 \pm 1,3$ e $18,12 \pm 1,8$ (grupo controle) para os ciclos de duas ondas foliculares. Já para as vacas de três ondas, ocorreu nos dias $7,75 \pm 1,0$; $12,46 \pm 2,7$ e $20,09 \pm 1,3$ (grupo tratado) e $6,62 \pm 1,5$; $13,06 \pm 2,1$ e $20,28 \pm 1,0$ (grupo controle). Estes resultados foram semelhantes aos descritos por Borges et al. (2001), que observaram em novilhas mestiças (Hol X Zebu) encontraram 7,4 e 18 dias para animais de duas e 6,1; 13,8 e 21,3 dias para novilhas de três ondas foliculares.

A duração do crescimento do folículo ovulatório nos ciclos de duas ondas (8,58 e 8,11 dias para os grupos tratado e controle, respectivamente) foi semelhante à encontrada por Borges et al. (2001), e superior à citada por Sávio et al. (1988) em novilhas da sub-espécie *Bos taurus taurus*. Já para as vacas com três ondas, os valores de 5,23 e 5,31 dias para os grupos tratado e controle, respectivamente, ($P > 0,05$), mostraram que o tratamento com estrógeno não alterou este parâmetro. Estes resultados foram inferiores àqueles encontrados por Figueiredo et al. (1997) e semelhantes aos verificados por Borges et al. (2001). Quanto aos ciclos de três ondas de crescimento, o folículo dominante da segunda onda (11,01 e 10,98 mm) foi menor que o da primeira (13,02 e 12,94 mm) e da terceira (12,86 e 12,16 mm) para os grupos tratado e controle, respectivamente, corroborando com aqueles obtidos por Borges et al. (2004) e Coutinho et al. (2007).

De acordo com Borges et al. (2001) uma possível explicação para a diferença nos diâmetros foliculares seria a concentração plasmática de progesterona. A primeira onda folicular coincide com baixa concentração (corpo lúteo em formação), e com isso, o feedback negativo ao hipotálamo-hipófise é fraco para impedir a liberação de LH. A segunda onda inicia na presença de um corpo lúteo totalmente formado, o qual secreta elevadas concentrações de progesterona, inibindo a liberação de LH (Sávio et al., 1992). Já na terceira onda, a qual coincide com a luteólise e redução da secreção de progesterona pelo corpo lúteo, ocorre um incremento na secreção de LH, sendo

acompanhada por um rápido crescimento folicular e ovulação (Savio et al., 1992).

A tabela 7 mostra as características dos folículos subordinados de animais apresentando padrão de duas e três ondas de crescimento folicular, em função do tratamento.

Tabela 7 – Comparação das características dos folículos subordinados das vacas controle e tratadas com estrógeno no início do ciclo estral.

Características dos Folículos subordinados	Ondas Foliculares			
	Tratado		Controle	
	2 ondas (n=3)	3 ondas (n=5)	2 ondas (n=3)	3 ondas (n=5)
Diâmetro máximo (mm)				
1º folículo	7,71 ± 1,0 ^{a,A}	7,06 ± 1,2 ^{a,A}	7,32 ± 1,4 ^{a,A}	7,91 ± 1,0 ^{a,A}
2º folículo	7,03 ± 2,0 ^{a,A}	6,97 ± 1,0 ^{a,A}	6,83 ± 2,4 ^{a,A}	6,89 ± 1,0 ^{a,A}
3º folículo	-	7,08 ± 1,1 ^{a,A}	-	6,98 ± 1,2 ^{a,A}
Dia do diâmetro máximo				
1º folículo	6,02 ± 1,1 ^{a,A}	5,96 ± 1,9 ^{a,A}	3,08 ± 1,0 ^{b,A}	2,88 ± 1,8 ^{b,A}
2º folículo	13,33 ± 1,9 ^{a,B}	10,91 ± 1,6 ^{b,B}	12,93 ± 1,5 ^{a,B}	11,01 ± 1,3 ^{b,B}
3º folículo	-	17,91 ± 1,5 ^{a,C}	-	18,07 ± 1,3 ^{a,C}
Duração do crescimento (dias)				
1º folículo	3,67 ± 1,1 ^{a,A}	3,51 ± 1,8 ^{a,A}	3,67 ± 1,1 ^{a,A}	2,32 ± 1,5 ^{a,A}
2º folículo	3,28 ± 1,1 ^{a,A}	3,10 ± 1,2 ^{a,A}	3,28 ± 1,1 ^{a,A}	2,92 ± 1,8 ^{a,A}
3º folículo	-	2,89 ± 1,6 ^{a,A}	-	2,87 ± 1,0 ^{a,A}
Início da atresia (dia)				
1º folículo	7,02 ± 1,3 ^{a,A}	6,24 ± 1,6 ^{a,A}	4,02 ± 1,5 ^{b,A}	4,06 ± 1,2 ^{b,A}
2º folículo	13,05 ± 2,0 ^{a,B}	12,34 ± 1,4 ^{b,B}	13,05 ± 1,7 ^{a,B}	12,06 ± 2,0 ^{b,B}
3º folículo	-	18,04 ± 1,4 ^{a,C}	-	18,93 ± 1,8 ^{a,C}

Médias com letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ou teste F. Médias com letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ou teste F.

Como demonstrado na Tabela 7, os folículos subordinados atingem um diâmetro menor que os folículos dominantes, independente do número de ondas foliculares. O diâmetro máximo dos folículos subordinados variou de 6,83 a 7,91 mm, valores próximos àqueles citados para animais das raças Nelore (Figueiredo et al., 1997), Holandesa (Fortune, 1994) e para novilhas mestiças (Hol X Zebu) (Borges et al., 2001). Segundo Borges et al. (2001), o menor crescimento dos folículos subordinados ocorre devido ao efeito inibitório do folículo dominante, o qual impede um aporte adequado de gonadotrofinas e secreta um fator que tem efeito inibitório em seu desenvolvimento (Webb & Armstrong, 1998; Bakers & Spears, 1999). Esta inibição ocorre de forma

passiva (redução nas concentrações plasmáticas de FSH) e ativa (redução da sensibilidade ao FSH). As células da granulosa do folículo dominante produzem estradiol e inibina, os quais reduzem a liberação de FSH a um limiar insuficiente para manter o desenvolvimento dos folículos subordinados. Todavia, nos folículos dominantes, determinados fatores de crescimento amplificam a ação do FSH, possibilitando-os a continuar o crescimento, mesmo sob baixos níveis hormonais (Fortune et al., 1994; Driancourt 2001).

O corpo lúteo foi detectado inicialmente no dia $3,9 \pm 0,9$ após o estro. Entretanto, não ocorreu variação no dia da detecção do CL entre os animais tratados ou não com estrógeno, independente do número de ondas foliculares. Os resultados do presente experimento corroboram com os obtidos por Tom et al., (1998) e Coutinho et al., (2007) os quais identificaram o corpo lúteo pela primeira vez no quarto dia do ciclo.

Os parâmetros luteais estão relacionados na Tabela 4, sendo que não houve diferença entre as vacas do grupo tratado e controle, assim como entre duas e três ondas. A área e o volume do corpo lúteo não diferiram entre vacas apresentando duas e três ondas foliculares, mas diferiram entre os dias do ciclo estral ($P < 0,05$). Após a ovulação, as células foliculares reorganizam-se e sofrem processos de hiperplasia e hipertrofia, culminando com a formação do corpo lúteo. À medida que as células são luteinizadas, o corpo lúteo se vasculariza e aumenta de tamanho (Wiltbank et al., 1995). No acompanhamento ultra-sonográfico observou-se que o tecido luteal foi detectado a partir de uma área de $1,29\text{cm}^2$, valor semelhante à área do último dia em que o corpo lúteo pôde ser verificado por ultra-sonografia (Tabela 4).

O CL aumentou de forma a atingir o maior tamanho entre os dias 10,0 e 10,1 do ciclo estral, para as vacas do grupo tratado e controle, respectivamente. O desenvolvimento luteal implicou no incremento da área e volume, sendo que, foi encontrada neste experimento uma elevada correlação entre a área e o volume luteal ($r = 0,91$; $P < 0,01$). A área máxima no grupo tratado foi de $3,81\text{ cm}^2$ e, no controle, de $3,68\text{ cm}^2$, sendo estes, superiores aos encontrados por Viana et al. (1999) em vacas da raça Gir, e semelhantes aos encontrados por Alves et al. (2002) em animais mestiços Holandês X Zebu. De

acordo com Rhodes et al. (1982) a literatura relata que os CL de animais zebuínos são menores que os de taurinos.

Os maiores valores de progesterona foram obtidas no 12^o dia do ciclo estral, para os dois grupos (Tabela 5). Os valores encontrados estão de acordo com a literatura, onde são citadas concentrações plasmáticas de progesterona durante o diestro de ciclos estrais normais, entre 1 e 20 ng/mL (Jiménez et al., 1988; Díaz González, 1991; Badinga et al., 1994; Borges et al., 2001; Alves et al., 2002; Borges et al., 2003; Coutinho et al., 2007) em animais da raça zebuínas e taurinas e Fernandes (1994), em novilhas mestiças. Esta amplitude pode ser ocasionada por variações inerentes aos animais bem como pela metodologia de análise, fazendo com que a interpretação dos resultados da progesterona devam ser criteriosamente avaliados (Borges, 2001).

As concentrações médias de progesterona durante o ciclo estral não diferiram entre os animais tratados com estrógeno e controle ($P > 0,05$). Entretanto, foi demonstrado uma variação ($P < 0,01$) entre os dias de amostragem (Tabela 5). Este padrão cíclico é devido à variação da funcionalidade do CL (crescimento, manutenção e regressão). A secreção de progesterona aumentou até o 12^o dia, mantendo-se elevada durante o restante do diestro e sofreu abrupta redução três dias antes do novo estro. Esses resultados são corroborados por (Vaca et al., 1983; Fortune, 1988; Figueiredo et al., 1997 e Coutinho et al., 2007).

Ao se confrontar os dados de progesterona com a área e o volume do corpo lúteo, verifica-se que as concentrações de progesterona atingem valores máximos em dias posteriores à estabilização da área e volume do corpo lúteo. Esses resultados indicam que a maior produção de progesterona ocorre após a maturação morfológica do corpo lúteo, e não do aumento na massa do tecido luteal, o que concorda com Viana et al. (1999). Da mesma forma, o rápido declínio nas concentrações de progesterona no final do ciclo estral, não é acompanhado pela proporcional redução na área do corpo lúteo (Singh et al., 1997), demonstrando que a regressão funcional precede a regressão morfológica/estrutural do corpo lúteo (Ribadu et al., 1994).

Contudo, houve correlações positivas entre as concentrações de progesterona com a área ($r = 0,64$; $P < 0,01$) e com o volume ($r = 0,53$; $P < 0,01$)

do CL. Estas correlações entre a concentração de progesterona e área ou volume do corpo lúteo podem ser explicadas pelas variações na taxa de produção, secreção e “clearance” que são responsáveis pelas concentrações de esteróides ovarianos (Spano & Rosa e Silva, 1992 citado por Viana et al., 1999).

Partindo da premissa de que a redução do intervalo de estros é indicada como eficiente tratamento de infecções uterinas em vacas com atividade ovariana luteal cíclica (Ferreira, 1980 e Dhaliwal et al., 2001), bem como o fato da aplicação de estrógeno um dia após o estro natural de bovino, ter provocado o comportamento de estro (psíquicos, muco abundante e útero túrgido), dois dias após o estro natural, sem afetar as características do ciclo estral subsequente, deduz-se que tal procedimento pode ser recomendado para este tipo de patologia, em substituição ou associado ao que é amplamente preconizado atualmente, ou seja, a aplicação de PGF2 α seis a sete dias após o estro, de maneira a provocar a luteólise, e induzir novo estro com oito a 10 dias de intervalo entre estros naturais.

5. CONCLUSÃO

A aplicação de Cipionato de Estradiol em vacas mestiças (Hol X Zebu), um dia após o estro natural promove o aparecimento de sinais de estro (psíquicos, útero túrgido e muco abundante) dois dias após o estro natural, sem afetar as características do ciclo estral subsequente (duração do ciclo, número de ondas, tamanho dos folículos dominantes e subordinados, tamanho do corpo lúteo e produção de progesterona).

6. Referências bibliográficas

ADASHI, E.Y. Intraovarian regulation: the IGF-I example. **Reprod. Fertil. Dev.**, v.4, p. 497-504, 1991.

ADAMS,G.P.; MATTERI,R.L.; KASTELIC, J.P.; KO,J.C.H.; GINTHER, O.J. Associations between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 94, p. 177-188, 1992.

ADAMS, G. P.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J.; GARCIA, A.; DEL CAMPO, M. R. Superstimulatory response of ovarian follicles of wave 1 versus wave 2 in heifers. **Theriogenology**, n 42, p. 1103-1113, 1994.

ALVES, N.G; COSTA, E.P.; GUIMARÃES, J.D.; et al., Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça Holandesa e Mestiças Holandês X Zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.31, n.2,p.627-634, 2002.

BADINGA,L.; THATCHER,W.W.; WILCOX,C.J.; MORRIS,G.; ENTWISTLE,K.; WOLFENSON,D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17 β , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v.42, n.1263-1274, 1994.

BAKER, S.J.; SPEARS, N. The role of intra-ovarian interactions in the regulation of follicle dominance. **Hum. Reprod. Update**, v.5, p.153-165, 1999.

BO,G.A.;MARTINEZ,M.; NASSER,L.F.; CACCIA,M.; TRIBULO,H.; MAPLETOFT,R.J. Follicular dynamics of *Bos indicus* and *Bos taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL**, 10, 1993, Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993,v.2,p. 221.

BOOTH, N. H.; MCDONALD, L. E. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. Sexta edição, Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 927 p, 1992.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; et al., Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu, Arquivo **Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, .vol.2001, n. 5, Belo Horizonte, 2001.

BRUNNER, M.A; DONALDSON, L.E.; HANSEL, W. – Exogenous hormones and luteal function in hysterectomized and intact heifers. **J. Dairy Sci.**, 52: 1849-54, 1969.

BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L.; BOLAND, M.P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Anim.Reprod. Sci.** 45, 13-28, 1996.

BURKE, C.R.; MUSSARD, C.L.; GASSER, D.E.; GRUM, D.E. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology** , Vol. 60, Issue 4 , Page 647, 2003.

CARR, D. L.; SPITZER, J.C.; JENKINS, T. C.; BURNS, G. L.; PLYLER, B. B. Effects of dietary lipid supplementation on progesterone and reproductive performance in suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 41, p. 423 – 435,1994.

CHALUPA, W; VECCHIARELLI, A; GALLIGAN, D.T.; et al. Responses of dairy cows supplemented with somatotropin during weeks 5 trough of lactation. **Journal Dairy Science**, v.79, p.800-812, 1997.

CHOW, L. A.; FONSECA, V. O, AZEVEDO, N.A.; MOREIRA, M.J; FRANCO, M.L.M. Utilização de prostaglandina F2 α na terapia das infecções uterinas, **A Hora Veterinária**, Ano 3, n. 18, p. 19-22, 1984.

COSTA, D. S.; HENRY, M.; OLIVEIRA, B. C. B. V.; WRITE, C. R. Indução da luteólise nos primeiros dias do diestro em vacas zebu. Reunião Anual da SBZ, 37, Viçosa, MG, p. 197, **Anais ...**, UFV, SBZ, 2000.

COUTINHO, G.T.R.M.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.; FERREIRA, A.M.; et al., Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzerá. **Arq. Brás. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.5, p.1089-1096, 2007.

DEL VECCHIO, R. P.; SUTHERLAND, W. D.; SASSER, R. G. Bovine luteal cell production in vitro of prostaglandin E₂, oxytocin and progesterone in response to pregnancy – specific protein B and prostaglandin F₂ α . **Journal Reproduction Fertility**, v. 107, p. 131-136, 1996.

DHALIWAL, G. S.; MURRAY, R. D.; WOLDDEHWET, Z. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. **Animal Reproduction Science**, v. 67, n 3-4, p. 135-152, 2001.

DÍAZ GONZÁLEZ, F.H. Efeito da condição corporal de novilhas sobre a fertilidade, o perfil metabólico pós-serviço e a sobrevivência embrionária. Viçosa-MG: UFV, 118p. **Dissertação** (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 1991.

DISKIN, N. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, n. 23, p. 211-218, 2002.

DRIANCOURT, M.A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology** v. 35, n.1, p.55 - 71, 1991.

DRIANCOURT, J.C.; Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p.1211-1239, 2001.

ESPEY, L. L.; Current status of the hipótesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. **Biology Reproduction**, v. 50, p. 233-238, 1994.

FERGUSON, J. D. Diet, production and reproduction in dairy cows. **Animal Feeding Science Technology**, v. 59, p. 173-184, 1996.

FERNANDES,C.A.C. Efeito do tratamento com hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a taxa de gestação de novilhas mestiças usadas como receptoras de embrião. Viçosa-MG: UFV, 63p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 1994.

FERREIRA, A.M. Efeito do cloprostenol no tratamento da metrite bovina. 1980. 134p. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1980.

FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F. Estudo das infecções uterinas em vacas leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 339-344, 1987.

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, A. M.; SÁ, W. F.; COSTA, E. P. ; FERNANDES, C. A. C.; CAMARGO, L. S. A.; VIANA, J. H. M.; Corpo lúteo persistente associado a infecções uterinas em rebanhos leiteiros da Zona da Mata-MG.. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói-RJ (UFF), v. 7, n. 1, p. 25-28, 2000.

FERREIRA, A. M. *Informações pessoais*. **Embrapa Gado de Leite**, 2003.

FIGUEIREDO,R.A.; BARROS,C.M.; ROCHA,G.P.; PAPA,F.O. Prevalência de duas ondas de crescimento folicular ovariano em vacas da raça Nelore. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.19, n.3-4,p.200-211,1995.

FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. P. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 1489-1505, 1997.

FINDLAY, J.K.; DRUMMOND, A.E.; FRY, R.C. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. **Anim. Reprod. Sci.** v.42, p. 321-331, 1996.

FORTUNE, J.E.; SIROIS, J.; TURZILLO, A.M.; LAVOIR, M. Follicle selection in domestic ruminants. **J. reprod. Fert., Suppl.**, v.43, p.187-198, 1991.

FORTUNE, J.E. Follicular dynamics during the bovine estrus cycle: a limiting factor in improvement of fertility? **Anim. Reprod. Sci.** v. 33, p. 111-25, 1993.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biol. Reprod.**, v. 50, p. 225-232, 1994.

FUQUAY, J. W. Variable response of dairy heifers to estrous synchronization procedures. **Advanced Animal Breeder**, v. 31, n. 9, p. 14 e 15, 1983.

GENGENBACH, D.R.; HIXON, J.E.; HANSEL, W. – A luteolytic interaction between estradiol and prostaglandin F₂ α in hysterectomized ewes. **Biol. Reprod.**, 16: 571-9, 1977.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, F. J. F. **Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal – Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos**. Cap. 3, p. 25-55, Editora Varela, 640p., 2002.

GONZÁLEZ, F. H. D. Introdução a Endocrinologia Reprodutiva Veterinária. www.ufrgs.br/ufrgs/ .86 p., UFRGS, Porto Alegre, 2002a.

GONZÁLEZ, F. H. D. As prostaglandinas na Reprodução. www.ufrgs.br/ufrgs/ . 26p., UFRGS, Porto Alegre, 2002b.

GONZÁLEZ, F. H. D. Hormonioterapia na reprodução. www.ufrgs.br/ufrgs/ . 18p, UFRGS, Porto Alegre, 2002c.

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

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

GONG, J.G.; BRAMLEY, T. A .; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. **Biol. Reprod.**, v. 45, n. , p. 941 - 49, 1991.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T. A.; WILMUT, I.; WEBB, R. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 48, n. , p. 1141 - 49, 1993a.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T. A.; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. **J. Reprod. Fert.**, 97: 247-254, 1993b.

GONG, J.G.; McBRIDE, D.; BRAMLEY, T. A .; WEBB, R. Effects of recombinant bovine somatotrophin, insulin-like growth factor-I and insulin on bovine granulosa cell steroidogenesis *in vitro*. **Journal of Endocrinology**, v. 143, n. , p. 157 - 64, 1994.

GONG,J.G.; WEBB,R. Control of ovarian follicle development in domestic ruminants: its manipulation to increase ovulation rate and improve reproductive performance. **Anim. Breed. Abst.** v. 64, n.3, p.195-204, 1996.

GRYGAR, I.; KUDLÁČ, E.; DOLEZEF, R.; NEDBÁLKOVÁ, J. Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous

corpus luteum or corpus luteum cavity. **Anim. Reprod. Sci.**, v.49, p.77-82, 1997.

GRUNERT, E.; GREGORY, R.M.; Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca. **Ed. Sulina**. Porto Alegre, 1989, 174p.

GUTTIERREZ, A. C.; ZARCO, L.; GALLINA, C. S.; RUBIO, I. Predictive value of palpation per rectum for detection of the Corpo Lúteo in zebu cattle as evaluated by progesterone concentrations and ultrasonography. **Theriogenology**, v. 46, p. 471-479, 1994.

HAFEZ, E.S.E.; Ciclos reprodutivos. In: HAFEZ, E.S.E. (Ed). **Reprodução Animal**. São Paulo: Manole, 7ed, p. 55-98, 2004.

HAMILTON, S.A; GARVERICK, H.A; KEISLER, D.H. *et al.* Characterization of ovarian follicular cystis and associated endocrine profiles in dairy cows. **Biology of Reproduction**, v.53, p.890-898, 1995.

HANZEN, C.H.; LOURTTE, D.; DRION, O.V.; Le developement folliculaire dos la vache. Aspects morphologiques et cinetiques. **Ann. Med. Vet.**, v. 144, p. 223-235, 2000.

HAWK, H.W.; SIMON, J.; MCNUTT, S.H.; CASIDA, L.E. Investigations on the endocrine-controlled defense mechanism of estrous and pseudopregnant rabbit uteri. **Am. J. Vet. Res.** 18:171-173, 1957.

HAWK, H.W.; TURNER, G.D; SYKES, J.F. The bactericidal properties of uteri and uterine exudates of rabbits with reduced leukocytic activity. **Am. J. Vet. Res.** 21: 649-656, 1960.

HENRICUS, D. M.; LONG, J. T.; HILL, J.R.; DICKEY, J. F. The effect of prostaglandin F_{2α} during various stages of the oestrus cycle of beef heifers. **Journal Reproduction Fertility**, v. 41, p. 113-120, 1974.

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.

HEUWIESER, W.; TENHAGEN, B. A.; TISCHER, M.; LUHR, J.; BLUM, H. Effect of three programmes for the treatment of endometritis on the reproductive performance of dairy herds. **Veterinary Record**, v. 146, p. 338-341, 2000.

HILL, H.J. & PIERSON, R.E.- Reproductive diethylstilbestrol as an abortifacient in a feedlot heifers. *J. A. V. M. A.*, 132:507-12, 1958.

HIXON, J.E.; GENGENBACH, D.R.; HANSEL, W.; Failure of prostaglandin F₂, to cause luteal regression in ewes after destruction of ovarian follicles by X-radiation. **Biol. Reprod.**, 13:126-35, 1975.

IRELAND, J.J.; MIHM, M.; AUSTIN, E.; DISKIN, M.G.; ROCHE, J.F.; Historical perspectives of turnover of dominant follicle during the estrous cycle: Key concepts, studies, advancements and terms. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 1648-1658, 2000.

JIMÉNEZ, F.; GALINA, C.S.; DUCHATEAU, A.; FIERRO-NAVARRO, R. Levels of LH, progesterone and estradiol-17 β during natural and PGF_{2 α} induced estrus in Indubrazil and Brown Swiss cows in the tropics. **Anim. Reprod. Sci.**, v.16, p.199-206, 1988.

KAPPEL, L. C.; INGRAHAM, R. H.; MORGAN, E. B.; ZERINGUE, L.; WILSON, D.; BABCOCK, D. K. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. **Animal Journal Veterinary Research**, v. 45, p. 2607-2612, 1984.

KARSH, F.J. & SUTTON, G.P.- An intra-ovarian site for the luteolytic action of estrogen in the Rhesus monkey. **Endocrinology**, 98:553-61, 1976.

KASTELIC, J. P.; PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. **Theriogenology**. V. 34, p.487-498, 1990.

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

KASTELIC, J.P. Understanding ovarian follicular development in cattle. **Vet. Med.**, v. , p. 64-71, 1994.

WATTS, T. L.; FUQUAY, J. W. Age of the corpus luteum as possible limiting factor in prostaglandin F_{2α} induced cycle synchronization. **Journal Animal Science**, v. 55, Suplem. 1, p. 73, 1982.

WATTS, T. L.; FUQUAY, J. W. Response and fertility of dairy following injection with prostaglandin F_{2α} during early, middle or late diestrus. **Theriogenology**, v. 23 n. 4, p. 655-661, 1985.

WESTFAHL, P. K. Comparison of luteinized unruptured follicles and corpora lutea: steroid hormone production and response to luteolytic and luteotropic agents. **Biology Reproduction**, v. 48, p. 807-817, 1993.

WILLIAMS, E.J.; FISCHERED, D.P.; PFEIFER, D.U.; ENGLAND, G.C.W.; NOAKES, D.E.; DOBSON, H.; SHELDON, M., Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. **Theriogenology**, v. 63, 2005, p. 102-117.

WILTBANK, M. C.; NIESWENDER, G. D. Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 28, p. 103-110, 1992.

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

WILTABANK, M. C.; SHIAO, T. F.; BERGFECT, D. R.; GINTHER, O. J. Prostaglandin F₂ α receptores in the early bovine corpus luteum. **Biology Reproduction**, v. 52, p. 74-78, 1995a.

WILTABANK, M. C.; PURLEY, R.; SILCOX, R. **Novos Enfoques na Reprodução de Bovinos**, I, Passos, MG, 1995b.

WILTABANK, M. C. . How information of hormonal regulation of the ovary has improved understating of timed breeding programs. Proceedings of Annual Meeting of the Society for **Theriogenology**, p. 83-97, 1997.

WILTABANK, M. C.; GALLAGHER, K. P.; CHRISTENSEN, A. K., BRABEC, P. K; KEYES, P. L. Physiological and immunocytochemical evidence for a new concept of blood for regulation in the corpus luteum. **Biology Reproduction**, v. 42, p. 139-149, 2000.

LUCK, M. R.; ZHAO, Y. Structural remodelling of reproductive tissues. **Journal Endocrinology**, v. 146, p. 191-195, 1995.

MAPLETOFT, R. J.; BO, G. A.; ADAMS, G. P. Avanços na manipulação de doadoras e receptoras nos programas de Transferência de Embriões em bovinos. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, v. 28, n. 1, p. 24-51, 2000.

MILLER, H.V.; KIMSEY, P.B.; KENDRICK, J.W.; *et al.*: Endometritis of dairy cattle: Diagnosis, treatment and fertility. **Bovine Pract** 15:13, 1980.

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

MOMONT, H. W.; SEGUIN, B. E. Influence of the day of estrous cycle on response to the PGF_{2α} products: Implications for AI programs for dairy cattle. **Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction**, v. 3, p. 336, 1984.

MONNIAUX, D.; MONGET, P.; BESNARD, N.; HUET, N.; PISSELET, C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. **Theriogenology**, v. 47, p. 3-12, 1997.

MOORE, K.; THATCHER, W.W. Major advances associated with reproduction in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 89, p. 1254-1266, 2006.

MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **J. Reprod. Fertil.**, v. 90, p. 523-533, 1990.

NISWENDER, G. D.; JUENDEL, J. L.; MCGUIRE, W. J.; BELFIORE, C. J.; WILTBANK, M. C. Luteal function, the estrous cycle and early pregnancy. **Biology Reproduction**, v. 50, p. 239-247, 1994.

NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W. Infertility in the cow: structural and functional abnormalities, management efficiencies and non-specific infections. In: **Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8^a Ed.**; Saunders, 2003, 383-472.

OLIVEIRA, F.N. Concentrações sanguíneas de progesterona e metabólitos lipídicos em novilhas tratadas com Norgestomet e Valerato de estradiol (Syncro-Mate B) e submetidas à dieta hiperlipidêmica. Viçosa, MG. 75 p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.

OLIVEIRA, M. M. N. F. Dinâmica folicular ovariana e características reprodutivas de vacas leiteiras no pós-parto após tratamentos com busserelina e cloprostenol. Viçosa, MG: UFV, 1997. 63p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1997.

O'ROURKE, M.; DISKIN, M.; GREENAN, J.M.; ROCHE, J.F. The effect of dose and method of oestradiol administration on plasma concentration of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. **Anim.Reprod.Sci.**, 59, 1-12, 2000.

PAISLEY, L.G. *et al.*, Mechanism and therapy for retained fetal membranes and uterine infections in the cow. **Theriogenology**, 25:353-381, 1986.

PANKOWSKI, J. W. *Use Prostaglandin F₂ α as a postpartum reproductive management tool in lactating dairy cattle*. PhD. Diss, Cornell Univ., Ithaca, NY, 1994.

PARKINSON, T. J.; JENNER, L. T.; LAMMING, G. E. Comparison of oxytocin / prostaglandin F₂ α interrelationships in cyclic on pregnancy cows. **Journal Reproduction Fertility**, v. 90, p. 337-345, 1990.

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

PIERSON,R.A.; GINTHER,O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenology**, v. 29, n.1, p. 21-37, 1988.

PRATT,S.L.; SPITZER, J.C.; BURNS, G.L.; PLYLER, B.B; Luteal function, estrus response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. **J. Anim. Sci.**; 69, 2721-2726, 1991.

RHODES, R.C.; RANDEL, R.D.; LONG, C.R. Corpus luteum function in the bovine: in vivo and in vitro evidence for both a seasonal and breedtype effect. **J. Anim. Sci.**, v.55, p.159-167, 1982.

RHODES, F.M.; FITZPATRICK, L.A.; ENTWISTLE, K.W.; De'ATH, G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. **J. Reprod. Fert.**, v.104, n.1, p.41-49, 1995.

RIBADU, A.Y.; WARD, W.R.; DOBSON, H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation *per rectum*, ultrasonography, and plasma progesterone concentrations. **Vet. Rec.**, v.135, p.425-457, 1994.

ROBERTS, J.S.; Veterinary obstetrics and genital diseases- **Theriogenology**. P. 398-427, New York, 1986.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002, 265p.

SANTOS, J.C.; Dinâmica folicular em bovinos da raça Gir no inverno e no verão. 2001.38f. **Dissertação** (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 83, p. 663-671, 1988.

SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L.; de La SOTA, R.L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. **J. Reprod. Fert.**, v.97, p.197-203, 1992.

SCHAMS, D. Paracrine / autocrine regulation of bovine corpus luteum function. **Journal Reproduction Development**, v. 42 (Suppl.), p. 54-57, 1996.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biol. Reprod.**, v.39, n.2, p.308-317, 1988.

SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA E GENÉTICA (**SAEG**), UFV, Central de processamento de dados, Viçosa- M.G., 1999.

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

STAPLES, C. R.; BURKER, J. M.; THATCHER, W. W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal Dairy Science**, v. 81, p. 856-871, 1998.

STELLFLUG, J.N.; LOUIS, T.M.; GOREWIT, R.C.; OXENDER, W.D.; HAFS, H.D.- Luteolysis induced by prostaglandin F2 before and after hysterectomy in heifers. **Biol. Reprod.**, 17:535-40, 1977.

TOM, J. W.; PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P. Quantitative echotexture analyses of bovine corpora lutea. **Theriogenology**, v. 49, p. 1345-1352, 1998.

TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.71, n.1, p.61-68, 1991.

VACA,L.A.; GALINA,C.; FERNÁNDEZ-BACA,S.; ESCOBAR,J.; RAMÍREZ,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.1, p.67-76, 1983.

VASCONCELOS, J. L. M. Hormônios para sincronização do estro em vacas. MILK POINT, **Radares Técnicos, Reprodução**. 2p. ,20/04/2000.

VIANA, J. H. M.; TORRES, C. A. A.; FERNANDES, C. A. C.; FERREIRA, A. M. Avaliação ultrassonográfica do corpo lúteo em novilhas mestiças utilizadas como receptoras embrião. **Arquivo Reprodução Animal**, v. 5, p. 42-47, 1998a.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A. Função luteal em vacas da raça Gir. XVI Encontro de Pesquisa da UFMG, **Anais ...**, p. 49, 1998b.

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

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Follicular dynamics in Zebu cattle. **Pesq. Agrop. Bras. Brasília**, v.35, n.12, p.2501-2509, dez.2000.

VILLA-GODOY, A.; HUGHES, T. L.; EMERY, R. S.; CHAPIN, L. T.; FOGWEEL, R. J. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cattle. **Journal Dairy Science**, V. 71, p. 1063-1072, 1988.

YOUNGQUIST, R. S. Current Therapy in Large Animal. **Theriogenology** – Section II – Chapter 32 (Clinical Reproductive Physiology of the cow). p. 257-267, 1997.