

FERNANDO AUGUSTO COGO DE SOUSA

*Efeitos da gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre as características reprodutivas de fêmeas eqüinas candidadas a receptoras de embriões*

Pirassununga - SP  
2006

FERNANDO AUGUSTO COGO DE SOUSA

*Efeitos da gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre as características reprodutivas de fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**Departamento:**  
Reprodução Animal

**Área de Concentração:**  
Reprodução Animal

**Orientador:**  
Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda

Pirassununga - SP  
2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1694  
FMVZ

Sousa, Fernando Augusto Cogo de  
Efeitos da gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre as características reprodutivas de fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões / Fernando Augusto Cogo de Sousa.- Pirassununga : F. A. C. de Sousa, 2006.  
81 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2006.

Programa de Pós-graduação: Reprodução Animal.  
Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda.

1. Eqüinos. 2. hCG. 3. Hormônios progesteronais. 4. Transferência de embriões. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

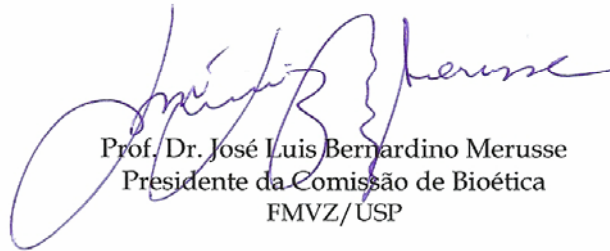
*Comissão Bioética*

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Taxa de prenhez, concentração plasmática de progesterona e aspectos reprodutivos em receptoras de embriões eqüinos tratadas com hCG em diferentes dias do ciclo estral", protocolo nº882/2006, utilizando 60 (sessenta) eqüinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Pregnancy rates, plasmatic concentration of progesterone and reproductive aspects in embryo receivers mares treated with hCG in different estrus days", protocol number 882/2006, utilizing 60 (sixty) equines, under the responsibility of Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 07 de abril de 2006



Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SOUSA, Fernando Augusto Cogo

Título: Efeitos da gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre as características reprodutivas de fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Fernando Augusto Ribeiro de Sousa e Mara de Oliveira Cogo Ribeiro de Sousa, que sempre me apoiaram, me deram força e nunca negaram esforços em me ajudar na realização deste trabalho.

Ao meu grande amigo, mestre João Junqueira Fleury ("in memoriam"), que me mostrou o mundo da reprodução, concedeu o meu primeiro emprego, me apresentou ao meu orientador e me estimulou a ingressar no mestrado.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos Karina Mara Cogo de Sousa e Marcelo Augusto Cogo de Sousa, que sempre foram meus melhores amigos, companheiros, conselheiros, etc... Obrigado por sempre estarem presentes na minha vida.

Aos meus avós: Joaquim Cogo Filho, Marina de Oliveira Cogo, Antonio Ferreira de Sousa e Maria Cândida Pereira Ribeiro ("in memoriam"), por construírem essa grande família que muito nos orgulha. Foi a educação e o exemplo de vocês que fizeram tudo isso.

Ao grande amigo, professor e orientador Rubens Paes de Arruda, que me apresentou ao mundo da pesquisa, sempre doando um pouco de seu vasto conhecimento e contribuindo da melhor maneira possível no meu desenvolvimento profissional e intelectual. Obrigado. Serei sempre grato ao senhor.

Aos meus amigos e companheiros do VRA, André (Freire), André (Andrade), André (Granito), Alexandre (Alemão), Alexandre (Garcia), Cláudia (Bertan), Cláudia (Raphael), Eneiva (Carlinha), Fernando (Pardo), Fernando (Fernandão) Filipe, Gutinho, Juliana, Karen, Luis, Marcelo (Ubatuba), Norma, Patrícia, Pauline, Pércio, Silas, Vanessa, Vagner (Whippet) e Zé Rodrigo, pelas trocas de conhecimento, pelo convívio e pela grande amizade.

Aos Profs. Drs. Ed Hoffman Madureira, Mario Binelli e Anneliese de Souza Traldi, professores de grande conhecimento que ajudam o CBRA a ser um centro exemplar.

À Harumi D. Shiraishi, por ser uma profissional exemplar, sempre disposta e prestativa.

À Perla Dagher Cassoli Fleury e a Maria Augusta Alonso, verdadeiras amigas e grandes veterinárias que sem o apoio delas esse trabalho não seria concretizado.

A todos os funcionários da Central Fleury de Reprodução Equina e do Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal, o meu muito obrigado.

À Luciana Andrade de Carvalho, minha namorada, conselheira, amiga. Pela inspiração, compreensão, acolhimento e por fortalecer meu coração.

À Elza Faquim, por toda a sua disposição e dedicação, no auxílio da padronização da dissertação.

A todos aqueles que tive a oportunidade de conviver, e que porventura infelizmente não estão mais neste mundo.

## RESUMO

SOUSA, F. A. C. **Efeitos da gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre as características reprodutivas de fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões.** [Effects of human chorionic gonadotropin (hCG) on the reproductive characteristics of equine females candidates to embryo recipients]. 2006. 81f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

Visando elevar a taxa de concepção das receptoras em programas de transferência de embriões (TE), pesquisadores têm buscado aumentar o perfil progesterônico visando aumentar a taxa de prenhez. Para isto, tem se utilizado fármacos, como anti-prostaglandínicos, progesterona, gonadotrofina coriônica humana (hCG) e análogos do GnRH. Estes estudos vêm apresentando resultados de grande importância, uma vez que o aumento do perfil progesterônico torna possível diminuir o número de receptoras por embrião, minimizando os custos e com isso possibilitando uma maior difusão da técnica de TE. Neste estudo a hCG foi utilizada no intuito de melhorar as condições reprodutivas de fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões. As éguas foram divididas em três grupos: G 1 (n=28)- administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo atingiu diâmetro médio  $\geq 35$  mm; G 2 (n=28)- administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo atingiu diâmetro médio  $\geq 35$  mm e G 3 (n=28)- administração de 2.500 UI de hCG (Vetecort<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação (D1). Nos três grupos foram avaliadas, no D6, por palpação retal e/ou ultra-sonografia as seguintes características reprodutivas: tônus uterino e cervical, morfoecogenicidade uterina e luteal e diâmetro do corpo lúteo. De acordo com estes dados as fêmeas eqüinas foram ordenadas como de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> ou 4<sup>a</sup> escolha, sendo as éguas que apresentaram as características reprodutivas desejadas em receptoras foram consideradas como de 1<sup>a</sup> escolha, e as que apresentaram as características menos desejadas como 4<sup>a</sup> escolha. As concentrações plasmáticas de progesterona foram mensuradas nos dias D0, D2, D4, D6 e D8. Foi encontrada maior concentração de progesterona plasmática nos grupos tratados (G2 e G3) em relação ao controle (G1) no dia da ovulação (D0), no D4 e na concentração média total dos dias  $[(D0+D2+D4+D6+D8)/5]$  ( $P<0,05$ ). O tônus cervical apresentou diferença entre os



grupos ( $P < 0,05$ ), sendo que o G3 foi o melhor grupo para essa categoria reprodutiva. A ordem de escolha da receptora diferiu ( $P < 0,05$ ) entre os grupos, sendo que o G3 apresentou uma maior porcentagem de éguas classificadas como de 1ª escolha. Constatou-se correlação positiva e moderada entre o tamanho do corpo lúteo e a produção de progesterona ( $r = 0,41$ ) ( $P < 0,05$ ). Neste estudo pode-se concluir que: a hCG induz aumento na concentração plasmática de progesterona e eleva a porcentagem de receptoras aptas a receberem embriões; existe correlação entre o tamanho do corpo lúteo e a produção de progesterona; e a morfoecogenicidade do corpo lúteo não influencia na concentração plasmática de progesterona em fêmeas eqüinas.

Palavras-chave: Eqüinos. hCG. Hormônios progestacionais. Transferência de embriões.

## ABSTRACT

SOUSA, F. A. C. **Effects of human chorionic gonadotropin (hCG) on the reproductive characteristics of equine females candidates to embryo recipients.** [Efeitos da gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre as características reprodutivas de fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões]. 2006. 81f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

To improve the conception rates of the recipients in embryo transfer (ET) programs, researchers have studied how to increase the progesteronic profile aiming to increase the pregnancy rate. This results were reached by exogenous administration of anti-prostaglandins, progesterone, human chorionic gonadotropin (hCG) and gonadotropin (hCG) and analogs of the GnRH. These works had showed greater results, at once, the elevation of the progesteronic profile made possible the decrease in the number of recipients per embryo: reducing the costs and facilitating the diffusion of the ET technique. In this study, hCG was used in an attempt to improve the reproductive conditions of mare candidates to embryo recipients. The mares were located in three groups: G 1 (n=28) - administration IM of 1 mL of saline solution, when follicle reached mean diameter  $\geq 35$  mm; G 2 (n=28) - administration of 2.500 UI of hCG (Vetecort<sup>®</sup>), IM, when follicle reached  $\geq 35$  mm mean diameter and G 3 (n=28) - administration of 2.500 UI of hCG (Vetecort<sup>®</sup>), IM, on the following day of the ovulation (D1). Reproductive characteristics were assessed on the D6 by rectal palpation and/or ultrasonographic scanning: uterine and cervical tone, uterine and luteal morphoechogenicity and diameter of the corpus luteum. Based on the reproductive characteristics assessment, equine females were put into four classifications. The mares that had presented the most desirable reproductive characteristics were the 1<sup>st</sup> classification, and the ones that had presented the worst desired characteristics were the 4<sup>th</sup> choice. The plasmatic concentrations of progesterone were measured out on the days D0, D2, D4, D6 and D8. Higher plasmatic progesterone concentration was found in G2 and G3 on the day of the ovulation (D0), and on D4 ( $p < 0.05$ ). In addition, higher plasmatic progesterone mean concentration was found for days D0, D2, D4, D6 and D8 ( $p < 0.05$ ). Cervical tone presented difference among the groups ( $p < 0.05$ ) in which the G3 was the best group

for this reproductive characteristic. The order of choice of the recipients differed ( $p < 0.05$ ) among the groups. The G3 showed a higher percentage of mares in the 1st choice classification. Positive and moderate correlation was evidenced between the size of the corpus luteum and the production of progesterone ( $r = 0.41$ ) ( $p < 0.05$ ). In this study, it can be concluded that: hCG induces an increase in the plasmatic concentration of progesterone and raises the number of mares with the capacity to receive embryos; correlation exists between the size of the corpus luteum and the production of progesterone; and the morphoechogenicity of the corpus luteum does not influence the plasmatic concentration of progesterone in mares.

Key words: Equine. hCG. Progestational hormones. Embryo transfer.

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Análise de variância da concentração plasmática de progesterona – Pirassununga – 2006 .....	51
--	----

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Médias das concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) nos dias 0 (dia da ovulação), 2, 4, 6 e 8, conforme os grupos - São José do Rio Pardo – 2005 ..... 55
- Gráfico 2 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus uterino 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,0517$ ) - São José do Rio Pardo – 2005 ..... 56
- Gráfico 3 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus cervical 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,0087$ ) - São José do Rio Pardo – 2005 ..... 58
- Gráfico 4 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de morfoecogenicidade uterina 1 (ausência de edema endometrial), 2, 3 ou 4 (edema endometrial intenso) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,1020$ ) - São José do Rio Pardo – 2005 ..... 59
- Gráfico 5 - Porcentagem de éguas examinadas no D6, apresentando corpos lúteos com centro ecogênico e centro não ecogênico entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,2134$ ) – São José do Rio Pardo – 2005 ..... 61
- Gráfico 6 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 segundo a ordem de escolha 1<sup>a</sup> (melhores características de diestro) 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> (piores características de diestro) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,0014$ ) – São José do Rio Pardo – 2005 ..... 63

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias ( $\pm$ desvio padrão) das concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) nos dias 0 (dia da ovulação), 2, 4, 6 e 8, conforme os grupos e seus contrastes C1 e C2 - São José do Rio Pardo – 2005 .....	54
Tabela 2 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus uterino 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005 .....	56
Tabela 3 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus cervical 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005 .....	57
Tabela 4 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de morfoecogenicidade uterina 1 (ausência de edema endometrial), 2, 3 ou 4 (edema endometrial intenso) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005 .....	59
Tabela 5 - Porcentagem de éguas examinadas no D6, apresentando corpos lúteos com centro ecogênico e centro não ecogênico entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005 .....	60
Tabela 6 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 segundo a ordem de escolha 1 <sup>a</sup> (melhores características de diestro) 2 <sup>a</sup> , 3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> (piores características de diestro) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005 .....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\alpha$	alfa
$\beta$	beta
$\mu\text{m}$	micrômetro
3 $\beta$ -HSD	3 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase
AMPc	adenosina monofosfato cíclico
ANOVA	análise de variância
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IM	Intramuscular
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
mg	miligrama
MHz	Megahertz
mL	mililitro
mm	milímetro
n	número de unidades experimentais
ng	nanogramas
P	nível de significância
P4	Progesterona
PBR	Receptor benzodiazepínico tipo periférico
PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub>	Prostaglandina F <sub>2<math>\alpha</math></sub>
PKA	Proteína kinase A
r	coeficiente de correlação
RIA	Radioimunoensaio
SAS	Statistical Analysis System (Sistema de Análise Estatística)
StAR	Proteína esteroidogênica reguladora aguda
TE	Transferência de embriões
UI	Unidades internacionais

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
<	menor que
≥	maior ou igual
/	por (1/100)
±	mais ou menos
=	igual
x	vezes
°	grau
®	marca registrada
°C	graus Celsius
-	menos / negativo
+	mais
>	maior que



## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	18
2	<b>HIPÓTESES</b> .....	22
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	24
4	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	26
4.1	OOGÊNESE .....	27
4.2	FOLICULOGÊNESE .....	27
4.3	DESENVOLVIMENTO FOLICULAR .....	28
4.4	CICLO ESTRAL .....	29
4.5	OVULAÇÃO .....	31
4.6	CORPO LÚTEO .....	32
4.7	PROGESTERONA .....	36
4.8	GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA .....	38
4.9	SELEÇÃO DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO .....	42
5	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	45
5.1	LOCAL E PERÍODO .....	46
5.2	ANIMAIS .....	46
5.3	MANEJO REPRODUTIVO .....	46
5.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	47
5.4.1	<b>Tratamento</b> .....	47
5.4.2	<b>Avaliação do sistema reprodutivo</b> .....	47
5.4.2.1	Tônus do útero .....	48
5.4.2.2	Tônus da cérvix .....	48
5.4.2.3	Morfoecogenicidade do útero .....	48
5.4.2.4	Morfoecogenicidade do corpo lúteo .....	49
5.4.2.5	Diâmetro do corpo lúteo .....	49
5.4.2.6	Ordem de escolha da candidata a receptora de embrião .....	49
5.4.2.7	Acompanhamento do desenvolvimento folicular (determinação de folículo $\geq 35\text{mm}$ ) .....	50
5.4.3	<b>Dosagem hormonal</b> .....	50
5.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	50
6	<b>RESULTADOS</b> .....	52
6.1	PROGESTERONA .....	53

6.2	TÔNUS UTERINO.....	55
6.3	TÔNUS CERVICAL.....	57
6.4	MORFOECOGENICIDADE UTERINA .....	58
6.5	MORFOECOGENICIDADE LUTEAL .....	60
6.6	CORRELAÇÃO ENTRE TAMANHO DO CORPO LÚTEO E A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA.....	61
6.7	ORDEM DE ESCOLHA DA CANDIDATA A RECEPTORA.....	61
7	<b>DISCUSSÃO</b> .....	64
8	<b>CONCLUSÕES</b> .....	69
9	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	71

# **1 *INTRODUÇÃO***

---

A técnica de transferência de embriões (TE) em eqüinos começou a ser estudada em 1972 por Oguri e Tsutsumi (1972), mas o primeiro resultado positivo de transferência de embriões por uma técnica não cirúrgica só foi obtido em 1974 quando Oguri e Tsutsumi (1974) conseguiram o nascimento de 6 potros de um total de 15 embriões transferidos.

No Brasil, a TE em eqüinos foi introduzida em 1987 por Fleury et al. (1987), adaptando a metodologia descrita por Douglas (1979) às condições brasileiras.

O procedimento da TE foi bastante estudado e atualmente a metodologia mais utilizada é a inovulação não cirúrgica coberta, associada à avaliação e seleção da égua receptora.

As principais vantagens do uso da TE são: o aumento da influência das linhagens maternas, pois uma égua doadora de embriões passa a produzir mais de um potro por ano com sua carga genética; potras com dois anos de idade passam a produzir descendentes, levando a uma diminuição no intervalo entre gerações e conseqüentemente o aumento da velocidade e da eficiência do melhoramento genético; obtenção de embriões provenientes de éguas com idade avançada e com grande potencial genético e de éguas em treinamento intensivo e participando de competições que devido a estes fatores não podem gestar. Além das vantagens descritas acima, existem outras em relação ao comércio de material genético, pois o transporte de embriões é um método bastante eficiente para a prevenção da transmissão de doenças entre criatórios e facilita a comercialização de material genético entre países, melhorando a balança comercial com a exportação de embriões originados de animais geneticamente superiores. A TE associada a criopreservação também pode ser utilizada como reserva biológica.

Por esses motivos, a utilização da TE tem crescido de maneira bastante significativa nestas últimas décadas, apesar da maioria das associações de criadores de eqüinos limitarem o número de animais registrados por matriz e a associação dos criadores de cavalos da raça puro sangue inglês (uma das raças mais difundidas no mundo) proibir totalmente o uso desta técnica, além da dificuldade em se trabalhar com uma espécie que apresenta uma fisiologia única e bastante complexa, o que gera dificuldades e limita o uso da técnica em grande escala como é realizado na indústria bovina.

A utilização da TE pelos criadores brasileiros de eqüinos fez com que o Brasil fosse considerado o país com maior número de transferências realizadas no ano de

2003 (CARMO; ALVARENGA, 2003), mas com a aceitação do uso da técnica pela American Quarter Horse Association, os Estados Unidos da América passou a liderar o número de transferências anuais de embriões eqüinos.

Para se obter sucesso com um programa de transferência de embriões, os técnicos dependem de diversos fatores relacionados à égua doadora, ao garanhão, a manipulação e manutenção do embrião, a técnica de transferência, a receptora, condições climáticas, entre outros. Mas o fator mais importante certamente está relacionado à égua receptora, pois é esta que irá reconhecer o embrião e fornecer condições necessárias para o seu desenvolvimento.

Sabe-se que é fundamental a utilização de éguas receptoras com aparelho reprodutor em condições adequadas e responsivo aos estímulos da progesterona, de preferência entre 4 e 9 dias após a ovulação.

Atualmente, o grande entrave para uma maior utilização da técnica de TE pelos criadores são as receptoras. Para cada embrião a ser transferido, o ideal são ter três receptoras sincronizadas com a doadora, para serem avaliadas anteriormente a inovulação. Porém, o alto custo da manutenção destas fêmeas acaba impossibilitando muitos criadores de realizarem o uso desta técnica com bons resultados.

Altos índices de gestação são obtidos quando se utiliza receptoras de embriões apenas candidatas de primeira ou de segunda escolha, ou seja, éguas que apresentam as melhores características reprodutivas de diestro (tônus uterino e cervical elevado, morfoecogenicidade uterina homogênea e presença de corpo lúteo) e ausência de qualquer patologia uterina e vaginal. Éguas classificadas como de terceira e quarta escolha não devem ser utilizadas neste ciclo estral, quando se objetiva elevadas taxas de prenhez.

Portanto, é necessário que se realizem mais estudos com eqüinos objetivando tornar a TE uma técnica cada vez mais acessível, diminuindo os custos e aumentando sua eficiência, e com isso melhorar a genética dos plantéis, e aumentar o intercâmbio de animais geneticamente superiores.

Visando elevar a taxa de concepção das receptoras, pesquisadores têm buscado aumentar o perfil progesterônico (animais com concentrações maiores de progesterona apresentam maiores taxas de prenhez, tônus uterino e cervical mais elevado e morfoecogenicidade uterina mais homogênea). Para isto, tem se utilizado a aplicação de fármacos, como anti-prostaglandínicos, progesterona, e mais

recentemente a hCG e análogos do GnRH. Estes estudos vêm apresentando resultados de grande importância, uma vez que o aumento da eficiência da técnica torna possível diminuir o número de receptoras por embrião, minimizando os custos e com isso permitindo que maior quantidade de criatórios utilizem esta técnica.

Em bovinos estudos utilizando hCG durante a fase luteal, após a inseminação artificial ou transferência de embriões, têm demonstrado um aumento de 10 a 12% na taxa de prenhez.

Fleury (2004) administrando 3000 UI de hCG, por via intramuscular (IM) em fêmeas eqüinas receptoras no dia da transferência de embriões obteve um aumento significativo na produção de progesterona ( $P < 0,001$ ), também foi notado uma diferença numérica na taxa de prenhez tanto no 13º como no 16º dia de gestação, sendo que as éguas tratadas com hCG apresentaram 87,5 e 81,3% de taxa de prenhez enquanto as éguas tratadas com 5 mL de solução salina, IM, apresentaram apenas 66,7 e 55,6%, respectivamente.

Devido a grande influência das receptoras de embriões eqüinos nos resultados da técnica, e ainda a importância de se melhorar a eficiência reprodutiva das mesmas, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da hCG quando utilizada em éguas candidatas a receptoras em estro, que apresentem folículos com diâmetro  $\geq 35$ mm, e em candidatas a receptoras na fase de diestro, no dia seguinte a ovulação (D1).

**2 HIPÓTESES**

---

1. A hCG apresenta efeito luteotrófico, elevando a concentração plasmática de progesterona nas fêmeas eqüinas.
2. O uso da hCG melhora as características reprodutivas de éguas receptoras de embriões.
3. A aplicação da hCG aumenta o número de éguas receptoras de embriões de primeira e segunda escolha.
4. Existe correlação entre o tamanho do corpo lúteo e a produção de progesterona.
5. Existe correlação entre a morfologia luteínica e a produção de progesterona.



### **3 OBJETIVOS**

---

Este experimento foi delineado com os seguintes objetivos:

1. Verificar nos dias D0 (dia da ovulação), D2, D4, D6 e D8 se o uso da hCG, quando administrada por via IM em fêmeas eqüinas, altera a concentração plasmática de progesterona.
2. Avaliar no sexto dia pós-ovulação (D6) os efeitos da aplicação da hCG em fêmeas eqüinas sobre as características reprodutivas: tônus uterino e cervical, morfoecogenicidade uterina, diâmetro e morfoecogenicidade de corpos lúteos.
3. Avaliar o efeito da aplicação de hCG sobre a ordem de escolha em fêmeas eqüinas examinadas no sexto dia pós-ovulação (D6).
4. Verificar a existência de correlação entre o tamanho do corpo lúteo e a concentração plasmática de progesterona.
5. Verificar a existência de correlação entre a morfoecogenicidade do corpo lúteo e a concentração plasmática de progesterona.

## **4 REVISÃO DE LITERATURA**

---

#### 4.1 OOGÊNESE

No início do desenvolvimento fetal, as células primordiais, originárias do saco vitelínico, migram para a crista genital e colonizam as gônadas ainda não diferenciadas, sendo denominadas de oogônias (VAN DEN HURK; BEVERS; BECKERS, 1997). Nos eqüinos, as células primordiais passam a sofrer mitoses e são consideradas oogônias ao redor dos 50 dias de gestação (DEANSLY, 1978).

Após o período de divisão mitótica as oogônias passam a multiplicar-se através de meioses, originando os oócitos primários (aproximadamente 75 a 160 dias de gestação) que ficam em estado de latência (GINTHER, 1990).

Os mecanismos responsáveis pela ativação dos folículos primordiais e pela variação temporal entre o início do crescimento folicular em cada folículo ainda não foram elucidados (FORTUNE et al., 2000).

Os folículos primordiais são os menos desenvolvidos e são encontrados em maior número no ovário (DRIANCOUT; PALMER, 1984).

O número de folículos que geralmente chegam ao estágio ovulatório é muito pequeno; estima-se que 99% dos folículos ovarianos sofrem atresia (WEBB et al., 1999).

#### 4.2 FOLICULOGÊNESE

O desenvolvimento folicular é caracterizado pela proliferação e diferenciação das células da granulosa. A formação de múltiplas camadas de células da granulosa ao redor do oócito dá origem ao folículo secundário (HAFEZ; HAFEZ, 2000).

Nas éguas, os folículos começam a apresentar antro quando atingem por volta de 300 µm de diâmetro. As células da teca formam-se ao redor das células da granulosa e originam duas subcamadas: a teca externa, constituída quase totalmente por tecido conjuntivo, e a teca interna que é a subcamada vascular. As células da teca produzem andrógenos esteróides e as células da granulosa produzem estrógeno e inibina, originando a formação do folículo terciário (KENNEY et al., 1979).

Os folículos antrais se tornam dependentes de gonadotrofinas, que se evidencia pela presença de receptores de FSH nas células da granulosa e de receptores de LH nas células da teca (WEBB et al., 1999).

#### 4.3 DESENVOLVIMENTO FOLICULAR

O desenvolvimento folicular ocorre em ondas. Segundo Ginther (1993) as ondas foliculares podem ser classificadas como maiores, quando apresentam folículos dominantes e menores, no qual não se observa dominância folicular. As ondas maiores podem ser primárias, quando o folículo dominante é ovulatório ou secundária quando este folículo é anovulatório ou dá origem a uma ovulação de diestro.

A emergência de uma nova onda folicular está temporariamente associada com a presença de FSH circulante. A concentração plasmática de FSH se eleva até o folículo maior atingir, aproximadamente, 13 mm de diâmetro, quando tem-se o pico na produção de FSH. A partir deste momento começa a ocorrer um declínio do FSH circulante (GINTHER, 2000).

Quando o folículo apresenta um diâmetro de aproximadamente 22 mm, ocorre a fase de dominância, na qual um folículo começa a apresentar taxa de crescimento superior aos outros. Um folículo, geralmente o maior, se torna o dominante e continua crescendo até atingir o tamanho pré-ovulatório, enquanto os outros folículos (subordinados) começam a sofrer regressão. Este resultado indica que o folículo destinado para ser o dominante tem o seu tamanho como vantagem. O folículo dominante libera inibina, impedindo que o segundo maior folículo cresça da mesma maneira que o dominante. O mecanismo pelo qual o dominante continua a crescer e a inibir o crescimento dos demais folículos ainda é incerto (GASTAL et al., 1997).

A inibina é um hormônio glicoprotéico que inibe a secreção de FSH pela hipófise. Nos mamíferos, a inibina é secretada pelas células da granulosa, e em éguas, as pesquisas demonstram que provavelmente a inibina seja o fator de maior influência no controle do FSH (MILLER; WESSON; GINTHER, 1981).

Nambo et al. (1998) sugerem que a inibina é necessária para uma seleção adequada do folículo ovulatório em éguas cíclicas. Em seus estudos os autores demonstraram que este hormônio é um importante fator na regulação da secreção de FSH em éguas.

Gastal et al. (2000) alegam que o LH não está envolvido no início da divergência folicular, pois os folículos não apresentam receptores para este hormônio, mas é o principal agente responsável pelo crescimento do folículo dominante.

#### 4.4 CICLO ESTRAL

Eqüinos são animais poliéstricos estacionais, pois geralmente a época reprodutiva só ocorre na primavera e no verão. Três são os fatores básicos que explicam o caráter estacional dos ciclos estrais nas éguas: nutrição, temperatura e fotoperíodo (ARRUDA, 1990).

Éguas mantidas sob dias longos (16h) apresentam atividade ovariana cíclica, enquanto éguas mantidas em dias curtos (8.5h) apresentam ovário em anestro. Isto ocorre, pois em éguas os dias curtos estão associados ao decréscimo na secreção de gonadotrofinas e conseqüentemente, a uma diminuição da atividade ovariana (NAGY; GUILLAUME; DAELS, 2000).

A definição mais próxima da ideal de ciclo estral em éguas é a do período entre duas ovulações, no qual existe uma fase onde a égua apresenta sinais de estro, ou quando esses sinais não forem aparentes, que ocorra uma baixa concentração de progesterona (concentração inferior a 1 ng/mL) (HUGHES; COUTO; STABENFELD, 1986).

O ciclo estral em éguas apresenta uma duração média de  $21,7 \pm 3,5$  dias. A fase folicular ou de estro apresenta uma duração média de  $6,5 \pm 2,6$  dias e a fase luteal ou de diestro  $14,9 \pm 2,8$  dias durante a estação fisiológica de monta (GINTHER, 1992a).

No estro, a fêmea eqüina apresenta receptividade sexual ao macho, o trato genital está preparado para aceitar e transportar os espermatozóides e a ovulação

irá ocorrer. Já no diestro, a fêmea não é receptiva sexualmente ao macho e o trato genital está preparado para receber e nutrir o conceito (DAELS; HUGHES, 1993).

Durante o estro, o endométrio eqüino apresenta-se edemaciado e o útero apresenta um aumento na sua contratilidade, fazendo com que a pressão intra-uterina se eleve e auxilie o transporte dos espermatozoides até a junção útero tubárica (ALLEN et al., 2002). A secreção de progesterona, por sua vez, pode alterar o edema uterino, tanto em quantidade (menor edema) como em qualidade (menor duração); demonstrando o efeito da progesterona na dissipação do edema uterino (PELEHACH et al., 2002).

Alterações notadas na palpação uterina são usadas clinicamente e experimentalmente como uma forma para determinar o estágio do ciclo estral nas éguas. Durante o estro o tônus uterino é relativamente flácido e vai se tornando mais tenso durante o diestro até por volta do dia 16 a 25 de gestação, quando o útero apresenta sua tensão máxima. Durante o início da gestação o tônus uterino é de suma importância para a fixação e orientação da vesícula embrionária (HAYES; GINTHER, 1986).

Bonafos et al. (1994) afirmaram que a progesterona é o único fator capaz de promover um aumento do tônus uterino. A partir do 30º dia de gestação o tônus uterino não apresenta diferença estatística entre éguas não prenhes tratadas com 100mg de progesterona desde o dia da ovulação e éguas gestantes. No entanto, entre os dias 11 e 29 de gestação as éguas prenhes apresentam um maior tônus devido a uma estimulação local realizada pelo conceito durante o período de mobilidade. Porém, Hayes e Ginther (1986), utilizando éguas ovariectomizadas, constataram que a progesterona é capaz de causar tônus equivalente ao observado no diestro, mas o tônus máximo, semelhante ao tônus encontrado por volta do dia 16 a 25 pós-ovulação, só é detectado quando a progesterona está associada ao estrógeno. Samper (1997) afirma que o edema uterino é um indicador confiável da competência estrogênica do folículo dominante, mas Watson, Thomassen e Nikolakopoulos (2003) demonstraram que o edema uterino pode ocorrer na presença de folículos anovulatórios, até mesmo quando estes folículos produziram baixas concentrações de estradiol.

Em eqüinos, semelhante aos bovinos e ovinos, durante a fase luteal ocorre o desenvolvimento de ondas de crescimento folicular, diferente do que ocorre em

ratos, suínos e primatas, em que o crescimento folicular fica restrito à fase folicular (FORTUNE, 1994).

Uma onda folicular maior se inicia no meio da fase luteal em ciclos estrais ovulatórios normais em éguas, sendo que o início da fase folicular coincide quando o folículo dominante selecionado na fase de divergência atinge um tamanho maior ou igual a 30 mm de diâmetro, 6 a 7 dias antes da ovulação. No dia da ovulação, o folículo atinge em média 45 mm de diâmetro durante a estação de monta, sendo este diâmetro afetado pelo mês em que a ovulação ocorre, porém esta não ocorre antes que o folículo atinja por volta 35 mm de diâmetro (GINTHER, 1992a).

Uma segunda onda de crescimento folicular ocorre em 30% dos animais no final da fase folicular ou início da luteal (SIROIS; BALL; FORTUNE, 1989), sendo que o folículo dominante da segunda onda pode ovular ou não, durante a fase luteal (GINTHER, 1993).

Meira e Buratini (1998) realizaram um estudo visando à caracterização do desenvolvimento folicular em éguas Mangalarga. Os folículos maiores que 10 mm de diâmetro, no dia 17 do ciclo estral, foram diariamente monitorados individualmente por ultra-sonografia. Uma ou duas ondas foliculares foram detectadas, respectivamente, em 81,25% (13/16) e 18,75% (3/16) dos ciclos.

#### 4.5 OVULAÇÃO

A ovulação na espécie eqüina ocorre quando o folículo atinge por volta de 35 a 60 mm, sendo que a média está em torno de 45 mm (GINTHER, 1990; PIERSON; GINTHER, 1985; SHIRAZI; GHARAGOZLOO; GHASEMZADEH-NAVA, 2004).

Carnevale, McKinnon e Squires (1988), estudando folículos pré-ovulatórios observaram que a ovulação ocorre num período de 5 a 90 segundos, quando pouco ou nenhum líquido folicular fica interno ao folículo após a ovulação.

Na égua, a secreção do hormônio luteinizante (LH) não ocorre de maneira abrupta como nos outros mamíferos, mas sim de maneira crescente e essa produção se inicia 6 a 8 dias antes da ovulação (GINTHER, 1979).

A produção mais alta de LH só irá ocorrer aproximadamente entre os dias 1 e 3 pós-ovulação. O final da maturação do oócito, a ruptura do folículo e a evacuação



do fluido folicular têm que ser bastante coordenada para que ocorra um sucesso na ovulação (PIERSON, 1993).

Um aspecto especial na endocrinologia reprodutiva de eqüinos é que o pico de LH ocorre aproximadamente 2 dias após a ovulação, e a concentração de LH na circulação permanece elevada por um longo período, uma semana ou mais pós-ovulação (MILLER et al., 1980).

Greaves et al. (2001) sugeriram que a queda na liberação de LH pós-ovulação ocorra devido a um "feedback" negativo entre a progesterona e o GnRH. A progesterona age na hipófise, alterando a responsividade ao GnRH e com isso promovendo uma redução da secreção de LH. O GnRH é o maior regulador da secreção tanto de LH quanto de FSH em éguas em diestro (ALEXANDER; IRVINE, 1996).

#### 4.6 CORPO LÚTEO

A nomenclatura corpo lúteo foi dada por Marcello Malpighi entre 1628 e 1694. Regnier de Graff, entre 1641 e 1673, correlacionou o número de corpos lúteos com o número de fetos existentes no útero de coelhos. Prenant, em 1898, sugeriu que o CL seria uma glândula interna que sintetizava substâncias necessárias para a gestação (NISWENDER et al., 2000)

Fraenkel e Dcohn (1901) observaram que a remoção dos corpos lúteos ou dos ovários em coelhas prenhes, resultava em morte dos embriões. Posteriormente, grupos de pesquisa, conseguiram isolar a substância produzida pelo corpo lúteo, concluindo que se tratava de um hormônio esteróide, o qual recebeu o nome de progesterona (ALLEN; WINTERSTEINER, 1934; BUTENANDT; WESTPHAL; COBLER, 1934; SLOTTA; RUSCHIG; FELS, 1934).

Após a ovulação ocorre o início da formação do corpo lúteo que irá atingir o seu tamanho máximo somente após 3 dias da ovulação (NETT et al., 1976; ARRUDA, et al., 2001). Entretanto, apesar do rápido aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona logo após a ruptura do folículo, o pico da atividade funcional do corpo lúteo, gerando concentrações plasmáticas de progesterona em

torno de 6 a 15ng/mL, só é evidenciado no 6º dia após a ovulação (ARRUDA, 1990; ARRUDA et al., 2001).

O corpo lúteo é o local de produção da progesterona que por sua vez, promove o encerramento dos sinais de estro, mantêm a fêmea eqüina não receptiva ao macho e prepara o útero para receber o embrião (ARRUDA, 1995).

Em éguas, a esteroidogênese do corpo lúteo parece estar associada às células da granulosa, pois as células da teca começam a se degenerar momentos antes da ovulação, estando completamente degeneradas em 24 horas. Por outro lado, as células da granulosa passam a sofrer um aumento do seu tamanho e começam a sofrer mudanças citológicas caracterizadas pelos efeitos da luteinização, que só irão se completar 3 dias pós-ovulação (NISWENDER; NETT, 1993).

Em bovinos e ovinos as células luteais grandes originam-se das células da granulosa, sendo que elas são as maiores produtoras em quantidade basal de progesterona e não possuem receptores para LH. As células luteais pequenas são derivadas das células da teca e produzem uma menor quantidade basal de progesterona, entretanto, possuem receptores para LH (FITZ et al., 1982; KOOS; HANSEL, 1981). Em eqüinos, acredita-se que apenas as células da granulosa contribuem para a formação do corpo lúteo (VAN NIEKERK et al., 1975). Em estudo realizado por Broadley (1994) células luteais obtidas por dissociação mecânica com intensa quantidade de células luteais grandes, apresentou maior ligação com LH do que as células obtidas por dissociação da colagenase, predominando células luteais pequenas. Os autores sugestionaram que as células luteais grandes de fêmeas eqüinas apresentam receptores para o LH.

Watson et al. (2000) concluíram em seu estudo, utilizando um potente antagonista de GnRH, que os pulsos de alta amplitude de LH estão envolvidos na manutenção da produção de progesterona pelo corpo lúteo de éguas.

Schmitt et al. (1996b), em estudo com vacas, observaram que o uso do hCG induz aumento na atividade do LH por um maior período (30 horas), fazendo com que ocorra uma formação de um corpo lúteo maior e mais esteroidogênico.

O LH é aparentemente a gonadotrofina responsável pela regulação da secreção de progesterona. Um aumento na secreção de progesterona ocorreu após a administração de hCG em culturas de células luteais "in vitro" (KELLY; HOYER; WISE, 1988). Nesse mesmo estudo Kelly, Hoyer e Wise (1988) observaram que a administração de hCG exógeno em éguas após a ovulação, leva a um aumento da

concentração plasmática de progesterona. Como este aumento ocorreu somente 4 dias após a primeira aplicação, acredita-se que esse aumento na produção de progesterona esteja relacionado a mudanças funcionais no corpo lúteo após a administração da hCG (KELLY; HOYER; WISE, 1988).

O corpo lúteo da maioria das espécies apresenta dois tipos celulares distintos denominados células luteais grandes e células luteais pequenas, fato que também ocorre em éguas. Esses tipos celulares apresentam diferenças na sua capacidade esteroidogênica, sendo que mudanças na distribuição desses grupos celulares podem afetar dramaticamente a produção de progesterona pelo corpo lúteo (BROADLEY, et al., 1994; KELLY; HOYER; WISE, 1988).

A hCG em éguas estimula a transformação de células luteais pequenas em grandes, contribuindo assim para um aumento na produção de progesterona (KELLY; HOYER; WISE, 1988).

Alila e Hansel (1984) notaram evidências de que algumas células luteais pequenas são transformadas em células luteais grandes, em corpos lúteos maduros de bovinos.

Watson e Sertich (1990) observaram que no início do diestro (D4-D5) em éguas existem 46% de células luteais grandes e 54% de células luteais pequenas, já por volta do D8-D9 essa proporção passa a ser de 38% de células luteais grandes e no D12-D13 existem 24% de células grandes e 76% de células pequenas. Neste mesmo estudo, os autores observaram a presença de aproximadamente  $5 \times 10^7$  células luteais por corpo lúteo nos dias 4-5 e 8-9 pós-ovulação, já no dia 12-13 o número de células luteais por corpo lúteo é de aproximadamente  $24 \times 10^7$ . Até o presente momento, ainda não existem informações consistentes sobre as propriedades funcionais das células luteais pequenas e grandes em éguas.

Em bovinos e ovinos, nos quais a produção de progesterona foi melhor estudada, o colesterol sintetizado no fígado é transportado na forma de lipoproteínas para todos os tecidos esteroidogênicos (KRISANS, 1986). O colesterol pode chegar à célula luteal em três formas diferentes denominadas como: lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e colesterol éster. Em condições normais a grande maioria do colesterol utilizado na esteroidogênese é oriundo do sistema circulatório sob a forma de LDL e de HDL (NISWENDER, 2002).

A entrada da LDL para o interior da célula luteal ocorre através de endocitose; o endossomo se combina com o lisossomo, no qual o LDL se dissocia do receptor e

sua molécula é quebrada liberando aproximadamente 2500 moléculas de colesterol livre, disponíveis para a célula (BROWN; GOLDSTEN, 1964).

O HDL extracelular se liga a proteínas do plasma, e assim como o colesterol é transportado para o interior da célula por um mecanismo ainda não definido, mas que aparentemente não ocorre por endocitose (LESTAVEL; FRUCHART, 1994).

O colesterol livre no interior da célula pode ser utilizado na esteroidogênese, na formação da membrana celular, ou biotransformado em colesterol éster o qual funciona como reserva de colesterol intracelular (JOHNSON; PHILLIPS; ROTHBLAT, 1997).

O fator limitante na esteroidogênese está relacionado com o transporte do colesterol (livre no interior da célula) até a mitocôndria onde o mesmo vai ser biotransformado em pregnenolona (NISWENDER, 2002; STEVENS; LAMBETH, 1993). Existem três proteínas no corpo lúteo responsáveis pelo transporte do colesterol para mitocôndria: a proteína esteroidogênica reguladora aguda (StAR), o receptor benzodiazepínico tipo periférico (PBR) e a endozepina (FITZ et al., 1982).

O LH se liga ao receptor localizado na membrana celular, ativando a adenilato ciclase promovendo um aumento na concentração de adenosina monofosfato cíclico (AMPc), que é responsável pela ativação da proteína kinase A (PKA). Com o aumento da PKA ocorre uma maior disponibilidade de colesterol celular, pois esta enzima promove a transformação do colesterol éster em colesterol e ácidos graxos através da enzima colesterol esterase. A PKA também é responsável pela fosforilação da StAR e do PBR, que quando fosforilados promovem um aumento no transporte do colesterol para o interior da membrana mitocondrial, onde a enzima P450cc cliva o colesterol transformando-o em pregnenolona, que é transportado para o retículo endoplasmático liso e por ação da enzima 3 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase (3 $\beta$ -HSD) vai dar origem a progesterona (NISWENDER, 2002; NISWENDER et al., 2000; PAPADOPOULUS et al., 1997).

Fitz et al. (1982) em um estudo com ovinos, notaram que a concentração da StAR não difere entre as células luteais grandes e pequenas, mas que a concentração de endozepina é cerca de 3,5 vezes maior nas células luteais grandes, e provavelmente seja esta diferença, o fator responsável pela maior secreção de progesterona por essas células.

Em relação aos corpos lúteos de fêmeas eqüinas, Pierson e Ginther (1985) alegaram que os mesmos podem apresentar centro ecogênico ou não ecogênico.

Nagy et al. (2004) observaram em seu estudo uma taxa de 69,2% (26/34) de corpos lúteos com ecogenicidade homogênea, e apenas 30,8% (8/34) dos corpos lúteos com centro não ecogênico. Neste mesmo estudo não foi detectada diferença na produção de progesterona entre as duas morfologias. Resultado semelhante ao encontrado por Arruda (1995) e por Townson, Pierson e Ginther (1989).

#### 4.7 PROGESTERONA

A secreção de progesterona pelo corpo lúteo é essencial para que ocorra a prenhez e sua manutenção durante o período inicial de gestação (BAIRD, 1992; HOLTAN et al., 1979).

A concentração plasmática de progesterona só irá se elevar na maioria das éguas entre 10 e 12 horas pós-ovulação, mas existe uma variação individual bastante importante, podendo este aumento ocorrer entre 6 e 60 horas pós-ovulação (PLOTKA et al., 1975; TOWNSON; PIERSON; GINTHER, 1989).

A progesterona atinge sua concentração plasmática máxima de aproximadamente 10ng/mL, por volta do dia 5 a 7 pós-ovulação e é mantida até o dia 13 ou 14 pós-ovulação devido a luteólise que ocorre caso não exista o reconhecimento materno. Já, no reconhecimento materno, o corpo lúteo primário permanece funcional até aproximadamente o 180º dia de gestação, e ao redor do 40º dia os corpos lúteos secundários começam a suplementar a produção de progesterona (GINTHER, 1992a). A produção de progesterona pelo corpo lúteo é necessária para a manutenção da gestação desde o dia da ovulação até por volta do dia 100 ao dia 140 de gestação dependendo da égua, a partir deste momento a placenta passa a produzir progesterona em concentrações suficientes para a manutenção da gestação (HOLTAN et al., 1979).

A concentração plasmática de progesterona normalmente se mantém em concentrações superiores a de 5 ng/mL pelo menos até o 160º dia de gestação (HOLTAN; NETT; ESTERGREEN, 1975).

Progesterona é a única substância absolutamente necessária para a sobrevivência do embrião na égua, visto que a administração de progesterona em éguas ovariectomizadas torna as mesmas aptas a gestarem (SHIDELER et al.,

1982). A concentração plasmática de progesterona é significativamente menor em éguas que abortam do que nas que permanecem gestantes, indicando que uma mínima quantidade de progesterona é necessária para a sobrevivência do embrião (GINTHER, 1985; SHILDER et al., 1982).

Em eqüídeos, uma fraca ligação entre o endométrio e as membranas fetais só para de ocorrer por volta do 38º ao 39º dia de gestação. Durante esse período, o concepto tem seu sustento relacionado com as concentrações de nutrientes do meio uterino. Uma ligação máxima da placenta só ocorre por volta do 150º dia de gestação (GINTHER, 1992a). Isto demonstra que substâncias secretadas pelo útero são essenciais para uma adequada suplementação nutricional durante a fase inicial de desenvolvimento embrionário. Em éguas, existe uma relação entre a secreção de algumas proteínas pelo endométrio associadas às mudanças hormonais durante o ciclo estral e início da gestação (BRÜCK; ANDERSON; HYLAND, 1997).

A secreção contínua de progesterona é essencial para o início e a manutenção da gestação em éguas. A secreção de proteínas específicas do útero foi demonstrada como sendo progesterona-dependente (SHARP, 1980).

A progesterona parece influenciar também a secreção uterina e o crescimento embrionário. Weithenauer et al. (1986) administrando progesterona exógena nos primeiros 18 dias de gestação em fêmeas pôneis conseguiram um significativo aumento no diâmetro do blastocisto. Os mesmos autores, em estudo posterior, observaram um aumento na concentração de proteínas e glicose no fluido intra-uterino no dia 18 pós-ovulação, quando administrado 450 mg de progesterona entre os dias 10 e 18, mas não obtiveram aumento significativo no crescimento do concepto (WEITHENAUER; SHARP; SHERRIN, 1989).

McKinnon et al. (1988) trabalhando com éguas receptoras ovariectomizadas tratadas com progesterona após a transferência do embrião, obtiveram índices de prenhez comparáveis àqueles obtidos com éguas integras.

Shideler et al. (1982) observaram que éguas gestantes com concentração plasmáticas de progesterona abaixo de 2 ng/mL abortam com mais facilidade do que éguas com maiores concentrações.

Douglas, Burns e Hershman (1985) fizeram um estudo avaliando as concentrações plasmáticas de progesterona em éguas inseminadas e constataram que a maioria das éguas que não ficaram prenhez apresentavam no 12º dia pós-ovulação concentrações plasmáticas de progesterona abaixo de 2,5 ng/mL, o oposto

do que foi observado nas éguas que ficaram prenhez, sendo que nas quais as concentrações foram superiores aos 2,5 ng/mL encontrado no primeiro grupo.

McKinnon et al. (1988) não observaram abortamentos em éguas enquanto a concentração plasmática de progesterona manteve-se acima de 2,56 ng/mL.

McDowell et al. (1988) restringiram a migração embrionária através de suturas uterinas em fêmeas eqüinas proporcionando a mínima movimentação do embrião. Em um grupo as éguas no 8º oitavo dia pós-ovulação receberam diariamente progesterona oral (n=5) e apenas uma égua teve perda embrionária (20%), já no outro grupo, em que as éguas não foram suplementadas com progesterona, todas perderam a gestação (100%). Os pesquisadores afirmaram que a restrição da movimentação do embrião leva ao não reconhecimento materno, ocorrendo a luteólise e queda na concentração plasmática de progesterona com posteriormente perda embrionária.

#### 4.8 GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA

Devido a grande variação entre as éguas na duração do estro e no intervalo de ovulação, a indução farmacológica da ovulação é uma importante ferramenta para o manejo reprodutivo (BEREZOWSKI et al., 2004).

Em mulheres, a progesterona oriunda do corpo lúteo é essencial para a manutenção da gestação até a sétima semana (ROSS, 1979). Existe uma grande evidência de que a hCG promova um efeito luteotrófico necessário para a manutenção e otimização da função luteal (FRIED; RAKOFF, 1952). Uma forte coincidência temporal existe entre o aumento dos níveis de progesterona e da hCG no início da gestação (TULCHINSKY; HOBEL, 1973).

A forma com que a hCG e o LH são eliminados das mulheres pode ser dividida em duas fases. A fase inicial é rápida, no qual o LH tem uma meia vida de 21 minutos, enquanto o hCG tem uma meia vida de 5 a 9 horas. Na segunda fase, a eliminação é lenta, sendo que o LH tem uma meia vida de aproximadamente 4 horas enquanto o hCG apresenta uma meia vida variando de 24 a 31 horas (YEN; LITTLE; PEARSON, 1968). Esta diferença ocorre devido a presença de ácido sialicílico, que

reduz a metabolização hepática, aumentando a meia vida do produto (RIZKALLAH; GURPIDE; VAN DE WIELE, 1969).

Em macacos, ovinos, suínos e bovinos, o uso da hCG tem demonstrado um efeito estimulatório na secreção de progesterona pelas células luteais (BOURDAGE; FITZ; NISWENDER, 1984; MARQUES, 2002; OTTOBRE; OTTOBRE; STOUFTER, 1984; ZIECICK; SHAW; FLINT, 1980).

A concentração plasmática da hCG em vacas ficou elevada durante 30 horas e não apresentou seu valor regredido a zero, após 66 horas de efetuada a administração (SCHMITT, 1996b).

A injeção da hCG em vacas, induz a uma elevação na concentração plasmática de progesterona durante a fase luteal, como consequência de uma estimulação direta do corpo lúteo original ou devido a um aumento na diferenciação celular da primeira onda do folículo dominante, promovendo um corpo lúteo acessório mais esteroideogênico (SCHMITT, 1996a).

Desde a década de 70, a hCG tem sido eficiente na indução da ovulação e por isso tem sido utilizada rotineiramente em criações de eqüinos (LOY; HUGHES, 1966).

Loy e Hughes (1966) administraram hCG, por via intravenosa no segundo dia do estro, e encontraram resultados positivos na antecipação da ovulação, sendo que esta ocorreu 48 horas após a injeção (ou seja, no quarto dia do estro) em 88,9% dos animais. A duração do estro também foi reduzida com a aplicação do hormônio e ocorreu uma menor variabilidade neste intervalo entre os animais tratados, quando comparados com os animais controle.

Blanchard, Brinsko e Rigby (2002), aplicando por via intravenosa hCG em éguas com folículos pré-ovulatórios ( $\geq 35$  mm), obtiveram em 48 horas uma taxa de ovulação de 91% (10/11).

O uso da hCG em éguas durante a fase de transição é uma importante metodologia para minimizar custos, tempo e uso dos ganhões, pois reduz o tempo entre o recrutamento do folículo dominante e a ovulação (CARNEVALE et al., 1988).

A utilização da hCG em diversas espécies tem-se demonstrado efetiva na estimulação da liberação de progesterona pelo corpo lúteo (KELLY; HOYER; WISE, 1988).

Wever-Bragg, Pierson e Card (2002) avaliando ultra-sonograficamente e depois utilizando um sistema computacional para conferir a média do número de



pixels, associado inversamente com o edema uterino, observaram que quando as éguas foram tratadas com hCG associada a  $PGF_{2\alpha}$ , ocorreu uma rápida mudança no endométrio em um pequeno espaço de tempo se comparado com o grupo controle. No grupo controle, 36 horas antes da ovulação o útero já não apresentava mais edema enquanto no grupo tratado com hCG mais  $PGF_{2\alpha}$  o edema só desapareceu 12 horas antes da ovulação. Segundo o autor, essa aceleração notada no endométrio, devido a avaliação da média de pixels, sugere que a hCG acelera a maturação folicular e a secreção de estrógeno, os quais influenciam diretamente no edema endometrial.

Num estudo Kelly, Hoyer e Wise (1988) detectaram que a adição de LH ou hCG em células luteais eqüinas cultivadas "in vitro" demonstraram um aumento significativo nas concentrações de progesterona ( $P < 0,05$ ). Diferenças entre o declínio na concentração de progesterona em resposta a diminuição das doses de LH e hCG utilizadas, indicaram que a hCG é mais responsiva que o próprio LH eqüino em culturas celulares ( $P < 0,01$ ). Esses dados discordaram dos resultados encontrados por Broadley et al. (1994) e Condon, Ganjam e Kenney (1979) que não observaram diferença na secreção de progesterona após a administração de hCG em culturas "in vitro". Watson e Sertich (1990) utilizando culturas de células luteais eqüinas, observaram que a produção de progesterona não foi estimulada quando adicionado LH ao meio de cultura.

Carnevale et al. (1988), utilizando 3300 UI de hCG, como agente indutor de ovulação em éguas em transição com folículos  $\geq 40$ mm, observaram que as concentrações de progesterona nos dias 2, 4, 8, 12 e 16 não diferiram entre as éguas tratadas com hCG e as éguas do grupo controle.

Watson, Colston e Broadley (1995) sugerem que o LH exógeno pode ser um agente luteotrófico para o corpo lúteo de éguas. Neste estudo foi detectado um aumento das concentrações plasmáticas de progesterona em 3 de 4 éguas após a administração da hCG, e também foi observado que este hormônio não afetou a frequência dos pulsos de progesterona, mas houve uma tendência em aumentar a amplitude dos pulsos e com isso também aumentar a concentração da progesterona.

Stewart e Allen (1995), estudando o efeito da hCG em humanos, encontraram evidência de que a hCG providencia um estímulo luteotrófico necessário para manutenção da função luteal.

Em um estudo utilizando vacas, Schmitt (1996b) demonstrou que o uso da hCG leva a um maior aumento da produção de progesterona do que quando se utiliza GnRH.

Fleury (2004), em estudo no qual era administrado hCG em receptoras no dia da TE, observou um aumento significativo nas concentrações plasmáticas de progesterona entre o dia da inovulação e o dia 13 do embrião no grupo tratado com hCG.

Apesar de não existir diferença estatística, uma diferença numérica ocorreu na taxa de prenhez de novilhas receptoras de embrião, as quais foram administrada hCG no quinto dia do ciclo estral, quando comparadas com o grupo controle (controle = 62,0 vs hCG = 71,2 %) (FONSECA, 2001). O mesmo resultado pode ser observado em éguas receptoras de embrião que receberam 3000 UI de hCG no dia da TE no qual se pode afirmar que quando comparado com o grupo controle, o grupo tratado com hCG demonstrou no 13º dia de gestação uma taxa de gestação 20,8% superior ao grupo controle, já no 16º dia de gestação a taxa de gestação foi 25,7% superior (FLEURY, 2004).

Marques (2002) observou em bovinos que a concentração plasmática de progesterona, entre os dias 13 e 17 do ciclo estral, foi maior para os animais que receberam tratamento com hCG. A taxa de prenhez de receptoras de embriões, recebendo o mesmo tratamento e inovuladas no dia 7 do ciclo estral, foi superior para os grupos que receberam os tratamentos com hCG e GnRH, em relação aos grupos LH e progesterona, sendo que o grupo controle apresentou o pior resultado.

De acordo com Ginther (1992a), o número de receptores para LH no corpo lúteo da égua aumenta 21 vezes entre os dias 1 e 14, e a afinidade do receptor pelo LH aumenta cinco vezes. O número de receptores para LH, bem como o grau de afinidade, estão altamente relacionados com as concentrações circulantes de progesterona luteal.

O uso da hCG em éguas está associado aos protocolos de sincronização de ovulação, mas, infelizmente ainda nenhum protocolo de sincronização de cio, apresentou um resultado satisfatório de sincronização de ovulação em éguas (GLAZAR et al., 2004).

Nishigai et al. (2002) relataram que a aplicação de hCG em receptoras bovinas no D6 estimulou o corpo lúteo a aumentar a produção de progesterona, além de induzir ovulações secundárias, aumentando ainda mais a produção de

progesterona e com isso aumentando a taxa de prenhez dessas receptoras. Quando a hCG alterou a produção de progesterona, o meio intrauterino se tornou melhor para o desenvolvimento embrionário e com isso aumentou significativamente a taxa de prenhez.

Éguas que receberam aplicações de 1000 UI de hCG nos dias 3, 4 e 5 pós-ovulação apresentaram um aumento na concentração de progesterona iniciando no dia 7 e permanecendo até o dia 14 pós-ovulação (KELLY; HOYER; WISE, 1988). Neste mesmo estudo, não foi observada nenhuma influência na liberação de LH tanto na frequência das secreções quanto na sua amplitude.

#### 4.9 SELEÇÃO DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO

O sucesso em um programa comercial de TE depende da identificação dos fatores que afetam a gestação e a morte embrionária (CARNEVALE et al., 2000). Squires, McCue e Vanderwal (1999) e Carnevale et al. (2000) relataram que o fator mais importante para se obter sucesso em um programa de transferência de embriões é a escolha e o manejo das receptoras.

A seleção de éguas aptas a serem utilizadas como receptora continua sendo o maior problema em um programa de transferência de embriões (DOWSETT; WOODWARD; BODERO, 1989).

Em programas de transferência de embriões as éguas utilizadas como receptoras são examinadas geralmente um dia antes da transferência de embriões. Esta avaliação inclui: detecção de um corpo lúteo visível, presença de líquido intrauterino, cistos e dobras endometriais e avaliação da parede uterina. Estas análises combinadas com o tônus uterino e cervical determinados por palpação retal, são os principais critérios utilizados para a seleção da receptora (SQUIRES; MCKINNON; SHIDELER, 1988).

Carnevale et al. (2000), realizando um estudo retrospectivo no qual foram avaliadas 638 fêmeas eqüinas receptoras de embriões, durante os anos de 1996 a 1998, classificaram as receptoras avaliadas no 5º dia pós-ovulação como aceitáveis (corpo lúteo grande e bastante ecogênico e tônus uterino e cervical de intensidade boa a excelente) ou marginalmente aceitáveis (corpo lúteo pequeno e ou de fraca

ecogenicidade e ou tônus uterino e cervical de intensidade regular a fraca). Índices de prenhez aos 50 dias de gestação foram significativamente superiores para as receptoras consideradas aceitáveis (60%) do que para as receptoras marginalmente aceitáveis (45%) ( $P < 0,05$ ).

Éguas com um excelente tônus cervical e uterino apresentam taxas mais altas de gestação do que éguas com menores tônus (SQUIRES et al., 2003). Receptoras com baixa classificação no 5º dia pós-ovulação e com tônus uterino reduzido estão associadas com baixas taxas de gestação. A diminuição do tônus uterino, em receptoras de embriões pode ser um indicativo de que o meio ambiente uterino não apresente uma máxima compatibilidade com o crescimento e o desenvolvimento do embrião (CARNEVALE et al., 2001).

McCue et al. (1999) sugeriram que uma baixa concentração plasmática de progesterona aparentemente está relacionada com uma redução no tônus uterino e cervical.

A anatomia ultra-sonográfica do útero é dramaticamente influenciada pelo estágio do ciclo estral e depende da prevalência da concentração circulatória de esteróides de origem ovariana (GINTHER, 1979).

A parede uterina deve apresentar-se bastante espessada durante o estro; já em diestro a parede uterina atinge sua mínima espessura (GINTHER; PIERSON, 1984).

O uso do ultra-som permite a avaliação do útero em relação a morfoecogenicidade, presença de contrações, mensuração dos cornos e do corpo uterinos e ainda se existe presença de patologias, fluido, cistos endometriais, ar, fetos, corpo estranho e/ou neoplasias (GINTHER; PIERSON, 1984).

Hayes et al. (1985) classificaram a morfoecogenicidade uterina em valores de 1 a 3, sendo que 1 representa útero bastante homogêneo semelhante ao encontrado no diestro e 3 um útero bastante heterogêneo com a presença de dobras endometriais. Neste estudo, a classificação uterina aumentou gradualmente do sétimo dia anterior a ovulação e atingiu o seu valor mais elevado no segundo e terceiro dias pré-ovulatório, a partir daí ocorreu um declínio até chegar ao valor mínimo característico de diestro nos dias 2 ou 3 pós-ovulação. Os autores também alegam que o mecanismo da progesterona na caracterização do escore uterino ainda não é conhecido. Dados obtidos por estes autores estão em acordo com dados obtidos por Ginther e Pierson (1984). Em observações preliminares, as

caracterizações dos escores uterinos não são diferentes nas éguas tanto no período anovulatório quanto no meio do período de diestro. Isto sugere que baixas concentrações de estrógeno tem maior importância do que altos índices de progesterona no desenvolvimento de endométrio característico de diestro (HAYES et al., 1985).

Pesquisadores afirmam que fêmeas eqüinas que apresentam edema endometrial no quinto dia pós-ovulação não devem ser utilizadas como receptoras de embriões neste ciclo (SQUIRES et al., 2003; SQUIRES; MCCUE; VANDERWALL, 1999).

## ***5 MATERIAIS E MÉTODOS***

---

## 5.1 LOCAL E PERÍODO

Este experimento foi desenvolvido na Central Fleury de Reprodução Eqüina na Fazenda Santa Amélia, localizado no município de São José do Rio Pardo, SP (21°35' Latitude Sul e 46°54' Longitude Oeste) e no Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, SP.

O experimento foi realizado durante a estação reprodutiva de 2004/2005.

## 5.2 ANIMAIS

Para este experimento foram utilizadas 90 fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões, da raça Mangalarga, com idades entre 4 e 12 anos .

Foram consideradas aptas a serem incluídas no experimento as fêmeas que preencheram os seguintes requisitos: ausência de alterações de útero e de ovários detectáveis à palpação retal; ausência de patologias uterinas e ovarianas detectáveis pela ultra-sonografia; ciclicidade regular após observações de dois ciclos estrais consecutivos; boa condição corporal e ausência de alterações clínicas que pudessem comprometer o desempenho reprodutivo.

## 5.3 MANEJO REPRODUTIVO

As fêmeas permaneceram em pastagens basicamente formadas de gramínea batatais (*Paspalum notatum* Flüggé), coast cross (*Cynodon dactylon* (L.) Pers) e colonião (*Panicum Maximum* Jacq,) e receberam araçãoamento balanceado diário de 2,5 quilogramas, água e sal mineral *ad libitum*.

As fêmeas foram observadas uma vez ao dia para detecção dos sintomas de estro, com o auxílio de rufião. Constatado o estro, a fêmea era conduzida ao Centro de Transferência para o acompanhamento do desenvolvimento folicular através de

exames de palpação retal e ultra-sonografia, realizados diariamente até a data da ovulação.

Os dados reprodutivos obtidos de todas as éguas foram devidamente anotados em fichas de controle individual.

## 5.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

### 5.4.1 Tratamento

As receptoras foram aleatoriamente divididas em 3 grupos (G) que receberam os seguintes tratamentos:

**G 1** – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo atingiu diâmetro médio igual ou maior que 35 mm.

**G 2** - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo atingiu diâmetro médio igual ou maior que 35 mm.

**G 3** - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecort<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte à ovulação (D1).

### 5.4.2 Avaliação do sistema reprodutivo

Todas as receptoras foram avaliadas no D6 quanto as seguintes características reprodutivas: tônus do útero, tônus da cérvix, morfoecogenicidade do útero, morfoecogenicidade do corpo lúteo e diâmetro do corpo lúteo e ordem de escolha da candidata à receptora.

O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi avaliado em todas as receptoras no dia anterior à ovulação.



#### 5.4.2.1 Tônus do útero

Foi avaliado por palpação retal pelo método de compressão digital, cuja classificação variou de 1 a 4, na qual a classificação 1 corresponde ao tônus uterino flácido e a 4 ao tônus uterino firme, conforme a classificação proposta por Hayes e Ginther (1986).

#### 5.4.2.2 Tônus da cérvix

Foi avaliado através da palpação retal pelo método de compressão digital, recebendo classificação variando de 1 a 4, na qual a classificação 1 corresponde ao tônus cervical flácido e a 4 ao tônus cervical firme, conforme a classificação proposta por Hayes e Ginther (1986).

#### 5.4.2.3 Morfoecogenicidade do útero

A morfoecogenicidade do útero foi avaliada por meio de ultra-sonografia transretal, utilizando ultra-som equipado com transdutor linear de 5 MHz (Aloka 500<sup>®</sup>). Foi classificada por meio de um sistema de escores variando de 1 a 4, no qual o escore 1 indica uma morfoecogenicidade bastante homogênea, característica de diestro (ausência total de edema endometrial), e o escore 4 uma morfoecogenicidade bastante heterogênea, característica de estro (edema endometrial intenso). Os critérios de classificação seguiram citação de Pelehach et al. (2002).

#### 5.4.2.4 Morfoecogenicidade do corpo lúteo

A morfoecogenicidade do corpo lúteo foi avaliada com o uso do ultra-som. Foram adotadas duas classificações: corpo lúteo de centro ecogênico ou corpo lúteo de centro não ecogênico. Foram considerados como corpos lúteos de centro não ecogênico, as glândulas luteais que apresentaram pelo menos 20% de sua área com imagem não ecogênica, baseado na classificação proposta por Pierson e Ginther (1985).

#### 5.4.2.5 Diâmetro do corpo lúteo

O diâmetro do corpo lúteo também foi avaliado com o uso do ultra-som, pela média entre a altura e a largura do corpo lúteo.

#### 5.4.2.6 Ordem de escolha da candidata à receptora de embrião

A ordem de escolha para cada candidata à receptora foi determinada pela média entre o tônus uterino, cervical e a morfoecogenicidade uterina, sendo classificada por escores que variaram de 1ª a 4ª escolha. Fêmeas eqüinas, que apresentaram as características reprodutivas desejadas em uma receptora (elevado tônus uterino e cervical e ausência de edema endometrial), foram consideradas como de 1ª escolha e as éguas, que apresentaram as características menos desejadas (tônus uterino e cervical flácido e intensa presença de edema endometrial), como 4ª escolha.

#### 5.4.2.7 Acompanhamento do desenvolvimento folicular (determinação de folículo $\geq$ 35mm)

As fêmeas em estro eram avaliadas por ultra-sonografia transretal diariamente, até o momento em que foi detectado um folículo  $\geq$  35mm. Os dados foram anotados em fichas individuais e o diâmetro foi determinado pela média entre a altura e largura do folículo.

#### 5.4.3. Dosagem hormonal

Para as dosagens de progesterona plasmática das receptoras foram coletadas amostras de sangue por punção da veia jugular, em tubos providos de vácuo heparinizados nos dias D0 (dia da ovulação), D2, D4, D6 e D8, aproximadamente no mesmo horário (9:00 horas).

Após a coleta, as amostras de sangue foram devidamente identificadas e mantidas a 4°C até a centrifugação e extração do plasma. Posteriormente foram armazenadas a -18°C em tubos de microcentrifuga para as avaliações hormonais.

Os ensaios de progesterona foram realizados no Laboratório de Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em duplicata, pelo método de radioimunoensaio (RIA), utilizando kit Progesterone Maia<sup>®</sup>, seguindo-se rigorosamente a rotina laboratorial e as recomendações do fabricante.

### 5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos dos procedimentos experimentais foram analisados utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS<sup>®</sup>), com prévia verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). A variável dependente Concentração de Progesterona Plasmática

(ng/mL) foi submetida à Análise de Variância. A análise estatística desta variável foi ainda adicionada do fator medidas repetidas no tempo, referentes aos diversos momentos de amostragem. As probabilidades de interações com o tempo foram determinadas pelo teste de Greenhouse-Geisse, utilizando-se o comando REPEATED gerado pelo procedimento GLM (PROC GLM). As análises por tempo somente foram realizadas, já que houve interação entre tempo e tratamento; neste caso os dados de cada dia foram analisados pela metodologia dos contrastes ortogonais. Os dados (tônus de útero, tônus de cérvix, morfoecogenicidade uterina e ordem de escolha da receptora) que não respeitaram as premissas estatísticas normalidade dos resíduos e homogeneidade da variância foram submetidos à análise estatística não paramétrica pelo teste exato de Fisher. Também foi determinada possível correlação entre o diâmetro do corpo lúteo e a produção de progesterona. Em todas as análises estatísticas o nível de significância considerado foi 5%.

A Análise de Variância para a variável Concentração de Progesterona Plasmática é exemplificada no quadro 1, considerando 5 dias de colheitas de sangue, as quais foram efetuadas a partir do dia da ovulação (D0).

<b>FV</b>	<b>GL</b>
Tratamento	2
resíduo A	81
sub-total	83
Tempo	4
Tempo x tratamento	8
resíduo B	407
<b>Total</b>	<b>419</b>

Quadro 1 – Análise de variância da concentração plasmática de progesterona - Pirassununga - 2006

## **6 RESULTADOS**

---

## 6.1 PROGESTERONA

Foi observado efeito do tempo em relação à concentração plasmática de progesterona ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1).

Os grupos tratados com hCG (G2 e G3) apresentaram no dia da ovulação (D0) e no quarto dia pós-ovulação (D4) concentração plasmática de progesterona superior ao grupo controle (G1) no dia da ovulação (D0), e no quarto dia pós-ovulação (D4) ( $P < 0,05$ ). Porém, os grupos tratados não diferiram ( $P > 0,05$ ) entre si (Tabela 1).

A média total das concentrações plasmáticas de progesterona  $[(D0+D2+D4+D6+D8)/5]$  demonstraram que os grupos tratados com hCG (G2 e G3) produziram mais progesterona que o grupo controle ( $P < 0,05$ ), conforme pode ser observado na tabela 1 e no gráfico 1.

Tabela 1 – Médias ( $\pm$  desvio padrão) das concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) nos dias 0 (dia da ovulação), 2, 4, 6 e 8, conforme os grupos e seus contrastes C1 e C2 - São José do Rio Pardo – 2005

Tratamentos	Dias					Médias
	D0	D2	D4	D6	D8	
G1	0,94 $\pm$ 0,05	3,86 $\pm$ 0,57	08,42 $\pm$ 1,24	15,29 $\pm$ 1,97	16,08 $\pm$ 1,56	08,92 $\pm$ 0,95
G2	1,12 $\pm$ 0,05	5,65 $\pm$ 0,47	16,01 $\pm$ 1,27	19,87 $\pm$ 1,86	16,08 $\pm$ 1,62	11,19 $\pm$ 0,72
G3	1,08 $\pm$ 0,06	4,50 $\pm$ 0,52	14,85 $\pm$ 1,69	17,59 $\pm$ 1,46	17,31 $\pm$ 1,34	10,84 $\pm$ 0,81
Contrastes (P)						
C1	0,0179	0,0602	0,0001	0,1169	0,7379	0,0429
C2	0,6324	0,1230	0,5624	0,3653	0,5656	0,7666

Tempo\*tratamento-Greenhouse-Geisse P=0,0078

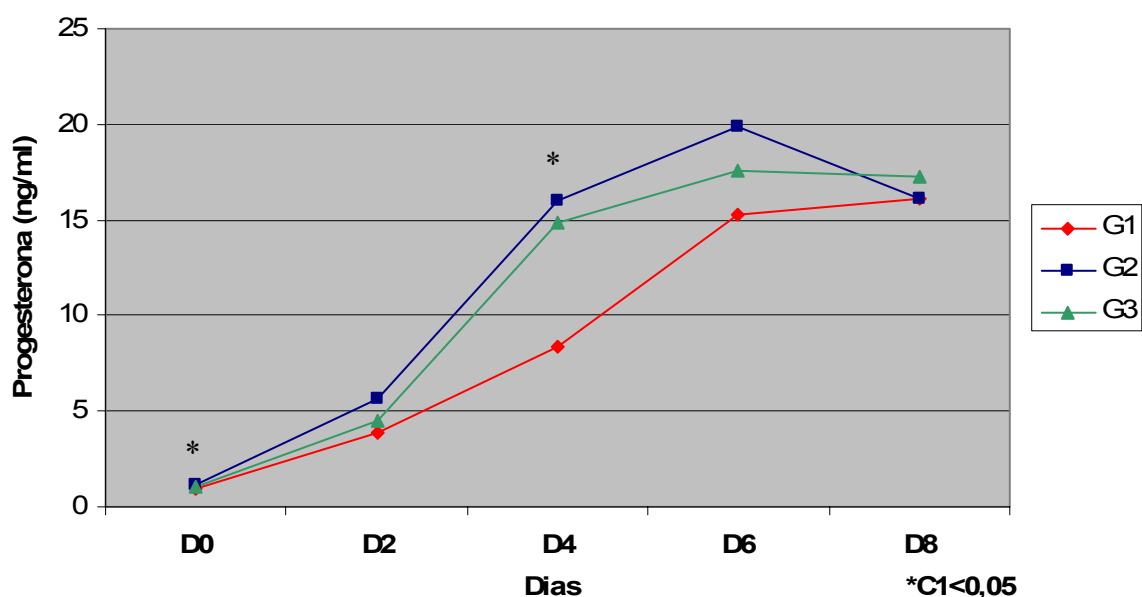
G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.

G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.

G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.

C1 – Contraste do G1 x demais.

C2 – Contraste do G2 x G3.



G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.

Gráfico 1 – Médias das concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) nos dias 0 (dia da ovulação), 2, 4, 6 e 8, conforme os grupos - São José do Rio Pardo – 2005

## 6.2 TÔNUS UTERINO

Quando o tônus uterino foi avaliado no D6, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos experimentais ( $P > 0,05$ ), conforme observado na tabela 2 e gráfico 2.

Apesar de não existir diferença estatística pode se observar que o G3 apresentou 32,14% das éguas com o tônus 4, enquanto os outros grupos apresentaram 10,71 (G2) e 7,14% (G1).

Quando se efetuou a soma dos escores de tônus uterino 1 e 2, o G1 apresentou 39,29% das éguas nesta classificação, enquanto que o G2 apresentou 46,43 e o G3, 21,43%.

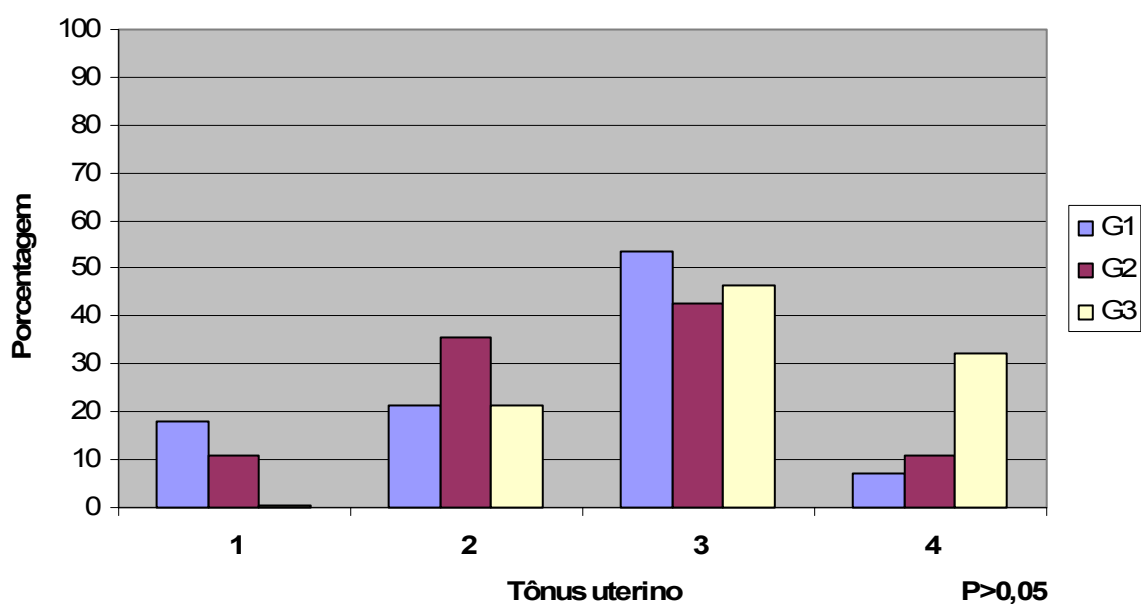


Tabela 2 – Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus uterino 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005

Tratamentos	Tônus uterino			
	1 (n)	2 (n)	3 (n)	4 (n)
G1	17,86 (5)	21,43 (06)	53,57 (15)	07,14 (2)
G2	10,71 (3)	35,72 (10)	42,86 (12)	10,71 (3)
G3	00,00 (0)	21,43 (06)	46,43 (13)	32,14 (9)

Teste exato de Fisher P=0,0517

G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.



G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.

Gráfico 2 – Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus uterino 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher P=0,0517) - São José do Rio Pardo – 2005

### 6.3 TÔNUS CERVICAL

Foi observada diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre os grupos experimentais quanto à característica reprodutiva tônus cervical, conforme pode ser observado na tabela 3 e gráfico 3.

O G3 demonstrou-se como o melhor tratamento para a característica tônus de cérvix, não apresentando éguas com tônus 1, enquanto o G1 apresentou 14,29% das éguas e o G2 3,57%. Ainda o G3 resultou em maior porcentagem média de éguas com tônus cervical 4 (28,57%), quando comparado com G1 (14,29%) e G2 (7,14%).

Quando se efetuou a soma dos escores de tônus cervical 3 e 4, a porcentagem de éguas foi de 46,43 para o G1, 46,43 para o G2 e 85,71% para o G3.

Tabela 3 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus cervical 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005

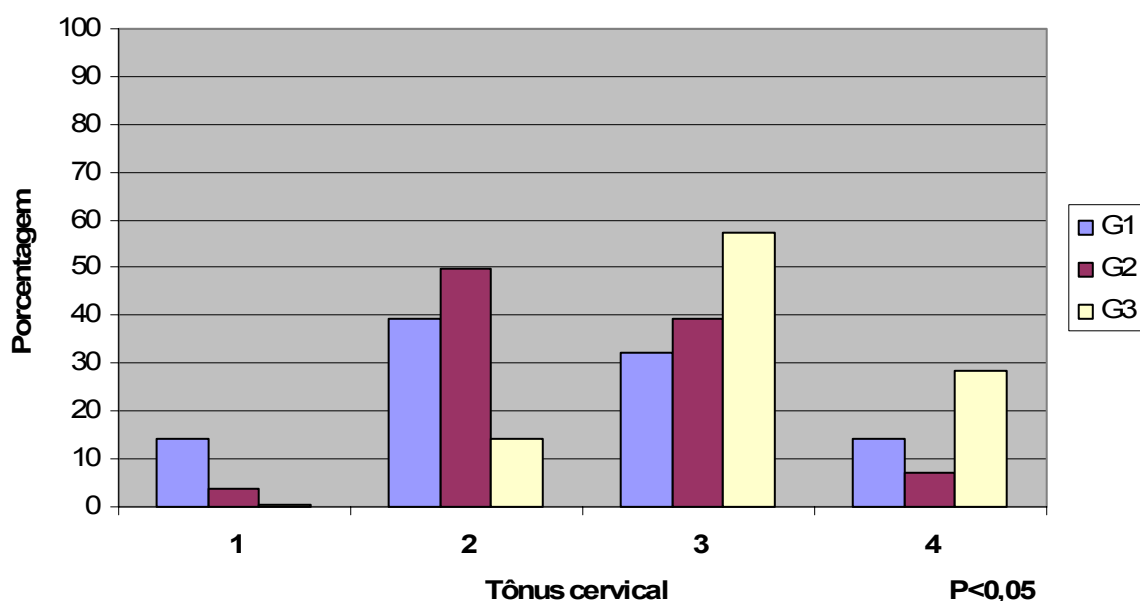
Tratamentos	Tônus cervical			
	1 (n)	2 (n)	3 (n)	4 (n)
G1	14,29 (4)	39,29 (11)	32,14 (09)	14,29 (4)
G2	03,57 (1)	50,00 (14)	39,29 (11)	07,14 (2)
G3	00,00 (0)	14,29 (04)	57,14 (16)	28,57 (8)

Teste exato de Fisher  $P=0,0087$

G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.

G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.

G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.



G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.

Gráfico 3 – Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de tônus cervical 1 (flácido), 2, 3 ou 4 (firme) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,0087$ ) - São José do Rio Pardo – 2005

#### 6.4 MORFOECOGENICIDADE UTERINA

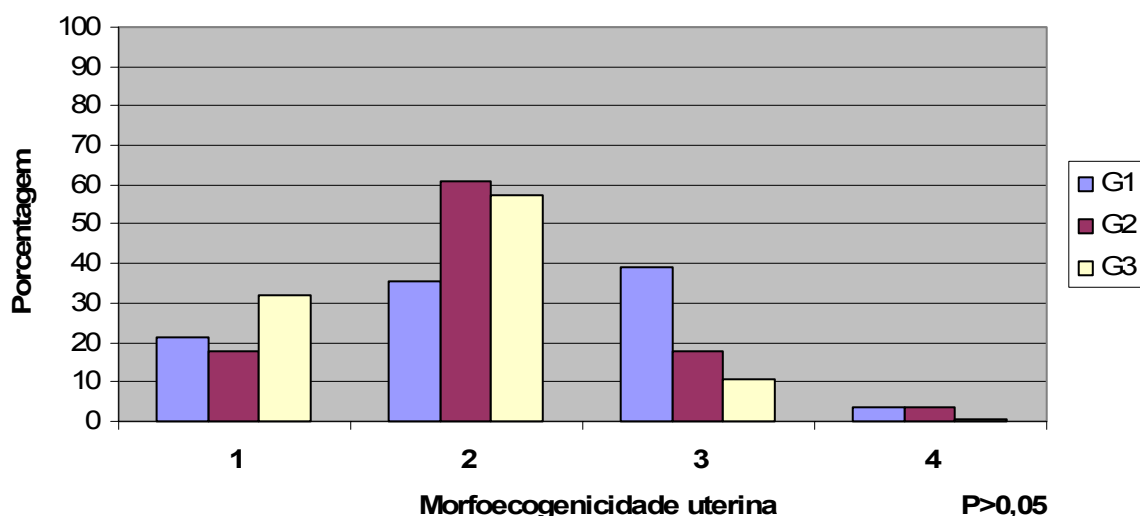
Não foi observada diferença estatística entre os grupos analisados quanto a morfoecogenicidade uterina ( $P > 0,05$ ), conforme pode ser observado na tabela 4 e gráfico 4. No entanto, quando se efetuou a soma dos escores nas categorias 1 e 2 pode ser observado que existiu uma diferença numérica entre os grupos que receberam o tratamento em comparação com o grupo controle sendo que no G1 foi observado 57,14%, 78,57% no G2 e 89,03% no G3.

Tabela 4 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de morfoecogenicidade uterina 1 (ausência de edema endometrial), 2, 3 ou 4 (edema endometrial intenso) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005

Tratamentos	Morfoecogenicidade uterina			
	1 (n)	2 (n)	3 (n)	4 (n)
G1	21,43 (6)	35,71 (10)	39,29 (11)	3,57 (1)
G2	17,86 (5)	60,71 (17)	17,86 (05)	3,57 (1)
G3	32,14 (9)	57,14 (16)	10,71 (3)	0,00 (0)

Teste exato de Fisher P=0,1020

G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.



G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.

Gráfico 4 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 com escores de morfoecogenicidade uterina 1 (ausência de edema endometrial), 2, 3 ou 4 (edema endometrial intenso) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher P=0,1020) - São José do Rio Pardo – 2005

## 6.5 MORFOECOGENICIDADE LUTEAL

Não foi observada diferença na porcentagem de éguas com corpo lúteo com centro não ecogênico e com centro ecogênico, entre os grupos estudados ( $P>0,05$ ), conforme demonstrado na tabela 5 e gráfico 5.

Também não foi encontrada diferença significativa entre a morfologia lútea e concentração plasmática de progesterona pelo teste de Greenhouse-Geisser ( $P=0,65$ ).

Tabela 5 - Porcentagem de éguas examinadas no D6, apresentando corpos lúteos com centro ecogênico e centro não ecogênico entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005

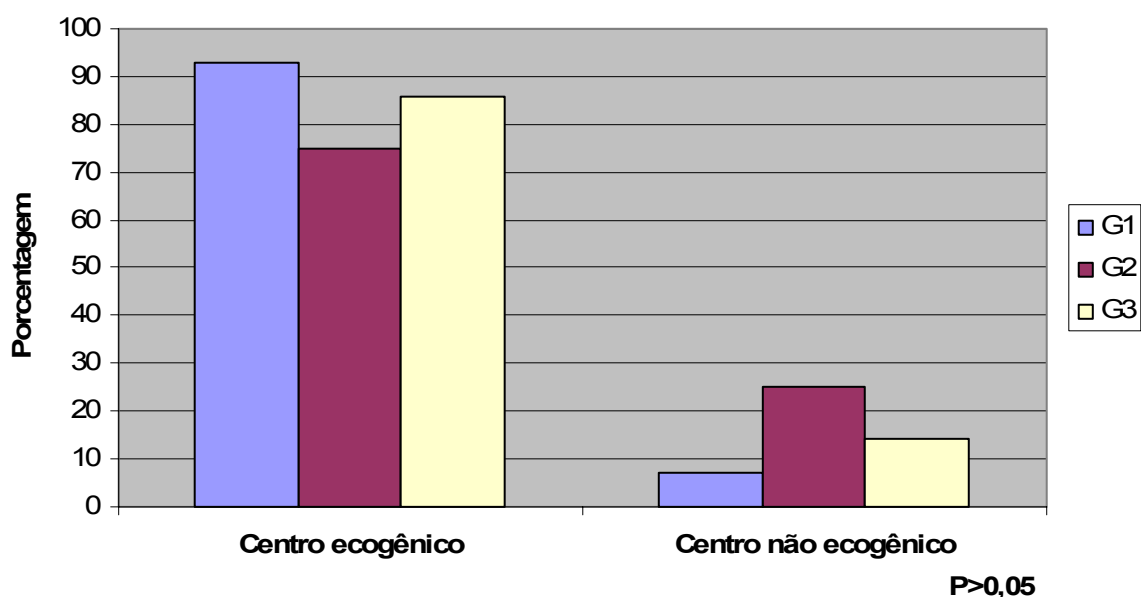
Tratamentos	Morfoecogenicidade luteal			
	Centro ecogênico	(n)	Centro não ecogênico	(n)
G1	92,86	(26)	07,14	(2)
G2	75,21	(21)	25,00	(7)
G3	85,71	(24)	14,29	(4)

Teste exato de Fisher  $P=0,2134$

G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.

G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.

G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.



G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.

Gráfico 5 – Porcentagem de éguas examinadas no D6, apresentando corpos lúteos com centro ecogênico e centro não ecogênico entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,2134$ ) – São José do Rio Pardo – 2005

## 6.6 CORRELAÇÃO ENTRE O TAMANHO DO CORPO LÚTEO E A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA

Verificou-se correlação positiva significativa, de moderada intensidade ( $r=0,41$ ) ( $P=0,001$ ), entre o tamanho do corpo lúteo e a concentração plasmáticas de progesterona no sexto dia pós-ovulação (D6).

## 6.7 ORDEM DE ESCOLHA DA CANDIDATA A RECEPTORA

Na categoria ordem de escolha da candidata a receptora, existiu diferença estatística significativa ( $P<0,05$ ), sendo apresentada na tabela 6 e gráfico 6.

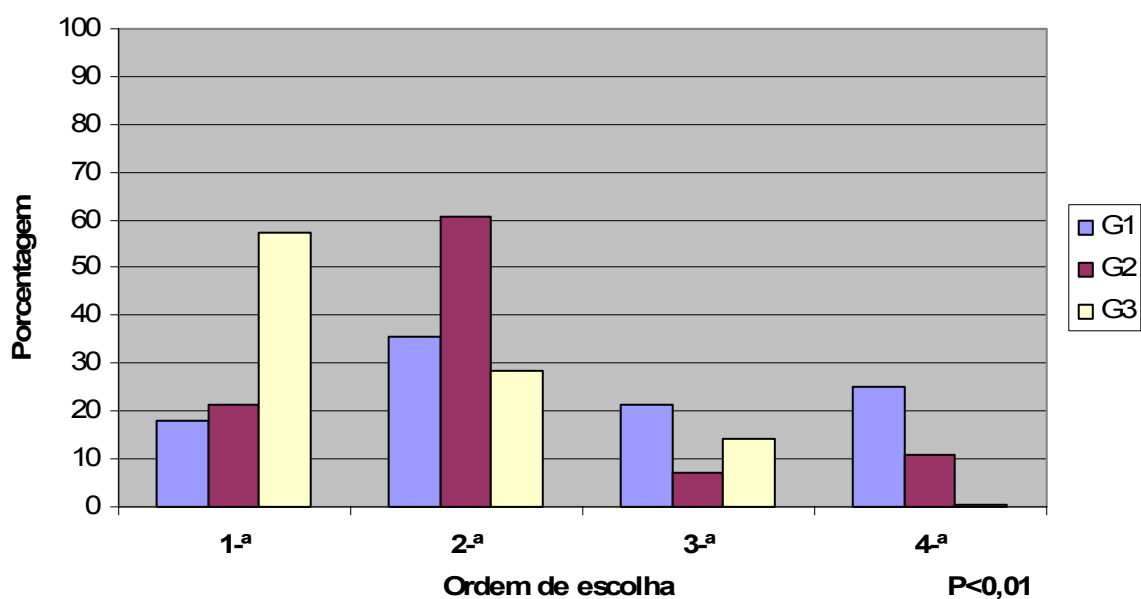
Devido a importância da ordem de escolha da candidata a receptora, apenas os animais de 1ª e 2ª escolha devem ser selecionados para receberem os embriões (animais com melhores características reprodutivas como receptoras de embriões). Quando se efetuou a soma entre a 1ª e a 2ª ordem de escolha notou-se que o provável fator relacionado com a diferença estatística, ocorre devido às éguas do G2 e G3 apresentarem numericamente uma maior proporção de égua de 1ª e 2ª escolha que o G1 (78,57, 89,3 e 57,14%, respectivamente). Em relação às éguas de condições reprodutivas menos desejadas (3ª e 4ª escolha), quando efetuou-se a soma entre a 3ª e 4ª ordem de escolha, as éguas do G1 apresentam 42,86% das éguas de seu grupo nessa classificação enquanto que as do G2 apresentam 21,43 e as do G3 apenas 10,71%.

Tabela 6 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 segundo a ordem de escolha 1ª (melhores características de diestro) 2ª, 3ª e 4ª (piores características de diestro) entre os tratamentos – São José do Rio Pardo – 2005

Tratamentos	Ordem de escolha da candidata a receptora			
	1ª (n)	2ª (n)	3ª (n)	4ª (n)
G1	21,43 (6)	35,71 (10)	39,29 (11)	3,57 (1)
G2	17,86 (5)	60,71 (17)	17,86 (05)	3,57 (1)
G3	32,14 (9)	57,16 (16)	10,71 (03)	0,00 (0)

Teste exato de Fisher P=0,0014

G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor®), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
 G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor®), IM, no dia seguinte a ovulação.



G1 – Administração, IM, de 1 mL de solução fisiológica, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
G2 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, quando o folículo dominante atingiu 35 mm ou mais.  
G3 - Administração de 2.500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>), IM, no dia seguinte a ovulação.

Gráfico 6 - Porcentagem de éguas examinadas no D6 segundo a ordem de escolha 1ª (melhores características de diestro) 2ª, 3ª e 4ª (piores características de diestro) entre os tratamentos (Teste exato de Fisher  $P=0,0014$ ) – São José do Rio Pardo – 2005



## **7 DISCUSSÃO**

---

Os grupos tratados com hCG apresentaram média superior em relação à concentração plasmática de progesterona, se comparados com o grupo controle. Fato este também observado por Kelly, Hoyer e Wise (1988), aplicando 1000 U.I. de hCG nos dias 3, 4 e 5 após o estro em éguas. Neste estudo, os autores afirmaram que o aumento na produção de progesterona ocorreu devido a uma alteração na celularidade do corpo lúteo, promovendo a conversão de células luteais pequenas em células luteais grandes, visto que o aumento na concentração de progesterona não diminuiu mesmo após o término do efeito do hCG. Fato que não ocorreu no presente estudo, no qual a partir do D4 não foi mais detectada diferença estatística significativa entre os grupos tratados e o grupo controle. Sendo assim, supõe-se que o aumento na produção de progesterona, neste estudo, ocorreu devido a ligação entre o receptor de LH e a molécula de hCG e com isso promovendo com isso a elevação na ativação da PKA, que disponibiliza uma maior quantidade de colesterol intracelular, associado ao incremento na ativação da proteína StAR. Conseqüentemente, houve uma maior produção de progesterona, de acordo com o citado por Niswender (2002) e Niswender et al. (2000). Watson e Sertich (1990) observaram resultados opostos aos encontrados nestes estudos, no qual não ocorreu um aumento na produção de progesterona em células luteais eqüina cultivadas "in vitro" quando acrescentaram LH a essa cultura. Os autores alegam que a provável justificativa para o resultado encontrado deu-se em função das condições da cultura celular.

McCue et al. (1999) sugeriram que uma baixa concentração plasmática de progesterona aparentemente está relacionada com uma redução no tônus uterino e cervical. Hayes e Ginther (1986) afirmaram que para se obter um tônus uterino de máxima intensidade (semelhante ao encontrado entre o 16º e o 25º dia de gestação), a progesterona tem que estar associada ao estrógeno. Neste estudo, embora todos os grupos tenham apresentado no D6 concentrações plasmática de progesterona elevadas (>15 ng/mL), apenas em 16,66% (n=14) dos animais foi notada a presença do tônus uterino máximo e a mesma porcentagem 16,66% (n=14) também foi constatada para as éguas nas quais o tônus cervical de máxima intensidade foi palpado.

Embora não constatada diferença estatística entre os grupos em relação ao tônus uterino ( $P>0,05$ ), ocorreu uma tendência em relação ao tônus uterino ( $P=0,0517$ ) onde numericamente o G3 apresentou maior porcentagem de éguas

com tónus 4 (32,14%) em relação a G1 (7,14%) e G2 (10,71%). Quanto ao tónus cervical o G3 foi o melhor tratamento, sendo que, 85,71% das éguas deste grupo apresentavam tónus cervical entre as categorias 3 e 4, enquanto que para o G2 e G3 a porcentagem foi de 46,43%. Segundo Carnevale et al. (2000) e Squires et al. (2003) éguas com tónus uterino e cervical mais intenso são as que devem ser selecionadas prioritariamente para estarem recebendo o embrião, pois apresentam taxa mais alta de gestação do que éguas com tónus uterino e cervical menos intenso.

Pelehach et al. (2002) relataram o efeito da progesterona em resposta ao edema uterino provocado pelo estrógeno, no qual a presença do edema durante o período inicial de gestação reflete uma baixa produção de progesterona. Hayes et al. (1985) alegaram que baixas concentrações de estrógeno têm uma maior importância do que altas concentrações de progesterona no desenvolvimento do endométrio homogêneo característico de diestro. No presente estudo, a progesterona não diferiu ( $P>0,05$ ) entre o G2 e G3 em nenhum momento e no 6º dia pós-ovulação, data em que as fêmeas eqüinas foram avaliadas, as concentrações plasmáticas para esses grupos foram iguais a 19,87 ng/mL e 17,59 ng/mL, respectivamente, portanto bastante elevadas. Como existiu uma diferença numérica em relação a morfoecogenicidade uterina para a categoria morfoecogenicidade 1 (fêmea mais indicadas para receber embriões), em que G2 apresentou 17,86% das éguas nesta categoria enquanto G3, 32,14%, nossos resultados corroboram a pesquisa realizada por Hayes et al. (1985), no qual apesar de concentrações elevadas de progesterona, as concentrações de estrógeno provavelmente afetaram a morfoecogenicidade uterina.

No presente estudo quando realizada a soma das categorias 3 e 4, nas quais as éguas apresentam dobras endometriais, foi constatada que o G1 apresentou 42,86% das éguas nesta categoria, o G2, 21,43 e o G3, 10,71%. Como no D6 a concentração plasmática de progesterona estava elevada, este trabalho discorda dos dados descritos por Pelehach et al. (2002). Pesquisadores afirmam que éguas receptoras de embriões que apresentam edema endometrial no quinto dia pós-ovulação não devem ser utilizadas neste ciclo (SQUIRES et al, 2003; SQUIRES; MCCUE; VANDERWALL, 1999).

Neste trabalho, a morfoecogenicidade lútea não diferiu estatisticamente ( $P>0,05$ ) em relação à concentração plasmática de progesterona, concordando com

as pesquisas anteriormente realizadas por diversos autores (ARRUDA, 1995; NAGY et al., 2004; TOWNSON; PIERSON; GINTHER, 1989; VAN NIEKERK; MORGENTHAL; GERNEKE; 1975). Também não existiu diferença estatística entre os grupos em relação à morfoecogenicidade luteal, mas a média de 15,50% de corpos lúteos de centro não ecogênico foi bastante inferior aos trabalhos publicados por diversos autores (ARRUDA, 1995; ARRUDA et al., 1996; NAGY, et al., 2004; PIERSON; GINTHER, 1985; TOWNSON; PIERSON; GINTHER, 1989), nos quais a média apresentada variou de 30 a 55%, sendo que nestes estudos os autores consideraram como corpos lúteos de centro não ecogênico aqueles que apresentam 10% de sua área com imagem não ecogênica. No presente estudo só foi considerado corpo lúteo de centro não ecogênico aqueles que apresentavam pelo menos 20% de sua área não ecogênica. Portanto, acredita-se que esse foi o fator para a ocorrência de uma média inferior de corpos lúteos de centro não ecogênico.

No presente estudo existiu correlação positiva entre o diâmetro do corpo lúteo no D6 e a produção de progesterona ( $r=0,41$ ), resultado semelhante ao encontrado por Arruda (1995) e Arruda et al. (2001) ( $r=0,31$ ). Como o fator limitante na esteroidogênese está relacionado com o transporte do colesterol (livre no interior da célula) até a mitocôndria, onde o mesmo vai ser biotransformado em pregnenolona (STEVENS; XU; LAMBETH, 1993; NISWENDER, 2002). O aumento no tamanho do corpo lúteo (maior celularidade) provavelmente influencia na produção de progesterona, mas não é o principal fator responsável pela elevação das concentrações plasmáticas.

A ordem de escolha da receptora apresentou diferença estatística. Éguas do G3 apresentaram 89,30%, do G2 78,57% e apenas 57,14% dos animais do G1 nas categorias de 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> escolha, portanto aptas a receberem embriões. Na maioria das características estudadas (tônus do útero, tônus da cérvix e morfoecogenicidade do útero) a concentração de estrógeno pode alterar o desempenho reprodutivo da égua (HAYES; GINTHER, 1986; HAYES et al., 1985; PELEHACH et al., 2002). Entretanto, os grupos G2 e G3, os quais apresentaram maior concentração plasmática de progesterona, demonstraram uma maior porcentagem de receptoras aptas a receberem embriões, portanto sugere-se que a progesterona tenha uma maior influência em relação à ordem de escolha da receptora do que o estrógeno.

Como apenas 57,14% dos animais do grupo controle estavam aptos a receberem embriões, confirma-se assim a necessidade de no mínimo existirem 2 éguas sincronizadas com a égua doadora para cada coleta de embrião, em total acordo com o citado por Squires e Seidel (1995).

Neste experimento foram encontrados resultados positivos em relação ao uso da hCG nas características reprodutivas almejadas em fêmeas eqüinas candidatas a receptoras de embriões; no entanto, sugere-se que mais estudos sejam realizados, testando a taxa de fertilidade nestas receptoras.

## **8 CONCLUSÕES**

---

Baseados nos resultados obtidos, dentro das condições de realização deste experimento, conclui-se que:

1. A hCG quando aplicada em fêmeas eqüinas induz ao aumento na produção de progesterona.
2. O tratamento com hCG no D1 (dia seguinte à ovulação) proporciona maior porcentagem de éguas com características reprodutivas desejadas para a transferência de embriões.
3. A porcentagem de fêmeas eqüinas aptas a estarem recebendo embriões aumenta quando as mesmas são tratadas com hCG.
4. Existe correlação positiva entre o diâmetro do corpo lúteo no D6 e a produção de progesterona.
5. A morfoecogenicidade do corpo lúteo não influencia a concentração plasmática de progesterona em fêmeas eqüinas.

## **9 REFERÊNCIAS**

---



ALEXANDER, S. L.; IRVINE, C. H. G. GnRH secretion in the mare. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 173-180, 1996.

ALILA, H. W.; HANSEL, W. Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies. **Biology of reproduction**, v. 31, p. 1015-1025, 1984.

ALLEN, W. M.; WINTERSTEINER, O. Crystalline progestin. **Science**, v. 80, p. 190-191, 1934.

ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Transfer of ova between horses and donkeys. **Animal Breed Abstract**, v. 40, p. 484-487, 1972.

ALLEN, W. R.; TIPLADY, C. A.; BUTLER, S.; MACKLEY, M. R. Rheological characterization of estrous uterine fluid in the mare. **Theriogenology**, v. 58, p. 503 - 506, 2002.

ALVARENGA, M. A. **Efeito de alguns fatores sobre índices de coleta e transferência de embriões em eqüinos**. 1989. 66 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Médica) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 1989.

ARRUDA, R. P. **Efeitos da idade, desenvolvimento folicular, tamanho e morfo-ecogenicidade luteínica, níveis de progesterona e técnicas de inoculação, sobre os índices de gestação em receptoras de embriões eqüinos**. 1995. 112 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

ARRUDA, R. P. Manejo reprodutivo das fêmeas eqüinas. In: Semana de Zootecnia, 13. 1990, Pirassununga. In: REPRODUÇÃO E MELHORAMENTO ANIMAL, 1990, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1990.126 p.

ARRUDA, R. P.; FLEURY, J. J.; COSTA NETO, J. B. F.; VISINTIN, J. A.; VALENTE FILHO, J. B.; MADUREIRA, E. H. Influência da morfo-ecogenicidade luteínica sobre os resultados da transferência de embriões em fêmeas eqüinas. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**. v. 24, p. 224, 1996, Suplemento.

ARRUDA, R. P.; VISINTIN, J. A.; FLEURY, J. J.; GARCIA, A. R.; CELEGHINI, E. C. C.; NEVES NETO, J. R. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões eqüinos? **Brazilian Journal of Veterinarian Reserch and Animal Science**. v. 38, n. 5, p. 233-239, 2001.

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

BAKER, J. R. The evolution of the breeding season. In: de BEER, G. R. **Essays on aspects of evolutionary biology**. Oxford: Oxford University Press, 1938.p. 161-177.

BEREZOWSKI, C. J.; STITCH, K. L.; WENDT, K. M.; VEST, D. J. Clinical comparison of 3 products available to hasten ovulation in cyclic mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, n. 6, p. 231-233, 2004.

BLANCHARD, T. L.; BRINSKO, S. P.; RIGBY, S. L. Effects of deslorelin or hCG administration on reproductive performance in first postpartum estrus mares. **Theriogenology**, v. 58, p. 165-169, 2002.

BONAFOS, L. D.; CARNEVALE, E. M.; SMITH, C. A.; GINTHER, O. J. Development of uterine tone in nonbred and pregnant mares. **Theriogenology**, v. 42, p. 1247-1255, 1994.

BOURDAGE, R. J.; FITZ, T. A.; NISWENDER, G. D. Differential steroidogenic responses of ovine luteal cells to ovine luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 175, p. 783-486, 1984.

BROADLEY C.; MENZIES G. S.; BRAMLEY T. A.; WATSON E. D. Isolation of cell populations from the mare corpus luteum: comparison of collagenase and mechanical dispersion. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, p. 7-15, 1994.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**, v. 232, p. 34-47, 1986.

BRÜCK, I.; ANDERSON, G. A.; HYLAND, J. H. The influence of progesterone-induced proteins on glucose metabolism in the early embryos. **Theriogenology**, v. 47, p. 441-456, 1997.

BUTENANDT, A.; WESTPHAL, U.; COBLER, H. Über einen abbau des stigmasterins zu corpus-luteum-worksamen stoffen; ein beitrag zur constitution des corpus-luteum-hormons (vorlauf mitteil). **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 67, p. 1611-1616, 1934.

CARMO, M. T.; ALVARENGA, M. A. Evolução da transferência de embriões em eqüinos no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae - Suplemento**, Beberibe, v. 31, p. 230-23, 2003..

CARNEVALE , E. M.; RAMIREZ, R. J.; SQUIRES, E. L.; ALVARENGA, M. A.; MCCUE, P. M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Havemeyer Foundation Monograph Series**, nº 3, v. 1, p. 91-92, 2001. (Apresentado no Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Equine Embryo Transfer, 6<sup>th</sup> -9<sup>th</sup>, July 2000, Saari, Finland)

CARNEVALE , E. M.; RAMIREZ, R. J.; SQUIRES, E. L.; ALVARENGA, M. A.; McCUE, P. M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 54, p. 965-979, 2000.

CARNEVALE, E. M.; MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Ultrasonic characteristics of the preovulatory follicle directly preceding and during ovulation in the mare. **Theriogenology**, v. 29, p. 232, 1988.

CARNEVALE, E. M.; SQUIRES, E. L.; MCKINNON, A. O.; HARRISON, L. A. Effect of human chorionic gonadotropin on time to ovulation and luteal function in transitional mares. **Equine Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 27-29, 1988.

CONDON W. A.; GANJAM, V. K.; KENNEY, R. M. Catecholamines and equine luteal progesterone. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p. 199-203, 1979.

DAELS, P. F.; HUGHES, J. P. The Normal Estrous Cycle. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap. 14, p. 121-132.

DEANSLEY, R. Y. Germ cell development and the meiotic prophase in the fetal horse ovary. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 23, p. 547-552, 1978.

DOUGLAS, R. H. Review of induction of superovulation and embryo transfer in the equine. **Theriogenology**, v. 11, p. 33-36, 1979.

DOUGLAS, R. H.; BURNS, P. J.; HERSHMAN, L. Physiological and commercial parameters for producing progeny from subfertile mares by embryo transfer. **Equine Veterinary Journal**, p. 111-114, 1985. Supplement 3.

DOWSETT, K. F.; WOODWARD, R. A.; BODERO, D. A. V. A study of nonsurgical embryo transfer in the mare. **Theriogenology**, v. 31, p. 631-642, 1989.

DRIANCOUT, M. A.; PALMER, E. Time of ovarian follicular recruitment in cyclic pony mares. **Theriogenology**, v. 21, p. 591-600, 1984.

FITZ, A.; MAYAN, M. H.; SAWYER, H. R.; NISWENDER, G. D. Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v. 27, p. 703-711, 1982.

FLEURY, J. J.; ALVARENGA, M. A.; COSTA NETO, J. B. F.; PAPA, F. O. Transferência de embriões em eqüinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39, n. 3, p. 485-487, 1987.

FLEURY, P. D. C. **Taxa de prenhez e concentração plasmática de progesterona em éguas receptoras de embriões submetidas a diferentes tratamentos hormonais no dia da inovulação**. 2004. 69 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

FONSECA, J. F.; SILVA FILHO, J. M.; PINTO NETO, A.; PALHARES, M. S.; RUAS, J. R. M. Taxas de gestação de novilhas receptoras submetidas a administração de rbST, GnRH, ou hCG no quinto dia do ciclo estral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 4, p. 1-8, 2001.

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

FORTUNE, J. E.; CUSHMAN, R. A.; WAHL, C. M.; KITO, S. The primordial to primary follicle transition. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 163, p. 53-60, 2000.

FRAENKEL, L.; COHN, F. Experimentelle untersuchungen uber den einfluss des corpus luteum auf de insertion des eies. **Anatomischer Anzeiger**, v. 20, p.294-300, 1901.

FRIED, P. H.; RAKOFF, A. E. The effects of chorionic gonadotropin and prolactin on the maintenance of corpus luteum function. **Journal of Clinical Endocrinology**, v. 12, p. 321-337, 1952.

GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Role of diameter differences among follicles in selection of future dominant follicle in mares. **Biology of Reproduction**, v. 57, p.1320 -1327, 1997.

GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; NOGUEIRA, G. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Temporal interrelationship among luteolysis, FSH, and LH, concentrations, and follicle deviation in mares. **Theriogenology**, v. 53, p. 925-940, 2000.

GINTHER, O. J. Dynamic physical interactions between the equine embryo and uterus. **Equine Veterinary Journal - Supplement**, v. 3, p. 41-47, 1985.

GINTHER, O. J. Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 90, p. 311-320, 1990.

GINTHER, O. J. Major an minor follicular waves during the equine estrous cycle. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 13, p. 18-25, 1993.

GINTHER, O. J. Mobility of the early equine conceptus. **Theriogenology**, v.19 p. 602-611, 1983.

GINTHER, O. J. **Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects**. 1. ed. Wisconsin: Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, 1979. p. 413.

GINTHER, O. J. **Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects**. 2. ed, Wisconsin: Equiservices, Cross Plains, 1992a. 640 p.

GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle an horses. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: horses**. Wisconsin: Equiservices, Cross Plains, 1995, v. 1, 394 p.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R. Ultrasonic characterization of follicular waves in mares without maintaining identity of individual follicles. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 12, p. 349-54, 1992b.

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus. **Theriogenology**, v. 21, p. 505-515, 1984a.

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare: Ovaries. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 4, p. 11-16, 1984b.

GINTHER, O.J. **Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare**. Wisconsin: Equiservices, Cross Plains, 1986. 378 p.

GLAZAR, B. S.; McCUE, M. P.; BRUEMMER, J. E.; SQUIRES, E. L. Deslorelin on day 8 or 12 postovulation does not luteinize follicles during an artificially maintained diestrous phase in the mare. **Theriogenology**, v. 62, p. 57-64, 2004.

GREAVES, H. E.; KALARIOTES, V.; CLEAVER, B. D.; PORTER, M. B.; SHARP, D. C. Effects of ovarian input on GnRH and LH secretion immediately postovulation in pony mares. **Theriogenology**, v. 55, p. 1095-1106, 2001.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Functional anatomy of reproduction In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in farm animals**, 7. ed. LIPPINCOTT: WILLIAMS & WILKINS, 2000. , p. 1-68.

HAYES, K. E. N.; GINTHER, O. J. Role of progesterone and estrogen in development of uterine tone in mares. **Theriogenology**, v. 25, p. 581-590, 1986.

HAYES, K. E. N.; PIERSON, R. A.; SCRABA, S. T.; GINTHER, O. J. Effects of estrous cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. **Theriogenology**, v. 24, p. 465-477, 1985.

HOLTAN, D. W.; NETT, T. M.; ESTERGREEN, V. L.; Plasma progestins in pregnant, postpartum and cycling mares. **Journal of Animal Science**, v. 40 p. 251-260, 1975.

HOLTAN, D. W.; SQUIRES, E. L.; LAPIN, D. R.; GINTHER, O. J. Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. **Journal of Reproduction and Fertility - Supplement**, v. 27, p. 457-463, 1979.

HUGHES, J. P.; COUTO, M. A.; STABENFELD, G. H. Luteal Phase Ovulation : What are the options? **Theriogenology**, v. 26, p. 123-125, 1986.

JOHNSON, W. J.; PHILLIPS, M. C.; ROTHBLAT, G. H. Lipoproteins and cellular cholesterol homeostasis. **Sub-cellular biochemistry**, v. 28, p. 235-276, 1997.

KELLY, C. M.; HOYER, P. B.; WISE, M. E. In-vitro and in-vivo responsiveness of the corpus luteum of the mare to gonadotrophin stimulation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 84, p. 593-600, 1988.

KENNEY, R. M.; CONDON, W.; GARJAN, V. K.; CHANNING, C. P. Morphological and biochemical correlates of equine ovarian follicles as a function of their stage of viability or atresia. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p.163-171, 1979.

KOOS, R. D.; HANSEL, W. The large and small cells of the bovine corpus luteum: Ultrastructural and functional differences. In: SCHWARTZ, N. B.; HUNZICKER-DUNN, M. **Dynamics of ovarian function**. New York: Raven press: 1981. p. 197-203.

KRISANS, S. K. Cell compartmentalization of cholesterol biosynthesis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 804, p. 142-164, 1996.

LESTAVEL, S.; FRUCHART, J. C. Lipoprotein receptors. **Cellular and molecular biology**, v. 40, p. 4461-4481, 1994.

LOY, R. G.; HUGHES, J. P. The effects of human chorionic gonadotrophin on length of estrus and fertility in the mare. **Cornell Veterinarian**, v. 56, p. 41-50, 1966.

MACMILLAN K. L.; DAY, A. M.; TAUFAN, V. K.; GIBB, M.; PEARCE, M. G. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. I. Hormone concentrations and oestrous cycle length. **Animal Reproduction Science**, v. 8, p. 203-212, 1985.

MARQUES, M. O. **Ultra-sonografia ovariana, concentração plasmática de progesterona e taxa de concepção em novilhas receptoras de embriões submetidas a diferentes tratamentos no dia 7 do ciclo estral**. 2002. 78 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

MCCue, P. M.; VANDERWALL, D. K.; KEITH, S. L.; SQUIRES, E. L. Equine embryo transfer: influence of endogenous progesterone concentration in recipients on pregnancy outcome. **Theriogenology**, v. 51, p. 267, 1999.

MCDOWELL, K. J.; SHARP, D. C.; GRUBAUGH, W.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J. Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance in mares. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 340-348, 1988.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; CARNEVALE, E. M.; HERMENET, M. J. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, v. 29, p. 1055-1063, 1988.

MEIRA, C.; BURATINI, J. Follicular dynamics and superovulation in mares. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**. v. 26, n. 1, p. 125-133, 1998.

MILLER, K. F.; BERG, S. L.; SHARP, D. C.; GINTHER, O. J. Concentrations of circulating gonadotropins during various reproductive states in mares. **Biology of Reproduction**, v. 22, p. 744-750, 1980.

MILLER, K. F.; WESSON, J. A.; GINTHER, O. J. Interaction of estradiol and nonsteroidal follicular fluid substance in the regulation of gonadotropin secretion in the mare. **Biology of Reproduction**, v. 24, p. 354-358, 1981.

NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 245-262, 2000.

NAGY, P.; HUSZENICZA, G. Y.; REIEZIGEL, J.; JUHÁSZ, J.; KULCSÁR, M.; ABAVÁRY, K.; GUILLAUME, D. Factors affecting plasma progesterone concentration and a the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. **Theriogenology**, v. 61, p. 203-214, 2004.

NAMBO, Y.; KANEKO, H.; NAGATA, S.; OIKAWA, M.; YOSHIHARA, T.; NAGAMINE, N.; WATANABE, G.; TAYA, K. Effect of passive immunization against inhibin on fsh secretion, folliculogenesis and ovulation rate during the follicular phase of the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v. 50, p. 545-557, 1998.

NETT, T. M.; PICKETT, B. W.; SEIDEL, G. E. J.; VOSS, J. L. Levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle and early pregnancy in mares. **Biology of Reproduction**, v. 14, p. 412-415, 1976.

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

NISWENDER, D.; NETT, T. M. Luteal Phase. In: McKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap. 18, p. 172-175.

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

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, K. M.; MCINTUSH, E. W. Mechanism controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, p. 1-29, 2000.

OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. Non-surgical recovery of equine eggs, and an attempt at non-surgical egg transfer in horses. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 31, p. 187-195, 1972.

OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. Nonsurgical egg transfer in mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 41, p. 313-320, 1974.

OSBORNE, V. E. Analysis of the pattern of ovulation as it occurs in the annual reproductive cycle of the mare in Australia. **Australia Veterinarian Journal**. v. 42, p. 149-154, 1966.

OTTOBRE, J. S.; OTTOBRE, A. C.; STOUFTER, R. L. Changes in available gonadotropin receptors in the corpus luteum in the rhesus monkey during simulated early pregnancy. **Endocrinology**, v. 115, p. 198-204, 1984.

PALMER, E.; DRIANCOURT, M. A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v.13, p. 203-216, 1980.

PAPADOPOULOS, V.; AMRI, H.; BOUJRAD, N.; CASCIO, C.; CULTY, M.; GARNIER, M.; HARDWICK, M.; LI, H.; VIDIC, B.; BROWN, S. A.; REVERSA, J. L.; BERNASSAU, J. M.; DRIEU, K. Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol transport and steroidogenesis. **Steroids**, v. 62, p. 21-28, 1997.

PELEHACH, L. M.; GREAVES, H. E.; PORTER, M. B.; DESVOUSGES, A.; SHARP, D. C. The role of estrogen and progesterone in the induction and dissipation of uterine edema in mares. **Theriogenology**, v. 58, p. 441-444, 2002.

PIERSON, R. A. Folliculogenesis and Ovulation. In: McKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap. 17, p. 161-171.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. **Theriogenology**, v. 24, p. 359-369, 1985.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare. **Theriogenology**, v. 23, p. 795-806, 1985b.

PLOTKA, E. D.; FOLEY, C. W.; WITHERSPOON, D. M.; SCHMOLLER, G. C.; GOESTSCH, D. D. Periovarian changes in peripheral plasma progesterone and oestrogen concentrations in the mare. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, p. 1359-1362, 1975.

RIZKALLAH, T.; GURPIDE, E.; VAN DE WIELE, R. L. Metabolism of hCG in man. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 29, p. 92 - 100, 1969.

RODGER, F, E.; LLLINGWORTH, P. J.; WATSON, E. D.; Immunolocalization of P450C17 in the mare corpus luteum. **Theriogenology**, v. 50, p. 321-333, 1998.

ROSS, G. T. Human chorionic gonadotropin and maternal recognition of pregnancy. **Excerpta Medica**, v. 64, p. 191-199, 1979.

SAMPER, J. C. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. **Proceedings of American Association Equine Practice**. v. 43, p. 189-191, 1997.

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

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

SHARP, D. C. Factors associated with the maternal recognition of pregnancy in mares. **Veterinary Clinics of North America. Large Animal Practice**, v. 2, p. 277-290, 1980.

SHARP, D.C. Maternal recognition of pregnancy. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap. 57, p. 486-493.

SHELDON, I. M, DOBSON H. Effects of gonadotrophin releasing hormone administered 11 days after insemination on the pregnancy of cattle to first and later services. **Veterinary Record**, v. 133, p. 160-163; 1993.

SHIDELER, R .K.; SQUIRES, E. L.; VOSS, J. L.; EIKENBERRY, D. J.; PICKETT, B. W. Progestogen therapy of ovariectomized pregnant mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32, p. 459-464, 1982.

SHIDELER, R, K.; SQUIRES, E. L.; VOSS, J. L.; EIKENBERRY, D. J.; PICKETT, B. W. Progestagen therapy of ovariectomized pregnant mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32, p. 459-464, 1982. Suplemento.



SHIRAZI, A.; GHARAGOZLOO, F.; GHASEMZADEH-NAVA, H. Ultrasonic characteristics of preovulatory follicle and ovulation in Caspian mares. **Animal Reproduction Science**, v. 80, p. 261-266, 2004.

SIROIS, J.; BALL, B. A.; FORTUNE, J. E. Patterns of growth and regression of ovarian follicles during the estrous cycle and after hemiovariectomy in mares. **Equine Veterinary Journal**, p. 43-48, 1989. supplement. 8.

SLOTTA, K. H.; RUSCHIG, H.; FELS, E. Reindarstellung der hormone aus dem corpus luteum. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 67, p. 1624-1626, 1934.

SQUIRES, E. L.; CARNEVALE, E. M.; MCCUE, P. M.; BRUEMMER, J. E. Embryo technologies in horses. **Theriogenology**, v. 59, p. 151-170, 2003.

SQUIRES, E. L.; COOK, V. M.; VOSS, J. L. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory**, Fort Collins: Colorado State University, 1985. p. 37.

SQUIRES, E. L.; IULIANO, M. F.; SHIDELER, R. K. Factors affecting the success of surgical and nonsurgical equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 17, n. 1, p. 35-41, 1982.

SQUIRES, E. L.; MCCUE, P. M.; VANDERWAL, D. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 51, p. 91-104, 1999.

SQUIRES, E. L.; MCKINNON, A. O.; SHIDELER, R. K. Use of ultrasonography in reproductive management of mares. **Theriogenology**, v. 29, p. 55-70, 1988.

SQUIRES, E. L.; SEIDEL, G. E. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory**, n. 8, 1995, 64 p.

STEVENS, V. L.; XU, T.; LAMBETH, J. D. Cholesterol trafficking in steroidogenic cells: reversible cycloheximide-dependent accumulation of cholesterol in a presteroidogenic pool. **European Journal of Biochemistry**, v. 216, p. 557-563, 1993.

STEWART, F.; ALLEN, W. R. Comparative aspects of the evolution and function of the chorionic gonadotrophins. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 30, p. 231-239, 1995.

TOWNSON, D. H.; PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies in mares. **Theriogenology**, v. 32, n. 2, p. 197-204, 1989.

TULCHINSKY, D.; HOBEL, C. J. Plasma human chorionic gonadotropin, estrone, estradiol, estrol, progesterone, 17 $\alpha$ -hydroxy-progesterone in human pregnancy. **American Journal of Obstetric and Gynecology**, v. 117, p. 884-893, 1973.

VAN DEN HURK, R.; BEVERS, M. M.; BECKERS, J. F. In-vivo and invitro development of pre antral follicles. **Theriogenology**, v. 47, p. 73-82, 1997.

VAN NIEKERK, C. H.; MORGENTHAL, J. C.; GERNEKE, W. H. Relationship between the morphology of and progesterone production by the corpus luteum of the mare. **Journal of Reproduction and Fertility, Supplement**, n. 23, p. 171-175, 1975.

WATSON, E. D.; COLSTON, M.; BROADLEY, C. Lh and progesterone concentrations during diestrus in the mare and the effect of hCG. **Theriogenology**, v. 43, p. 1325-1337, 1995.

WATSON, E. D.; PEDERSEN, H. G.; THOMSON, S. R. M.; FRASER, H. M. Control of follicular development and luteal function in the mare: effects of a GnRH antagonist. **Theriogenology**, v. 54, p. 599-609, 2000.

WATSON, E. D.; SERTICH, P. L. Secretion of prostaglandins and progesterone by cells from corpora lutea of mare. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 88, p. 223-229, 1990.

WATSON, E. D.; THOMASSEN, R.; NIKOLAKOPOULOS, E. Association of uterine edema with follicles waves around the onset of the breeding season in pony mares. **Theriogenology**, v. 59, p. 1181-1187, 2003.

WEBB, R.; CAMPBELL, B. K.; GARVERICK, H. A.; GONG, J. G.; GUTIERREZ, C. G.; ARMSTRONG, D. G. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. **Journal of Reproduction and Fertility, Supplement**, n. 54, p.33-48, 1999.

WEITHENAUER, J.; MCDOWELL, K. J.; DAVIS, S. D.; ROTHMAN, T. K. Effect of exogenous progesterone and estrogen on early embryonic growth in pony mares. **Biology of Reproduction, Supplement**, n. 1, v. 34, p. 102, 1986.

WEITHERNAUER, J.; SHARP, D. C.; SHERRIN, P. C. The effects of steroids on nutrients in yolk, sac fluid of Day 18 pony conceptuses. **Equine Veterinary Journal**, v. 8, p. 25-28, 1989.

WEVER-BRAGG, N. D.; PIERSON, R. A.; CARD, C. E. Assessment of endometrial edema and echotexture in natural and hormonally manipulated estrus in mares. **Theriogenology**, v. 58, p. 507-510, 2002.

YEN, S. S. C.; LITTLE, L. B.; PEARSON, O. H. Disappearance rates of endogenous luteinizing hormone and chorionic gonadotropin in man. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 28, p. 1763-1767, 1968.

ZIECIK, A.; SHAW, A.; FLINT, A. P. F. Luteal LH receptors during the oestrous cycle and early pregnancy in the pig. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.60, p. 129-137, 1980.