

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 07/07/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL E RADIOLOGIA
VETERINÁRIA

**EXPRESSÃO DOS RECEPTORES ENDOMETRIAIS DE
ESTRÓGENO E PROGESTERONA EM ÉGUAS ACÍCLICAS
APÓS ADMINISTRAÇÃO DE PROGESTERONA**

LUCIANA FRANÇA SMITH MACIEL

BOTUCATU, SP

Julho-2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL E RADIOLOGIA
VETERINÁRIA

**EXPRESSÃO DOS RECEPTORES ENDOMETRIAIS DE
ESTRÓGENO E PROGESTERONA EM ÉGUAS ACÍCLICAS
APÓS ADMINISTRAÇÃO DE PROGESTERONA**

LUCIANA FRANÇA SMITH MACIEL

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia Animal para obtenção
do título de Mestre.

Orientador: Prof.Dr.Cezinande de
Meira

Coorientadora: Profa.Dra. Elisa
Sant’Anna Monteiro da Silva

BOTUCATU- SP
Julho 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Maciel, Luciana França Smith.

Expressão dos receptores endometriais de estrógeno e progesterona em éguas acíclicas após administração de progesterona / Luciana França Smith Maciel. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Cezinande de Meira

Coorientador: Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva

Capes: 50504002

1. Equino - Distribuição sazonal. 2. Expressão gênica. 3. Estrogênios. 4. Progesterona.

Palavras-chave: Equinos; Protocolos hormonais; Sazonalidade.

Nome do Autor (a): Luciana França Smith Maciel

Título: Expressão dos receptores endometriais de estrógeno e progesterona em éguas acíclicas após administração de progesterona.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Prof.Dr. Cezinande de Meira

Orientador

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ-UNESP-Botucatu

Prof. Dr. José Paes de Oliveira Filho

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ-UNESP-Botucatu

Profa.Dra. Fernanda Saules Ignácio

Membro

Departamento de Medicina Veterinária, setor de Reprodução Animal

Faculdades Integradas de Ourinhos

Data da defesa: 07 de Julho de 2017

Agradecimentos

Agradeço a meus pais, Paulo e Vanessa, por todo apoio, incentivo e amor. Aos meus irmãos, André e Ivan, minha cunhada Bruna, por todo amor e apoio. Sem vocês nada disso seria possível!

Ao meu orientador, professor Cezinande Meira, pela oportunidade, confiança e ensinamentos.

A minha coorientadora, Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva, pela imensa ajuda em todos os momentos, pelo incentivo e ensinamentos.

A todos os amigos que fiz em Botucatu por tornarem meus dias melhores, pelo companheirismo e experiências compartilhadas.

A todos os professores do Departamento de Reprodução Animal pelos ensinamentos, em especial a professora Eunice Oba pelo auxílio na dosagem hormonal para meu experimento e por ceder o laboratório de Endocrinologia.

A todos os funcionários do Departamento de Reprodução Animal pela agradável convivência e auxílio.

Ao professor José Paes de Oliveira Filho por ceder o laboratório de Biologia Molecular da Clínica Veterinária, pelos ensinamentos e oportunidade.

A professora Renée Laufer Amorim do Departamento de Patologia Veterinária por ceder o laboratório de Imunoistoquímica para a realização da técnica.

Ao mestrando Rodolfo Rossi pelo auxílio e realização das análises estatísticas.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio concedido para realização deste e dos demais projetos do grupo de pesquisa coordenado pelo professor Cezinande de Meira.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa durante o período de realização deste mestrado.

Ao professor José Camisão de Souza da UFLA, pela amizade, conselhos e por me passar seus conhecimentos sem os quais não teria chegado até aqui. Aos amigos da UFLA que mesmo com a distância estiveram sempre presentes.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização do meu projeto fica aqui registrado o meu agradecimento e minha gratidão.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	3
1-INTRODUÇÃO	4
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1- Ciclo estral e sazonalidade reprodutiva	5
2.2- Éguas receptoras acíclicas	6
2.3- Progestágenos	8
2.4- Expressão dos receptores endometriais de estrógeno e progesterona ..	10
3-REFERÊNCIAS	14
CAPÍTULO 2	20
Introdução	22
Material e métodos	24
Resultados	28
Discussão.....	33
Conclusão	36
Referências	37

MACIEL, L.F.S. Expressão dos receptores endometriais de estrógeno e progesterona em éguas acíclicas após administração de progesterona. Botucatu, 2017. 40 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

A progesterona (P4) é frequentemente utilizada, após a administração de estradiol, para preparo de éguas acíclicas sazonais como receptoras de embrião, entretanto estudos anteriores relataram gestação de éguas acíclicas sazonais tratadas somente com P4. O objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão gênica e proteica dos receptores de estrógeno alfa (ER α), estrógeno beta (ER β) e progesterona (PR) no endométrio de éguas acíclicas sazonais tratadas com progesterona de longa ação (P4LA). Foram utilizadas 8 éguas durante a fase de anestro sazonal, nas quais foram realizadas biópsias uterinas imediatamente antes e cinco dias após a administração de 1,5 g de P4LA. Coletas de sangue foram realizadas diariamente para dosagem da concentração plasmática de P4. Para avaliação da expressão proteica dos receptores foi realizada a técnica de imunistoquímica (IHQ) e o percentual da área imunomarcada foi determinado pelo *software* ImageJ. As abundâncias dos transcritos para ER α (ESR1), ER β (ESR2) e PR (PGR) foram determinadas por RT-qPCR. Os ER α apresentaram maior expressão proteica ($p < 0,05$) após a administração de P4LA, porém não houve alteração da abundância dos mRNA que codificam esse gene ($p > 0,05$). Quanto aos ER β , foi observada tendência a menor expressão proteica ($p = 0,07$) e inibição da expressão gênica ($p < 0,05$) após o tratamento, já os PR não apresentaram alteração ($p > 0,05$). A concentração plasmática de P4 apresentou maior concentração 24 horas após a aplicação de P4LA (D1) com posterior declínio desses valores ($p < 0,05$). A dose de 1,5 g de P4LA atingiu as concentrações mínimas de P4 necessárias para o estabelecimento e manutenção da gestação.

Palavras-chave: Equinos, protocolos hormonais, sazonalidade.

MACIEL, L.F.S. Endometrial expression of estrogen and progesterone receptors in non-cyclic mares after progesterone administration, Botucatu, 2017. 40 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual "Júlio de Mesquita Filho".

ABSTRACT

Progesterone (P4) is frequently used after the administration of estradiol, to prepare seasonal non-cyclic mares as embryo recipients, however previous studies have reported gestation of seasonal non-cyclic mares treated only with P4. The objective of the present study was to evaluate the gene and protein expression of estrogen receptor alpha (ER α), estrogen beta (ER β) and progesterone (PR) in the endometrium of seasonal non-cyclic mares treated with long acting progesterone (LAP4). Eight mares were used during the seasonal anoestrus phase, uterine biopsies were performed immediately before and five days after administration of 1,5 g of LA P4. Blood samples were taken daily for the determination of plasma P4 concentration. The protein expression of the receptors was evaluated by the immunohistochemistry and the immunostaining area percentage was determined by the ImageJ software. Transcripts abundance for ER α (ESR1), ER β (ESR2) and PR (PGR) were determined by RT-qPCR. ER α showed higher protein expression ($p < 0.05$) after administration of P4LA, but there was no change in mRNA abundance encoding this gene ($p > 0,05$). Tendency to lower protein expression was observed ($p = 0,07$) and gene expression inhibition ($p < 0,05$) for ER β , PR did not changes ($p > 0,05$). The plasma concentration of P4 presented a higher concentration 24 hours after the application of LA P4 (D1), with subsequent decline in these values ($p < 0,05$). The 1.5 g dose of LA P4 reached the minimum concentrations of P4 required for the establishment and maintenance of gestation.

Keywords: Equine, hormonal protocols, seasonality.

Capítulo 1

1.Introdução

O fotoperíodo tem ação direta sobre o início da estação reprodutiva nas éguas. Durante os períodos de baixa luminosidade diária, a atividade reprodutiva torna-se reduzida, caracterizando a fase de anestro sazonal (BLANCHARD et al., 2003). Além disso, o início da estação reprodutiva depende de diversos fatores fisiológicos e ambientais, tais como idade, raça e condição corporal (GINTHER, 1992; NAGY et al., 2000).

O manejo diferenciado entre éguas doadoras e receptoras, além da baixa oferta de alimentos durante o período de transição, faz com que as doadoras iniciem a atividade reprodutiva mais cedo, enquanto as receptoras permanecem em anestro (SILVA et al., 2014a). Dessa forma, existe um reduzido número de receptoras cíclicas disponíveis nessa fase.

Protocolos hormonais utilizando estradiol (E2) associado à progesterona (P4) são amplamente utilizados para a preparação de éguas acíclicas sazonais (anestro ou transição) como receptoras de embrião (GRECO et al., 2012; ROCHA FILHO et al., 2004; SILVA et al., 2014b), uma vez que a utilização desses hormônios mimetiza alterações uterinas semelhantes às observadas em éguas cíclicas (PINTO, 2011). O E2 e a P4 ligam-se a seus receptores no endométrio, modulando a expressão gênica e a síntese proteica de acordo com a fase do ciclo estral (HARTT et al., 2005). Além disso, o E2 estimula o aumento dos receptores de estrógeno e P4 no endométrio (McDOWELL et al., 1999; SILVA et al., 2017). Ao contrário do estrógeno, a P4 secretada pelo corpo lúteo (CL) após a ovulação inibe a expressão gênica e proteica dos receptores de estrógeno e P4 no endométrio durante o diestro. Tal inibição, principalmente no epitélio luminal e glandular, é importante para o desenvolvimento inicial da gestação (HARTT et al., 2005), pois pode ser em resposta a sinalização da presença do embrião no útero. Alguns trabalhos relataram prenhez em éguas receptoras acíclicas ovariectomizadas e sazonais tratadas somente com P4 (HINRICHS et al., 1985, 1986, 1987; CARNEVALE et al., 2000).

McDowell et al. (1999) e Silva et al. (2017) descreveram o efeito da administração de estrógeno seguido de P4 na expressão gênica e proteica dos

receptores endometriais de éguas acíclicas, no entanto, o efeito somente da P4 sobre esses receptores ainda é pouco conhecido. O objetivo dessa revisão é abordar o ciclo estral na espécie equina, uso de éguas receptoras acíclicas, progestágenos e a dinâmica dos receptores endometriais de estrógeno e P4.

Referências bibliográficas organizadas de acordo com as normas da ABNT6023/2016.

REFERÊNCIAS

ALLEN, W.R. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 36, p. 121-131, 2001.

ARRUDA, R.P. et al. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultrassom e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos? **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, p. 233-239, 2001.

AUPPERLE, H. et al. Cyclical endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 32, n. 3, p. 228-232, 2000.

AURICH, C. Reproductive cycles of horses. **Animal Reproduction Science**, v.124, p. 220–228,2011.

BAGCHI, M.K. et al. Analysis of the Mechanism of Steroid Hormone Receptor-Dependent Gene Activation in Cell-Free Systems. **Endocrine Reviews**, v. 13, 1992.

BEATO, M.; KLUG, J. Steroid hormone receptors: an update. **Human Reproduction Update**, v.6, n.3, p. 225-236, 2000.

BLANCHARD, T.L. et al. **Reproductive Physiology of the Nonpregnant Mare**. In: BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P. RIGBY, S.L. Manual of Equine Reproduction. 3ª Ed ,Mosby, Elsevier, 2003, cap. 2, p.9-15.

BRINKMANN, A.O. Steroid Hormone Receptors: Activators of Gene Transcription. **Journal of Pediatric Endocrinology**, v.7,p. 275-282,1994.

BRINSKO, S.P. et al. **Pregnancy: Physiology and Diagnosis**. In: BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C.C.; HINRICHS, K.; HARTMAN, D.L. Manual of Equine Reproduction. 3ª Ed ,Mosby, Elsevier, 2011,p.85-93.

CARNEVALE, E.M. et al. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p.965-79,2000.

CONNELLY, O.M.; LYDON, J.P. Progesterone receptors in reproduction: functional impact of the A and B isoforms. **Steroids**, v. 65, p. 571–577, 2000.

CONNELLY, O.M.; MULAC-JERICEVIC, B.; LYDON, J.P. Progesterone-dependent regulation of female reproductive activity by two distinct progesterone receptor isoforms. **Steroids**, v. 68, p. 771–778, 2003.

CROWELL-DAVIS, S.L. Sexual behavior of mares. **Hormones and Behavior**, v. 52, p.12–17, 2007.

DeFRANCO, B.D. Navigating Steroid Hormone Receptors through the Nuclear Compartment. **Molecular Endocrinology**, v.16, p.1449–1455, 2002.

DeMAYO, F.J. et al. Mechanisms of Action of Estrogen and Progesterone. **Annals of the New York Academy of Sciences**, p.48-59, 2002.

DONADEU, F.X.; WATSON, E.D. Seasonal changes in ovarian activity: Lessons learnt from the horse. **Animal Reproduction Science**, v.100, p.225–242, 2007.

ENMARK, E. et al. Human Estrogen Receptor β -Gene Structure, Chromosomal Localization, and Expression Pattern. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.82, p. 4258-4265, 1997.

GEISERT, R.D.; BRENNER, R.M.; MOFFATT, R.J.; HARNEY, J.P.; YELLIN, T.; BAZER, F.W. Changes in Oestrogen Receptor Protein, mRNA Expression and Localization in the Endometrium of Cyclic and Pregnant Gilts. **Reproduction, Fertility and Development**, v.5, p. 247-260, 1993.

GINTHER, O.J. et al. Controlling interrelationships of progesterone/LH and estradiol/LH in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 95, p.144–150, 2006.

GINTHER, O.J. et al. Luteal blood flow and progesterone production in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 213–220, 2007.

GINTHER, O.J. **Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects**. 2^a ed. Editora Cross Plains WI: Equiservices, 1992.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction**, v.1, p. 31-44, 2004.

GIORGI, E.P. The Transport of Steroid Hormones into Animal Cells. **International Review of Cytology**, v. 65, p.49-111, 1980.

GRAHAM, J.D.; CLARKE, C.L. Physiological Action of Progesterone in Target Tissues. **Endocrine Reviews**, V. 18, P. 502-519, 1997.

GRECO, G.M. et al. Use of long-acting progesterone to acyclic embryo recipient mares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.3, p.607-611, 2012.

GRIMM, S.L.; HARTIG, S.M.; EDWARDS, D.P. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. **Journal of Molecular Biology**, v. 428, p. 3831–3849, 2016.

HANUKOGLU, I. Steroidogenic enzymes: Structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 43, n. 8, pp. 779–804, 1992.

HARTT, L.S. et al. Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. **Reproduction**, v. 130, p. 241-250, 2005.

HINRICHS, K. et al. Pregnancy in ovariectomized mares achieved by embryo transfer. **Equine Veterinary Journal**, Suppl. 3, p.74-75, 1985.

HINRICHS, K.; KENNEY, R.M. Effect of timing of progesterone administration on pregnancy rate after embryo transfer in ovariectomized mares. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.35, p.439-443, 1987.

HINRICHS, K.; SERTICH, P.L.; KENNEY, R.M. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.26, 1986.

HONNENS, A. et al. Relationships between uterine blood flow, peripheral sex steroids, expression of endometrial estrogen receptors and nitric oxide synthases during the estrus cycle in mares. **Journal of Reproduction and Development**, v. 57, p. 43–48, 2011.

KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P.; GINTHER, O.J. Role of progesterone in mobility, fixation, orientation and survival of the equine embryonic vesicle. **Theriogenology**, v. 27, p.655-663, 1987.

KIMMINS S.; MacLAREN, L. A. Oestrous cycle and pregnancy effects on the distribution of oestrogen and progesterone receptors in bovine endometrium. **Placenta**, v. 22, p. 742–748, 2001.

KING, S.S. **Autumnal Transition Out of the Breeding Season**. In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2^a Ed. Blackwell Publishing, 2011, cap.181, p.1732-1753.

KUIPER, G. G. J. M. et al. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, p. 5925-5930, 1996.

KUIPER, G.G.J.M. et al. Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors α and β . **Endocrinology**, v.138, 1997.

- LAGNEAUX, D.; PALMER, E. Embryo transfer in anoestrous recipient mares: attempts to reduce altrenogest administration period by treatment with pituitary extract. **Equine Veterinary Journal**, suppl. 15, p. 107-110, 1993.
- LANE, P.H. Estrogen Receptors in the Kidney: Lessons from Genetically Altered Mice. **Gender Medicine**, v. 5, suppl. A, 2008.
- LEE, H.R.; KIM, T.H.; CHOI, K.C. Functions and physiological roles of two types of estrogen receptors, ER α and ER β , identified by estrogen receptor knockout mouse. **Laboratory Animal Research**, v.28, p.71-76, 2012.
- MATSUZAKI, S. et al. Oestrogen receptor α and β mRNA expression in human endometrium throughout the menstrual cycle. **Molecular Human Reproduction**, v.5, p. 559–564, 1999.
- McCUE, P.M., SCOGGIN, F.C, LINDHOLMIN, A.R.G. **Estrus** In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2^a Ed. Blackwell Publishing, 2011, cap.179, p.1716-1727.
- McDONNELL, D.P. et al. The human progesterone receptor A-form functions as a transcriptional modulator of mineralocorticoid receptor transcriptional activity. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v.48, n^a 5/6, p. 425-432, 1994.
- McDOWELL, K.J. et al. Changes in equine endometrial oestrogen receptor α and progesterone receptor mRNAs during the oestrous cycle, early pregnancy and after treatment with exogenous steroids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 117, p. 135-142, 1999.
- McKINNON, A.O. et al. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipient and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, v.29, p.1055-63, 1988.
- MOTE, P.A et al. Overlapping and distinct expression of progesterone receptors A and B in mouse uterus and mammary gland during the estrous cycle. **Endocrinology**, v. 147, p.5503–5512, 2006.
- MURPHY, B.D. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction**, v.9, n.3, p.223-230, 2012.
- NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, 60-61, p.245-62, 2000.
- NEQUIN, L.G. et al. Uncoupling of the equine reproductive axes during transition into anoestrus. **Journal Reproduction and Fertility**, v.56, p.153–161, 2000.

NISWENDER, G.D. et al. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, p.1-29, 2000.

NORMAN, A.W.; HENRY, H.L. **Steroid Hormones: Chemistry, Biosynthesis, and Metabolism**. In: NORMAN, A.W.; HENRY, H.L. Hormones. 3^a Ed. Elsevier Publishing, 2015, cap.2, p.27-53.

PINTO, C.R.F. **Progestagens and Progesterone**. In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2^a Ed. Blackwell Publishing, 2011, chap.189, pg.1811-1817.

ROCHA FILHO, A.N. et al. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Animal Reproduction**, v.1.n.1, p.91-95, 2004.

SCHUCHARD, M. et al. Steroid Hormone Regulation of Nuclear Proto-oncogenes. **Endocrine Reviews**, v. 14, p. 659-669, 1993.

SCHWARTZ, N. et al. Rapid steroid hormone actions via membrane receptors. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1863, p. 2289–2298, 2016.

SHARP, D.C. **Vernal Transition into the Breeding Season**. In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2^o Ed. Blackwell Publishing, 2011, cap.178, p.1704-1715.

SILVA, E.S.M. et al. Administration of 2.5 mg of estradiol followed by 1,500 mg of progesterone to anovulatory mares promote similar uterine morphology, hormone concentrations and molecular dynamics to those observed in cyclic mares. **Theriogenology**, v. 97, p. 159-169, 2017.

SILVA, E.S.M. et al. Expression of receptors for ovarian steroids and prostaglandin E2 in the endometrium and myometrium of mares during estrus, diestrus and early pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v.151, p.169 - 181, 2014b.

SILVA, E.S.M. et al. Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of in non-cyclic recipient mares. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 122– 128, 2014a.

SPENCER, T.E.; BAZER, F.W. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. **Frontiers in Bioscience**, v. 7, p.1879 –1898, 2002.

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

- SQUIRES, E.L.; GINTHER, O.J. Follicular and luteal development in pregnant mares. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.23, p. 429-433, 1975.
- THORBURN, G.D. A speculative view of parturition in the mare. **Equine Veterinary Journal Supplement**,v.14, p.41-49,1993.
- VANDERWALL, D.K. **Progesterone**. In: McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, W.E.; VARNER, D.D. Equine Reproduction. 2^a Ed. Ames:Blackwell Publishing, 2011, vol.2, cap.170, pg. 1637-1641.
- WADA-HIRAIKE, O.W. et al. Role of estrogen receptor β in uterine stroma and epithelium: Insights from estrogen receptor $\beta^{-/-}$ mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.48, p. 18350-18355, 2006.
- WATSON, E.D.; SKOLNIK, S.B.; ZANECOSKY, H.Z. Progesterone and estrogen receptor distribution in the endometrium of the mare. **Theriogenology**, v. 38, p. 575-580, 1992.
- WEEDMAN, B.J. et al. Comparison of circulating estradiol-17 β and folliculogenesis during the breeding season, autumn transition and anestrus in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 13, n. 9, 1993.
- WEISER,M.J.; FORADORI,C.D.; HANDA,R.J. Estrogen receptor beta in the brain: From form to function. **Brain Research Reviews**, v. 57, p.309-320, 2008.
- WEN, D.X. et al. The A and B Isoforms of the human progesterone receptor operate through distinct signaling pathways within target cells. **Molecular and Cellular Biology**, p. 8356-8364,1994.
- WU, W.X. et al. Regulation of the Estrogen Receptor and its Messenger Ribonucleic Acid in the Ovariectomized Sheep Myometrium and Endometrium: The Role of Estradiol and Progesterone. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 762-768, 1996.
- ZAVY, M.T.et al. An investigation of the uterine luminal environment of non-pregnant and pregnant pony mares.**Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.27, p.403-411, 1979.