

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/08/2017.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DINÂMICA DE CORPOS LÚTEOS EM PROTOCOLOS COM
REDUÇÃO DA DOSE DE FSH NA SUPEROVULAÇÃO EM OVELHAS**

Mariana Garcia Kako Rodriguez
Médica Veterinária

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DINÂMICA DE CORPOS LÚTEOS EM PROTOCOLOS COM
REDUÇÃO DA DOSE DE FSH NA SUPEROVULAÇÃO EM OVELHAS**

Mariana Garcia Kako Rodriguez

Orientadora: Prof Dra. Maria Emília Franco Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal.

2016

R696d Rodriguez, Mariana Garcia Kako
Dinâmica de corpos lúteos em protocolos com redução da dose de FSH na superovulação em ovelhas / Mariana Garcia Kako Rodriguez.
-- Jaboticabal, 2016
x, 78 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Maria Emília Franco Oliveira
Banca examinadora: Wilter Ricardo Russiano Vicente, Erika da
Silva Carvalho Morani
Bibliografia

1. Dosagem FSH exógeno. 2. Superestimulação. 3. Luteólise prematura. 4. Ultrassom. 5. Ovino. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:636.082:636.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: DINÂMICA DE CORPOS LÚTEOS EM PROTOCOLOS COM REDUÇÃO DA DOSE DE FSH NA SUPEROVULAÇÃO EM OVELHAS

AUTORA: MARIANA GARCIA KAKO RODRIGUEZ

ORIENTADORA: MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: REPRODUÇÃO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora ERIKA DA SILVA CARVALHO MORANI

INPRENHA / Top in Life Biotecnologia e Genética Animal - Jaboticabal/SP



Prof. Dr. WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 26 de fevereiro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Mariana Garcia Kako Rodriguez– Nascida em Taubaté (SP), 05 de abril de 1988. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná/ UNICENTRO, Campus de Guarapuava (2013). Possui especialização em Clínica Médica e Reprodução de Bovinos pela Universidade Tuiuti do Paraná (2013). Atualmente, é mestranda do programa de Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/UNESP, Campus de Jaboticabal. Tem experiência na área de Ultrassonografia, Fisiologia Reprodutiva e Biotecnologias da Reprodução, com ênfase em programas de múltipla ovulação transferência de embrião (MOTE) e videolaparoscopia em ovinos, atuando em Reprodução e Diagnóstico por Imagem em pequenos ruminantes.

"O correr da vida embrulha tudo.
A vida é assim: esquenta e esfria,
aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é coragem"

Guimarães Rosa

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais, José Rodriguez Garcia e Maria Elizabete Castilho Kako Rodriguez, por me apoiarem em todos os momentos e, mostrarem o quanto os bons valores são importantes, pelo amor e dedicação à mim, pelo exemplo de paciência, perseverança e luta.

Aos meus falecidos avós, Rosário e Odilo, por iluminarem meu caminho e serem meu anjo da guarda. Assim como minha avó Maria, ainda viva.

À Deus, por me guiar, dando forças para não desistir.

Aos meus irmãos, Juliana, Du e Rodrigo, obrigada por me estarem sempre ao meu lado e me estimularem a crescer e lutar pelos meus objetivos.

À minha parceira de trabalho que se tornou uma grande amiga e afilhada, Giovanna, obrigada pela parceria, paciência, aprendizado e por entrar na minha vida tornando-se como irmã.

À minha orientadora, pelos ensinamentos e conselhos, por me estimular a crescer e me esforçar para conquistar metas, por toda ajuda e tempo oferecido à mim, muito obrigada!

Aos meus amigos e equipe que contribuíram com meu trabalho: Victor, Ricardo Nociti, Ricardo Ramirez, Marjury, Ana Paula, Priscila, Renata, Dayane, Felipe, Rozana, Amanda, Marina, Juliane, Beatriz e Darcio obrigada pela sintonia, pela disposição, pela paciência, por toda ajuda e apoio, sem vocês o experimento não aconteceria.

Ao meu amigo e afilhado, Marcus, por sempre me motivar e incentivar, pelo afeto, conselhos, compreensão e muita ajuda.

Ao meu professor Pedro Paulo, pela ajuda no início do experimento, quando eu mais precisei, pelo apoio, carinho e amizade.

Ao professor Wilter, por sempre estar disposto a ajudar e caminhar de mãos dadas, por me acolher e aconselhar, por se preocupar com meu bem-estar pessoal e profissional, muito obrigada!

As minhas amigas, Marcela e Andresa, e aos meus amigos André e Damásio, por me acolherem em momentos difíceis e me ajudarem sempre quando precisei.

Aos funcionários, especialmente Seu Edson por estar sempre ao nosso lado auxiliando no trabalho, pela sua amizade.

À todos do Departamento de Reprodução Animal, que me receberam de “braços abertos” e estavam sempre disponíveis para qualquer auxílio.

Ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, por disponibilizar a silagem e, o laboratório para realizar o exame de OPG de nossas ovelhas.

À professora Jane do Departamento de Zootecnia, por nos emprestar carneiros reprodutores.

Aos estagiários que me acompanharam, obrigada pelo respeito e assistência.

À CAPES pela bolsa concedida.

À EMBRAPA, pelo auxílio financeiro (nº 02.13.06.026.00.00), PROPE nº TC1288/2015.

À todos que de alguma forma ajudaram neste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....	10
1. Introdução.....	10
2. Revisão de Literatura.....	12
2.1 Formação, composição e função do corpo lúteo.....	12
2.2 Luteólise fisiológica.....	13
2.3 Superovulação em ovelhas.....	14
2.4 Regressão prematura dos corpos lúteos.....	15
2.5 Ultrassonografia dos ovários.....	16
3. Referências.....	18
CAPÍTULO 2 – Dinâmica de corpos lúteos em protocolos com redução da dose de FSH na superovulação em ovelhas.....	23
Resumo	23
Introdução.....	24
Material e Métodos	26
Resultados e Discussão	30
Conclusão.....	39
Referências.....	40



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 12062/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Efeito da dose de FSH na superestimulação gonadotrófica sobre a resposta superovulatória, funcionalidade de corpos lúteos e produção in vivo de embriões em ovelhas Santa Inês"**, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Maria Emilia Franco Oliveira está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de julho de 2014.

Jaboticabal, 07 de julho de 2014.

Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

DINÂMICA DE CORPOS LÚTEOS EM PROTOCOLOS COM REDUÇÃO DA DOSE DE FSH NA SUPEROVULAÇÃO EM OVELHAS

RESUMO – Um dos grandes entraves da MOTE é a ocorrência de falhas no tratamento superovulatório, sendo que uma das causas pode ser a alta dose de FSH, podendo promover regressão prematura dos corpos lúteos e conseqüentemente uma resposta ineficaz ao tratamento superovulatório. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da dose de FSH exógeno no tratamento superestimulatório sobre a dinâmica de desenvolvimento e funcionalidade de corpos lúteos em fêmeas ovinas doadoras de embrião. Foram utilizadas 29 ovelhas Santa Inês, as quais foram submetidas à sincronização do estro com um dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®]), inserido no Dia 0, permanecendo até o Dia 8. Concomitantemente ao início do protocolo e retirada do dispositivo intravaginal foi administrado um análogo da PGF2 α . O tratamento gonadotrófico teve início 48 horas antes da retirada da progesterona (D6), quando as fêmeas foram aleatoriamente divididas em três grupos experimentais de acordo com a dose total de FSH suíno exógeno: G200 (controle, n=8) - 200 mg de FSH; G133 (n=8) - 133 mg de FSH; e G100 (n=8) - 100 mg de FSH. No D6 (1^a aplicação de FSH), as fêmeas receberam também 300 UI de eCG. As avaliações ultrassonográficas Modo-B e Doppler foram realizadas durante o período de luteogênese (D11) até o dia correspondente a videolaparoscopia (D15), com o propósito de acompanhar o desenvolvimento das estruturas lúteas (dimensões), avaliar os índices do fluxo sanguíneo da artéria ovariana (VPS, VDF, IR e IP) e, de avaliar macroscopicamente as características dos corpos lúteos formados e classificá-los em normais ou subnormais (regredidos prematuramente), através da videolaparoscopia. A análise estatística foi realizada por meio do software R[®], o nível de significância considerado foi de $p < 0,05$. As ovelhas superovuladas com 100 e 133 mg de FSH apresentaram um aumento gradativo do diâmetro dos corpos lúteos com passar dos dias pós-ovulação ($p < 0,001$), diferentemente, os animais que receberam o tratamento de 200 mg de FSH apresentaram aumento do diâmetro entre os dias 11 e 13 e diminuição nos dias 14 e 15 ($p < 0,001$). As ovelhas expostas ao tratamento superestimulatório com 200 mg de FSH apresentaram maior percentual de RPCL (49,03) em relação as dos grupos tratados com 100 e 133 mg de FSH ($p < 0,001$). A VDF foi maior nas ovelhas superovuladas com 133 mg de FSH um dia após as ovulações (D11) do que nas superovuladas com 100 mg de FSH ($p = 0,029$). O IR foi maior nas ovelhas superovuladas com 200 mg do que quando superovuladas com 100 mg de FSH ($p = 0,02$). E o IP foi maior nos dias 14 e 15 do que nos demais dias avaliados ($p < 0,01$). Conclui-se que a ultrassonografia é uma ferramenta eficaz para acompanhar a dinâmica luteal em ovelhas superestimuladas e, as menores doses de FSH exógeno foram suficientes para uma eficiente resposta superovulatória em ovelhas, proporcionando menor custo no tratamento gonadotrófico de fêmeas doadoras de embriões.

Palavras-chave: dosagem FSH exógeno, superestimulação, luteólise prematura, ultrassom, ovino.

DYNAMICS OF CORPORA LUTEA IN PROTOCOLS WITH REDUCTION OF FSH DOSE IN SUPEROVULATION IN EWES

ABSTRACT - One of the major obstacles of MOTE is occurrence of failures in superovulation, and one reason may be the high dose of FSH, which can promote premature regression of the corpus luteum and therefore ineffective response to superovulation. The aim of the present study was to evaluate the effect of exogenous FSH dose in superstimulatory treatment on development dynamic and function of corpora lutea in embryo donor ewes. Twenty-nine Santa Inês ewes were submitted to estrus synchronization with an intravaginal progesterone device (CIDR®), which was inserted on Day 0 and was remain until the Day 8. At the same time the beginning of the protocol and intravaginal device withdrawal was administered an analog of PGF2 α . The gonadotropin treatment was commenced 48 hours before the CIDR withdrawal (D6), when females are randomly divided into three groups according to the total dose of exogenous porcine FSH: G200 (control, n = 9) - 200 mg of FSH ; G133 (n = 10) - 133 mg FSH; and G100 (n = 10) - 100 mg of FSH. The total doses were administered in 8 to applications at 12 hour intervals (20, 20, 15, 15, 10, 10, 5 and 5% FSHp). In D6 (1st application FSH), females also received 300 IU of eCG. Evaluations ultrasound mode-B and Doppler were performed during the luteogênese period (D11) until the corresponding day of videolaparoscopy (D15), in order to follow the development of luteal structures (dimensions), evaluate the contents of the artery blood flow ovarian (VPS, EDV, RI and PI), and macroscopically evaluate the characteristics of the formed corpora lutea and classify them as normal or subnormal (premature regression) by laparoscopy. Statistical analysis was performed using the software R®, the level of significance was set at $p < 0.05$. The superovulated sheep with 100 and 133 mg of FSH showed a gradual increase in the diameter of corpora lutea with passage of post-ovulation days ($p < 0.001$), by contrast, the animals receiving treatment 200 mg of FSH showed increased diameter between 11 and 13 and decreased in 14 and 15 ($p < 0.001$). The sheep exposed to superstimulatory treatment with 200 mg of FSH presented higher RPCL (49,03) in relation to the groups treated with 100 and 133 mg of FSH ($p < 0.001$). The VDF was higher in superovulated sheep with 133 mg of FSH one day after the ovulation (D11) than in the superovulation 100 mg of FSH ($p = 0.029$). The IR was higher in superovulated sheep with 200 mg of superovulated that when 100 mg of FSH ($p = 0.02$). And the IP was higher in 14 and 15 than in the remaining days ($p < 0.01$). The conclusion is that ultrasound is a powerful tool for tracking the luteal dynamics superstimulated sheep and minor exogenous FSH doses were sufficient for efficient superovulatory response in sheep, providing lower cost for the gonadotrophin treatment of female donors embryos.

Keywords: exogenous FSH dosage, superestimulation, premature luteolysis, ultrasound, ovine.

LISTA DE ABREVIATURAS

CL – Corpo lúteo

CLs – Corpos lúteos

eCG - Gonadotrofina coriônica equina

FDA – Fibra em detergente ácido

FSH - Hormônio folículo estimulante

IP - índice de pulsatividade

IR - índice de resistência

máx - máximo

mm - milímetro

mg – Miligramas

MOTE – Múltipla ovulação e transferência de embriões

MHz – Mega-hertz

mín - mínimo

mL - Mililitros

ng – nanograma

NNP – Nitrogênio não proteico

PGF₂ α - Prostaglandina

RPCL – Regressão prematura dos corpos lúteos

UI - Unidade internacional

VDF - Velocidade diastólica final

VPS - Velocidade de pico sistólico

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Médias e desvios padrões dos diâmetros (em mm) dos corpos lúteos das ovelhas submetidas à superovulação com 100 (G100), 133 (G133) e 200 (G200) mg de FSH, durante o início da luteogênese até o quarto a quinto dia após a ovulação (Dia 0 = início dos protocolos superovulatórios)..... 32
- Tabela 2** - Médias e desvios padrões da velocidade diastólica final (VDF) da artéria ovariana em relação aos dias (D) de avaliação ultrassonográfica (durante o início da luteogênese até o quarto a quinto dia após a ovulação, sendo que Dia 0 = início dos protocolos superovulatórios) e, em relação aos tratamentos superestimulatórios com 100 mg de FSH (G100), 133 mg de FSH (G133) e 200 mg de FSH (G200). Demonstrando a significância através do valor de P (<0,05)..... 33
- Tabela 3** - Médias e desvios padrões dos índices do fluxo sanguíneo da artéria ovariana em relação aos dias (D) de avaliação ultrassonográfica (durante o início da luteogênese até o quarto a quinto dia após a ovulação, sendo que Dia 0 = início dos protocolos superovulatórios) e, em relação aos tratamentos superestimulatórios com 100 mg de FSH (G100), 133 mg de FSH (G133) e 200 mg de FSH (G200). Demonstrando a significância através do valor de P (<0,05)..... 35
- Tabela 4** - Médias e desvios padrões do número de folículos anovulatórios, corpos lúteos (CLs) totais, CLs normais, CLs regredidos prematuramente, nos dias correspondentes ao início da luteogênese ao quarto a quinto dia após a ovulação, em relação as ovelhas superovuladas com diferentes doses de FSH..... 37
- Tabela 5** - Taxas de corpos lúteos regredidos prematuramente e corpos lúteos normais em relação aos grupos de ovelhas superovuladas com 100 (G100), 133 (G133) e 200 (G200) mg de FSH, durante o início da luteogênese até o quarto a quinto dia após a ovulação..... 39

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Esquema ilustrativo do protocolo superovulatório utilizado durante o experimento..... 27
- Figura 2** - Mensuração pela ultrassonografia, da altura máxima e do diâmetro transversal máximo dos corpos lúteos (em mm) de ovelhas superovuladas, durante o 15º dia (cinco à seis dias após a ovulação) do protocolo superovulatório..... 29
- Figura 3** - Obtenção dos índices do fluxo sanguíneo (VPS, VDF, IR e IP) da artéria ovariana de ovelhas superovuladas, pela ultrassonografia doppler espectral. VPS=velocidade de pico sistólico; VDF=velocidade diastólica final; IR=índice de resistibilidade; IP=índice de pulsatividade..... 29

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

A produção *in vivo* de embriões é uma potente tecnologia para acelerar o melhoramento genético em pequenos ruminantes (AMIRIDIS & CSEH, 2012). Apesar de não existir levantamento oficial do emprego desta biotécnica em ovinos e caprinos pode-se observar o sucesso desta prática (OLIVEIRA, 2011) pelo cenário de amplo crescimento e acelerada multiplicação dos rebanhos em todo mundo (OLIVEIRA et al., 2013a).

É inegável a importância dessa técnica na reprodução de animais, todavia a múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) em ovinos necessita de estudos e maior compreensão de seus fenômenos para o incremento em eficiência, especialmente relacionada as respostas aos tratamentos superovulatórios e produção de embriões viáveis. Um dos entraves da MOTE é a regressão prematura de corpo lúteo (RPCL), a qual tem sido considerada como um grande obstáculo na produção *in vivo* de embriões, pois tem ocorrido em até 75% das ovelhas superestimuladas (LOPES JÚNIOR et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2013d).

Considera-se luteólise prematura, a regressão do corpo lúteo que acontece antes do momento em que o endométrio inicia fisiologicamente a secreção pulsátil de PGF2 α em um ciclo estral (SÁ FILHO & VASCONCELOS, 2008), ou seja antes da fase final do diestro. A evidência da regressão luteal precoce é confirmada pela concentração de progesterona plasmática abaixo de 1 ng/mL (CERVANTES et al., 2007). Esta falha pode indiretamente funcionar como um fator tóxico para o embrião (CERVANTES et al., 2007), gerando como principal consequência baixa taxa de recuperação de embriões viáveis (SALLES et al., 1998; GOMES et al., 2014), visto que a colheita de embriões ocorre entre os dias 6 e 8 após o início do estro (OLIVEIRA et al., 2013a).

As causas da RPCL não estão completamente elucidadas, contudo é justificável a exacerbada ocorrência deste evento em fêmeas submetidas a protocolos superovulatórios. Independentemente da gonadotrofina empregada há registros de elevado número de corpos lúteos acometidos. Acredita-se que tal alteração na dinâmica ovariana e endócrina seja em virtude do uso de doses consideradas altas (KAFI & McGOWAN, 1997), as quais podem induzir um estímulo prolongado sobre os

folículos que, por sua vez, não ovulam (folículos anovulatórios ou persistentes) e permanecem produzindo estrógeno durante a fase lútea inicial, ocasionando dessa maneira a liberação precoce de PGF2 α e regressão luteal (OKADA *et al.*, 2000; FONSECA & SIMPLÍCIO, 2008).

Em ovinos, emprega-se comumente protocolos superovulatórios com doses altas (OLIVEIRA *et al.*, 2013b) de FSH por ovelha estimulada (OLIVEIRA *et al.*, 2014) enquanto em bovinos as doses usuais são bem menores. Os registros na literatura de estudos neste sentido ainda são escassos (WU *et al.*, 2011; LOIOLA FILHO, 2013), tampouco há resultados referentes aos efeitos sobre a dinâmica de desenvolvimento dos folículos, quiçá sobre o contexto da regressão prematura dos corpos lúteos.

O diagnóstico desta alteração de funcionalidade dos corpos lúteos requer o emprego de técnicas que possibilitem a avaliação macroscópica de suas características, como pela laparotomia ou laparoscopia, as quais são consideradas invasivas. Apesar de não se ter estudos comprovando, acredita-se que outra ferramenta diagnóstica seria a avaliação histológica, entretanto, ainda mais invasiva (BAITHALU *et al.*, 2013), sugerindo a dificuldade de diagnosticar RPCL.

Pelos métodos de detecção da RPCL apontados, denota-se o grande pleito por estabelecer ferramentas alternativas para o diagnóstico rápido, prático, eficiente e não invasivo. Acredita-se que a ultrassonografia seja o método mais viável para este fim, no entanto, não há estudos que comprovem com procedimento diagnóstico eficaz para a RPCL. Sabe-se que a ultrassonografia dos ovários é muito útil para detectar as estruturas ovarianas e acompanhar eventos como o desenvolvimento folicular e do corpo lúteo (OLIVEIRA, *et al.*, 2013a). Diferenças em ecogenicidade e ecotextura destas estruturas já foram indicadas ao longo da fase luteal do ciclo estral em ovelhas (GONZALEZ-BULNES *et al.*, 2000). A avaliação da função luteal por meio de análise de atributos da imagens ultrassonográficas também foi estudada em cabras, por ARASHIRO *et al.* (2010), os quais indicaram pequena correlação entre ecotextura do CL e sua função esteroideogênica, demonstrando o potencial limitado de diagnóstico ultrassonográfico da função luteal em caprinos. Vale destacar que os autores realizaram apenas a ultrassonografia convencional.

Sabe-se que recentemente a ultrassonografia Doppler tem sido empregada com o objetivo de aprimorar os conhecimentos fisiológicos da reprodução, como por exemplo pelo estudo da vascularização de corpos lúteos (BARBOSA & SILVA, 2012; LÜTTGENAU & BOLLWEIN, 2014). Uma vez que, este sistema vascular representa

50% das células que os constituem (SALLES & ARAÚJO, 2010), a investigação neste âmbito apresenta extrema relevância. Assim projeta-se que na RPCL seja possível detectar diferenças em relação às estruturas funcionais.

Neste contexto, denota-se a grande importância deste estudo, o qual busca aperfeiçoar a utilização de protocolos de FSH com doses reduzidas em ovinos, assim como, potencialmente definir ferramenta diagnóstica efetiva da qualidade e funcionalidade dos corpos lúteos pelo emprego da ultrassonografia.

4. Conclusão

A redução das doses de FSH exógeno de 200 mg para 133 e 100 mg empregadas no tratamento superovulatório em ovelhas asseguram a formação mais adequada de corpos lúteos e de melhor qualidade. Fato que permite a escolha da dose de 100 mg para o desenvolvimento de protocolos superovulatórios mais eficientes e de custo inferior em ovinos.

Referências

- [1] Acosta, TJ; Miyamoto, A. Vascular control of ovarian function: ovulation of corpus luteum formation e regression. *Animal reproduction science*, v. 82-83, p. 127-140, 2004.
- [2] Amiridis, GS; Cseh, S. Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. *Animal Reproduction Science*, n. 130, p. 152-161, 2012.
- [3] Arashiro, EK; Fonseca, JF; Siqueira, LGB; Fernandes, CA; Brandão, FZ; Oba, E; Viana, JH. Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. *Small Ruminant Research*, aticle in press, 2010.
- [4] Arashiro, EK; Viana, JHM; Fonseca, JF; Camargo, LSA; Fernandes, CAC; Brandão, FZ. Luteal dynamics in goats: morphological and endocrine features. *Revista Brasileira de Zootecnia*, n. 9, v. 39, p. 1937-1942, 2010.
- [5] Ayres, H; Mingoti, GZ. Angiogênese, vascularização e uso do ultrassom Doppler colorido na avaliação de estruturas ovarianas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, n. 13, v. 36, 174-180, 2012.
- [6] Baithalu, RK; Singh, SK; Gupta, C; Raja, AK; Saxena, A; Kumar, Y; Sinhg, R; Agarwal, SK. Cellular and functional characterization of Buffalo (*Buballus bubalis*) corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy. *Animal Reproduction Science*, v. 140, p.138-146, 2013.
- [7] Barbosa, CC; Silva, LDM. Ultrassonografia Doppler para avaliação reprodutiva de fêmeas. *Revista brasileira de reprodução animal*, n. 4, v. 36, p. 220-224, Belo Horizonte, out/dez de 2012.
- [8] Bartlewski, PM; Baby, TE; Giffin, JL. Reproductive cycles in sheep. *Animal reproduction science*, v. 124, p. 259-268, fevereiro de 2011.
- [9] Bertan, CM; Binelli, M; Madureira, EH; Traldi, AS. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise – revisão de literatura. *Animal Science*, v. 43, n. 6, p. 824-840, São Paulo, 2006.

- [10] Brasil, OO. Maior tempo de exposição à progesterona associado ao uso de agonista de GnRH na superovulação e produção de embriões ovinos. 2013. 69f. Dissertação (mestrado em ciências animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.
- [11] Cervantes, MJ; Juaréz, ML; Mejía, VO; Berruecos, VJM; Vera, AH; Valencia, J. Use of fluorogestone acetate after breeding to reduce the effect of premature luteal regression in dairy goats when superovulation is induced with FSH. *Animal Reproduction Science*, v.97, p. 47-54, 2007.
- [12] Dickie, AM; Paterson, C; Anderson, JLM; Boyd, JS. Determination of corpora lutea number in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology*, v. 51, p.1209-1224, 1999.
- [13] Ferreira, JC; Ignácio, FS; Meira, C. Uterine vascular perfusion and spectral-Doppler measurements during early gestation in mares: New concepts of evaluation. *Animal Reproduction Science*, v. 121, p. 281-283, 2010.
- [14] Fonseca, JF. Alguns aspectos da transferência de embriões em caprinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 34, p. 65-70, 2006.
- [15] Figueira, LM. Análise de imagens ultrassonográficas em modo Doppler colorido na avaliação da função luteal em ovinos da raça Santa Inês. 83f. Dissertação de mestrado (clínica e reprodução animal) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.
- [16] Ginther, OJ; Utt, MD. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 24, p. 516-526, 2004.
- [17] Ginther, OJ; Santos, VG; Mir, RA; Beg, MA. Progesterone concentration when the future ovulatory follicle and corpus luteum are located in ipsilateral or contralateral ovaries in heifers. *Theriogenology*, v.79, p. 534-540, 2013.
- [18] Gomes, MGT. Influência do ambiente térmico e de diferentes dietas na superovulação e nos parâmetros fisiológicos de ovelhas Santa Inês. 243f. Tese de doutorado (Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

- [19] Gonzalez-Bulnes, AG; Moreno, JS; Brunet, AG; Sebastian, AL. Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in monovular ewes. *Reproduction Domestic Animals*, v. 35, p. 65-68, Berlin, 2000.
- [20] González-Bulnes, A; García-García, RM; Santiago-Moreno, J; López-Sebastián, A; Cocero, MJ. Effect of follicular status on superovulatory response in ewes by precense of corpus luteum at first FSH dose. *Theriogenology*, v. 58, p. 1607-1614, 2002a.
- [21] González-Bulnes, A; García-García, RM; Santiago-Moreno, J; Dominguez, V; López-Sebastián, A; Cocero, MJ. Reproductive Season affects inhibitory effects for large follicles on the response to superovulatory FSH treatment in ewes. *López-Theriogenology*, v. 60, p. 281-288, 2003.
- [22] González-Bulnes, A; García-García, RM; Castellanos, V; Santiago-Moreno, J; Ariznavarreta, C; Domínguez, V; López-Sebastián, A; Tresguerres, JAF; Cocero, MJ. Influence of maternal enviroment obtained in reponse to superovulatory FSH treatments in ewes. *Reprod.Nutr.Dev*, v. 43, p.17-28, 2003.
- [23] Honnens, A; Niemann, H; Herzog, K; Paul, V; Meyer, HHD; Bollwein, H. Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v. 113, p. 1-10, 2009.
- [24] Kafi, M.; McGowan, MR. Factors associated with variation in the superovulatory response in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.48, p.137–157, 1997.
- [25] Koster, K; Nautrup, CP; Gunzel-Apel, ARA Doppler ultrasonographic of cyclic changes of ovarian perfusion in the beagle bitch. *Reproduction*, v.122, p. 453- 461, 2001.
- [26] Leal, LS; Oba, E; Fernandes, CAC; Sá Filho, OG. Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, p. 174-183, 2009.
- [27] Loiola Filho, JB. 2013. Efeito da dose de p_{fs}h na produção *in vivo* de embriões em ovelhas dorper pertencentes a duas categorias de peso corporal. 65f. Dissertação

(Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Petrolina, Pernambuco.

[28] Lopes Júnior, ES.; Maia, ELMM.; Almeida, KC.; Paula, NRO.; Teixeira, DIA.; Rondina, D; Selaive-Villaroel, AB.; Freitas, VJF. Influência dos níveis plasmáticos de progesterona sobre a resposta ovariana e produção embrionária de ovelhas Morada Nova (variedade branca). *Acta Scientiae Veterinariae*. v.34, p.510, 2006.

[29] Lüttgenau, J; Bollwein, H. Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. *Reproductive biology*, v. 14, p.103 – 109, 2014.

[30] Miyamoto, A; Shirasuna, K; Shimizu, T; Matsui, M. Impact of angiogenic and innate immune systems on the corpus luteum function during its formation and maintenance in ruminants. *Reproductive biology*, n. 13, p. 272-278, 2013.

[31] Menezes, DCR. 2014. Avaliação de protocolos para superovulação ovina. 85f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade de Brasília – UnB, Brasília, DF.

[32] Okada, A; Kamada, S; Jeon, CW.; Miyamoto, A; Fukui, Y. Incidence of abnormal corpus luteum in superovulated ewes. *Journal of Reproduction and Development*, v.46, p.397–402, 2000.

[33] Oliveira, MEF. Efeito da administração de LH ao final do tratamento superovulatório na taxa de ovulação e produção de embriões em ovelhas da raça santa inês. 70f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, São Paulo, 2008.

[34] Oliveira, MEF ; Fonseca, JF; Pieroni, JSP; Ferreira, RM. ; Cordeiro, MF; Souza, SF.; Teixeira, PPM ; Vicente, WRR. Occurrence of subnormal corpus luteum in superovulated Santa Inês sheep using protocols with or without LH administrated at the end of the FSH treatment. In: II International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2009, São Paulo. *Animal Reproduction*, v. 6. p. 231-231, 2009.

[35] Oliveira, MEF. Dinâmica folicular no uso em protocolos de Sincronização de estro e superovulação em Ovelhas santa inês. 131f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, São Paulo, 2011.

- [36] Oliveira, MEF.; Cordeiro, MF. ; FERREIRA, RM. ; SOUZA, SF. ; PIERONI, JSP .; RODRIGUES, LFS ; FONSECA, JF. ; Vicente, WRR. Does supplemental LH changes rate and time to ovulation and embryo yield in Santa Ines ewes treated for superovulation with FSH plus eCG. *Ciência Rural*, v. 42, p. 1077/6-1082, 2012.
- [37] Oliveira, MEF; Bartlewski, PM.; Feliciano, MAR. Controle do ciclo estral. In: Oliveira, MEF.; Teixeira, P.P.M; Vicente, WRR. (Eds). *Biotécnicas reprodutivas em ovinos e caprinos*, São Paulo: MedVet, p. 71-89, 2013a.
- [38] Oliveira, MEF; Feliciano, MAR;. *Ultrassonografia da Reprodução*. In: *Biotécnicas Reprodutivas em Ovinos e Caprinos*. Primeira edição. São Paulo: Editora MedVet, p.121-146, 2013b.
- [39] Oliveira, MEF; Feliciano, MAR.; D'Amatoa, CC; Oliveira, LG; Sony D; Bicudo, SD; Fonseca, J.F; Vicente, WRR; Visco, E; Bartlewski, PM. Correlations between ovarian follicular blood flow and superovulatory responses in ewes. *Animal Reproduction Science*, v.144, p.20-37, 2014.
- [40] Sá Filho, OG & Vasconcelos, JLM. Regressão prematura do corpo lúteo em bovinos. *Revista veterinária e zootecnia*, v. 15, n.2, p. 220-233, 2008.
- [41] Salles, HO; Soares, AT; Andrioli, A; Sobrinho, PAM; Azevedo, HC. Diferentes posologias de Funixin Meglumine na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em cabras superovuladas. *Ciência Animal*, vn. 8, v.2, p. 69-74, 1998.
- [42] Salles, MGF; Araújo, AA. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. *Revista Brasileira de Reprodução*, v. 34, p. 185-194, 2010.
- [43] Sangha, GK; Sharma, RK; Guraya, SS. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research*, v. 43, p. 53-64, 2002.
- [44] Silveira, KBX. Superovulação com FSH ou PMSG para produção de embriões em ovelhas Suffolk durante o anestro sazonal. 58f. Dissertação de mestrado (Patologia Veterinária) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.
- [45] Smith, G.W; Meidan, R. Ever-changing cell interactions during the life span of the corpus luteum: Relevance to luteal regression. *Reproductive Biology*, 2014.

- [46] Schiewe, MC; Fitz, TA, Brown JL; Stuart LD; Wildt DE. Relationship of estrus synchronization method circulating hormones, luteinizing hormone and prostaglandin F₂ alpha receptors and luteal progesterone concentration to premature luteal regression in superovulated sheep. *Journal Reproduction Fertility*, v. 93, p. 19-30, 1991.
- [47] Silva, LA; Gastal, EL; Beg, MA; Ginther, OJ. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biology Reproduction*, v. 72, p. 755–761, 2005.
- [48] Smith, G.W; Meidan, R. Ever-changing cell interactions during the life span of the corpus luteum: Relevance to luteal regression. *Reproductive Biology*, 2014.
- [49] Veiga-Lopez, A; Gonzalez-Bulnes, A; Tresguerres, JAF; Dominguez, V; Ariznavarreta, C; Cocero, MJ. Causes, characteristics and consequences of anovulatory follicles in superovulatory sheep. *Domestic Animal Endocrinology*, v.30, p. 76-87, 2006.
- [50] Viñoles, C; Meikle, A; Forsberg, M. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. *Animal Reproduction Science*, v. 80, p. 69-79, 2004.
- [51] Vonnahme, KA; Redmer, DA; Borowczyk, E; Bilski, JJ; Luther, JS; Johnson, ML; Reynolds, LP; Grazul-bilska, AT. Vascular composition, apoptosis, and expression of angiogenic factors in the corpus luteum during prostaglandin F₂α – induced regression in sheep. *Research reproduction*, v. 131, p. 1115-1126, 2006.
- [52] Wu, W; Hanikezi; Yang, M; Gong, P; Wang, F; Tian, Y; Xu, X; Fu, X; Tian, K; Guo, Z. Effect of two follicle stimulating hormone (FSH) preparations and simplified superovulatory treatments on superovulatory response in Xinji fine-wool sheep. *African Journal of Biotechnology*, v.10, p.15834-15837, 2011.