

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CÂMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DE TRATAMENTOS COM PROGESTERONA E/OU
ESTRADIOL NA INCIDÊNCIA DE REGRESSÃO PREMATURA
DO CORPO LÚTEO APÓS A PRIMEIRA OVULAÇÃO EM
VACAS NELORE PÓS-PARTO

OCILON GOMES DE SÁ FILHO

BOTUCATU-SP

Fevereiro/2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CÂMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DE TRATAMENTOS COM PROGESTERONA E/OU
ESTRADIOL NA INCIDÊNCIA DE REGRESSÃO PREMATURA
DO CORPO LÚTEO APÓS A PRIMEIRA OVULAÇÃO EM
VACAS NELORE PÓS-PARTO

OCILON GOMES DE SÁ FILHO

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Ass. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos

BOTUCATU-SP

Fevereiro/2007

CONSTITUIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Nome: SÁ FILHO, Ocilon Gomes de

Título: Efeito de tratamentos com progesterona e/ou estradiol na incidência de regressão prematura do corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Reprodução Animal.

Data: 16/02/2007

Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos (FMVZ/UNESP/Botucatu)

Prof. Dr. José Buratini Junior (IBB/UNESP/ Botucatu)

Prof. Dr. Mario Binelli (FMVZ/USP/Pirassununga)

Dedico este trabalho

Aos meus pais, Ocilon e Creuza, pelo amor incondicional, por acreditarem e investirem na minha formação e por sempre apoiarem a realização dos meus sonhos.

Aos meus avós, João (*in memoriam*) e Aparecida pelo amor e pelos exemplos de trabalho e honestidade.

À minha esposa Rose por sempre estar me incentivando e apoiando, por compreender os difíceis momentos de ausência e por me fazer entender cada vez mais o significado da palavra AMOR.

Ao nosso filho João Davi, por reforçar ainda mais nossa união, por dar novos horizontes à minha vida, por ser um estímulo para trabalhar e por fazer, com um simples sorriso, com que eu tenha forças para superar qualquer dificuldade.

A Deus, por nunca me abandonar e por sempre me mostrar o caminho correto a seguir.

Agradecimentos

Ao grande amigo Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos, por ter sido e ser, além de professor e orientador, um companheiro e um exemplo de simplicidade e de trabalho. Também por ajudar nos momentos difíceis, estimulando a enfrentá-los e a tomar as melhores decisões.

Às Prof^{as}. Dr^{as}. Eunice Oba e Maria Inês Lenz Souza, pelo estímulo inicial ao gosto pela pesquisa, sem o qual provavelmente eu não teria seguido o caminho da pós-graduação. Também pelo ensinamento de técnicas de radioimunoensaio e pela disponibilização do laboratório sempre que requisitado.

Ao Prof. Dr. Francisco Stefano Weschler por todos os ensinamentos e pela orientação nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. William W. Thatcher pelo convívio, hospitalidade e pelos preciosos conselhos para a execução do experimento descrito no Capítulo 2.

Ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu pela oportunidade de realização deste curso.

A todos os professores da graduação e pós-graduação que contribuíram para minha formação.

Aos amigos Ricarda, Gabriela, Edmundo, Tiago, Reinaldo e Mauro pelo convívio, por tudo que ensinaram e por serem exemplos a seguir.

Aos companheiros de pós-graduação Bia, Aydson, Rogério e Izaías pelo convívio e à Carolina pelo auxílio na execução do experimento descrito no Capítulo 2.

Ao Carlos, pela amizade e auxílio na execução do experimento descrito no Capítulo 4.

A toda equipe da Pecuária Novo Horizonte (Coxim-MS) por terem sido sempre prestativos e compreenderem a importância dos experimentos descritos nos Capítulos 2 e 4. Agradecimento especial aos amigos Moacir, pelos ensinamentos e apoio, e Adriano pela hospitalidade e pelas oportunidades oferecidas.

A toda equipe da Fazenda São Francisco (Bauru-SP) pela possibilidade da realização do experimento descrito no Capítulo 3.

Aos funcionários do Departamento de Produção e Exploração Animal - Lageado, Barbosa e Solange, pela amizade, atenção e auxílios concedidos.

Ao Prof. Dr. Cezinande Meira pelo auxílio nas dosagens de estradiol, e à Rose pelo auxílio nas dosagens de progesterona.

À CONAPEC Jr. pelas oportunidades trazidas, por tudo o que aprendi durante a graduação e aos seus integrantes, por estarem sempre disponíveis a ajudar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP), pela importante bolsa fornecida.

E a todos que de alguma forma contribuíram para execução deste trabalho, minha sincera gratidão.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	13
CAPÍTULO 1: Considerações gerais	18
1. Introdução	19
2. Revisão da Literatura	20
2.1. Luteinização	20
2.2. Luteólise	21
2.2.1. O papel da Ocitocina	22
2.2.2. Regulação dos receptores de OT: o papel do E ₂ e da P ₄ na luteólise	23
2.3. Luteólise prematura	25
2.3.1 Características dos CL que regredem prematuramente	26
2.3.2. Efeito do útero na ocorrência de ciclo curto	27
2.4. Hipóteses para explicar a luteólise prematura	28
2.4.1. O possível papel da P ₄	28
2.4.2. O possível papel do E ₂	29
2.4.3. Associação entre P ₄ e E ₂	29
2.5. Ciclo curto em vacas ciclando	30
3. Referências Bibliográficas	31
CAPÍTULO 2: Efeito de tratamentos com progesterona e/ou 17β-estradiol na duração do corpo lúteo subsequente à primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto.....	41
Resumo	42
Abstract	44

1. Introdução	46
2. Materiais e métodos	47
2.1. Animais e tratamentos	47
2.2. Remoção temporária de bezerros	49
2.3. Ultrassonografia das estruturas ovarianas	50
2.4. Colheita e análise de sangue	50
2.4.1. Dosagem de estradiol	50
2.4.2. Dosagem de progesterona	51
2.5. Análise estatística	52
3. Resultados	54
3.1. Concentrações séricas de estradiol	54
3.2. Taxa de ovulação	57
3.3. Características de fase luteal	59
4. Discussão	63
5. Conclusões	74
6. Referências bibliográficas	75
CAPÍTULO 3: Efeito do cipionato de estradiol antes da indução da ovulação na luteólise prematura em vacas Nelore em anestro	84
Resumo	85
Abstract	87
1. Introdução	89
2. Materiais e métodos	90
2.1. Animais e tratamentos	90
2.2. Remoção temporária de bezerros	91
2.3. Ultrassonografia das estruturas ovarianas	91

2.4. Colheita e análise de sangue	92
2.4.2. Dosagem de progesterona	92
2.5. Análise estatística	93
3. Resultados	94
3.1. Taxa de ovulação	94
3.2. Características de fase luteal	94
4. Discussão	97
5. Conclusões	102
6. Referências bibliográficas	103
 CAPÍTULO 4: Efeito do tempo de exposição à progesterona exógena (três vs. seis dias) antes da indução da ovulação na luteólise prematura em vacas Nelore em anestro	
em vacas Nelore em anestro	108
Resumo	109
Abstract	111
1. Introdução	113
2. Materiais e métodos	114
2.1. Animais e tratamentos.....	114
2.2. Remoção temporária de bezerros	115
2.3. Ultrassonografia das estruturas ovarianas	115
2.4. Colheita e análise de sangue	116
2.4.1. Dosagem de progesterona	116
2.5. Análise estatística	117
3. Resultados	118
3.1. Diâmetro do folículo ovulatório e taxa de ovulação	118
3.2. Características de fase luteal	119

4. Discussão	122
5. Conclusões	128
6. Referências bibliográficas	128
CAPÍTULO 5: CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES	134

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Efeito dos tratamentos experimentais e do pré-tratamento com progesterona por seis dias (efeito principal) na taxa de ovulação ao estímulo com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2005	59
Tabela 2. Efeito dos tratamentos experimentais, do pré-tratamento com progesterona por seis dias (efeito principal) e do tratamento com 1 mg de 17 β -estradiol antes da ovulação (efeito principal) na porcentagem de ciclo curto após indução da ovulação com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2005	64

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Efeito do tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol 48 horas antes do estímulo com GnRH na taxa de ovulação em vacas Nelore em anestro. Bauru-SP, 2005	100
--	-----

Tabela 2. Efeito do tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol 48 horas antes do estímulo com GnRH na porcentagem de ciclo curto após ovulação em vacas Nelore em anestro. Bauru-SP, 2005	102
--	-----

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Efeito da duração do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (três vs. seis dias) na taxa de ovulação ao estímulo com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2006	125
---	-----

Tabela 2. Efeito da duração do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (três vs. seis dias) na porcentagem de ciclo curto após indução da ovulação com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2006	128
--	-----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1. Diagrama esquemático do delineamento experimental. US, ultrassonografia ovariana; Sg, colheita de sangue; RB (54h), remoção de bezerros por 54 horas; 17β -E₂, injeção de 17β -estradiol (1 mg); Placebo, injeção de óleo de caroço de algodão (1 mL); GnRH, injeção de gonadorelina (100 µg). Cento e quatorze vacas em anestro (avaliadas por ultrassonografia ovariana nos dias -16 e -8) foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos (P₄ e/ou E₂; fatorial 2x2). A ovulação em resposta à injeção de GnRH foi avaliada por dois exames ultrassonográficos (d0 e d2). Apenas vacas que ovularam foram utilizadas para colheita de sangue nos dias 5, 7, 9, 12, 15 e 19.

Coxim-MS, 2005 51

Figura 2. Concentrações séricas de estradiol, em dois momentos, em vacas tratadas ou não com 17β -estradiol. O primeiro momento foi imediatamente antes dos tratamentos (E₂: $2,88 \pm 1,13$ pg/mL; Placebo: $2,72 \pm 1,13$ pg/mL) e o segundo momento foi 6,82±0,82 horas após os tratamentos (E₂: $71,78 \pm 11,14$ pg/mL; Placebo: $3,37 \pm 1,13$ pg/mL). A concentração de estradiol no segundo momento foi maior nas vacas tratadas com injeção i.m. de 1 mg de 17β -estradiol (P<0,01). Coxim-MS, 2005..... 56

- Figura 3. Concentrações séricas de estradiol (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) nas vacas seis, sete e oito horas após tratamento com injeção i.m. de 1 mg de 17 β -estradiol. a $\neq$ b (P<0,05). Coxim-MS, 2005..... 57
- Figura 4. Efeito do diâmetro do folículo dominante sobre as concentrações séricas de estradiol 48 horas após início da remoção de bezerros (P<0,01). Coxim-MS, 2005 58
- Figura 5. Efeito do diâmetro do folículo dominante sobre a probabilidade de ovulação ao estímulo com GnRH (P<0,01). Coxim-MS, 2005. 60
- Figura 6. Exemplos de perfis de progesterona sérica observados após a indução da ovulação vacas Nelore em anestro com remoção de bezerros + GnRH. A) Fase luteal de duração normal (vaca 985296); B) Luteólise prematura sem ovulação subsequente (vaca 502162); (C) Luteólise prematura sucedida por ovulação (vaca 502153). Coxim-MS, 2005..... 61
- Figura 7. Perfis de concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro. Perfil de P4 'A': Fase luteal de duração normal; Perfil de P4 'B': Luteólise prematura sem ovulação subsequente; Perfil de P4 'C': Luteólise prematura sucedida por ovulação. Coxim-MS, 2005 63

Figura 8. Concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro pré-tratadas (■) ou não (□) com dispositivo intravaginal de progesterona por seis dias. (*) Médias diferem significativamente ($P < 0,01$). Coxim-MS, 2005 65

CAPÍTULO 3

Figura 1. Diagrama esquemático do delineamento experimental. US, ultrassonografia ovariana; Sg, colheita de sangue; RB (48h), remoção de bezerros por 48 horas; ECP, injeção i.m. de cipionato de estradiol (1 mg); Placebo, injeção i.m. de óleo de caroço de algodão (1 mL); GnRH, gonadorelina. Trinta e cinco vacas em anestro (avaliadas por ultrassonografia ovariana nos dias -10 e -2) foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos (Controle e ECP). A ovulação em resposta à injeção de GnRH foi avaliada por dois exames ultrassonográficos (d0 e d2). Apenas vacas que ovularam foram utilizadas para colheita de sangue nos dias 5, 9 e 15. Bauru-SP, 2005 97

Figura 2. Exemplos de perfis de progesterona sérica observados após a indução da ovulação em vacas Nelore em anestro com remoção de bezerros + GnRH. A) Fase luteal de duração normal (vaca 91); B) Luteólise prematura (vaca 130). Bauru-SP, 2005 101

Figura 3. Perfis de concentrações séricas de progesterona (médias dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro. A) Grupo Controle; B) Grupo ECP; Perfil de P4 'A': Fase luteal de duração normal; Perfil de P4 'B': Luteólise prematura. Bauru-SP, 2005 101

Figura 4. Concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro tratadas (■) ou não (□) com 1 mg de cipionato de estradiol 48 horas antes da injeção de GnRH. Bauru-SP, 2005 . 102

CAPÍTULO 4

Figura 1. Diagrama esquemático do delineamento experimental. US, ultrassonografia ovariana; Sg, colheita de sangue; RB (48h), remoção de bezerros por 48 horas; GnRH, gonadorelina. Cento e nove vacas em anestro (avaliadas por ultrassonografia ovariana nos dias -16 e -8) foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos (Controle e 3d). A ovulação em resposta à injeção de GnRH foi avaliada por dois exames ultrassonográficos (d0 e d2). Apenas vacas que ovularam foram utilizadas para colheita de sangue nos dias 0, 5, 7 e 9. Coxim-MS, 2006 121

Figura 2. Efeito do diâmetro do folículo dominante sobre a probabilidade de ovulação ao estímulo com GnRH ($P < 0,01$). Coxim-MS, 2006 125

Figura 3. Exemplos de perfis de progesterona sérica observados após a indução da ovulação em vacas Nelore em anestro com remoção de bezerros + GnRH. A) Fase luteal de duração normal (vaca 985998); B) Luteólise prematura (vaca 987666). Coxim-MS, 2006 126

Figura 4. Perfis de concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro. Perfil de P4 “A”: Fase luteal de duração normal; Perfil de P4 “B”: Luteólise prematura 127

Figura 5. Concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro pré-tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona por três (▲) ou seis (■) dias. Coxim-MS, 2006 128

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

A bovinocultura de corte exige, para ser uma atividade sustentável em ambiente econômico competitivo, a obtenção de um bezerro/vaca/ano. Considerando-se 290 dias o período médio de gestação dos bovinos da raça Nelore e 30 dias o período mínimo necessário à involução uterina e restabelecimento dos estoques de LH na hipófise, observa-se que para se obter um intervalo entre partos de um ano é necessário que a vaca emprenhe num período de, no máximo, 45 dias (dois ciclos estrais). O prolongado anestro pós-parto e falhas na detecção do estro são as principais limitações para que tal objetivo seja atingido (YAVAS & WALTON, 2000).

Algumas estratégias de baixo custo, como remoção temporária de bezerros, aplicação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou associação de ambos, são altamente eficientes em reduzir o intervalo entre o parto e a primeira ovulação (MENEGETTI et al., 2001; VASCONCELOS et al., 2004). Entretanto, após a primeira ovulação, o ciclo estral dura, geralmente, menos que oito dias, devido a regressão prematura do corpo lúteo (CL; COPELIN et al., 1987). Como o reconhecimento materno da gestação ocorre aproximadamente no 17º dia do ciclo estral, a taxa de concepção é baixa quando vacas são inseminadas ou cobertas na primeira ovulação pós-parto (VASCONCELOS et al., 2004). Sabe-se que a secreção de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) pelo útero tem papel fundamental nesse processo, entretanto os mecanismos que induzem a secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$ ainda não estão totalmente esclarecidos.

Três experimentos foram realizados visando avaliar, em vacas em anestro, os efeitos de diferentes tratamentos com progesterona (P_4) e estradiol

(E₂), previamente à indução da ovulação, sobre as características da primeira fase luteal pós-parto. No primeiro experimento, descrito no Capítulo 2, formulou-se a hipótese de que o pré-tratamento com P₄ por seis dias e/ou injeção de 1 mg de 17β-estradiol previnem a regressão prematura do CL no primeiro ciclo estral pós-parto. No segundo experimento, descrito no Capítulo 3, formulou-se a hipótese de que a administração de 1 mg de cipionato de estradiol previne a regressão prematura do CL no primeiro ciclo estral pós-parto. No terceiro experimento, descrito no Capítulo 4, formulou-se a hipótese de que o pré-tratamento com P₄ por três dias apresenta a mesma eficácia que o pré-tratamento por seis dias na prevenção da luteólise prematura.

2. Revisão da Literatura

2.1. Luteinização

Em animais ciclando, após a regressão do CL e sob alta concentração de E₂ ocorre liberação de pico de LH pela hipófise, o que provoca ovulação do folículo dominante e formação do CL. Durante a ovulação, o oócito e o fluido folicular extravasam, criando uma cavidade para o desenvolvimento do CL a partir do folículo. Após a ovulação, as células da teca interna e da granulosa se multiplicam, ocorre intensa proliferação vascular, formando uma densa rede de vasos (DAMBER et al., 1987). O CL torna-se uma estrutura sólida e esférica, altamente vascularizada, cujo peso aumenta mais de seis vezes nos primeiros 10 dias (ZHENG et al., 1994). O conjunto de transformações que ocorre nas células da teca e da granulosa após a ovulação é denominado luteinização (MURPHY, 2000).

Hansel & Blair (1996) descreveram a presença de duas populações celulares histologicamente distintas no CL de vacas: uma população de células

menores, as quais são denominadas Células Luteínicas Pequenas (CLP) e uma população de células maiores, denominadas Células Luteínicas Grandes (CLG). Tanto *in vivo* (HANSEL & BLAIR, 1996) quanto *in vitro* (MEIDAN et al., 1990), é observado que as CLP originam-se das células da teca. Nos estágios iniciais do ciclo estral, as CLG se desenvolvem a partir de células da granulosa porém, em estágios mais avançados, elas também se desenvolvem da diferenciação de CLP (HANSEL et al. 1987; LEI et al., 1991).

2.2. Luteólise

Durante o ciclo estral normal de bovinos, o corpo lúteo (CL) sofre regressão morfológica e funcional aproximadamente 17 a 20 dias após a ovulação. Este processo, denominado luteólise, determina a duração do ciclo estral e é caracterizado pelo cessar da produção de P_4 e fragmentação dos componentes celulares, incluindo a redução do suporte vascular, proliferação do tecido conjuntivo, desorganização celular, degeneração e fagocitose das células luteais (MILVAE et al., 1996). A prostaglandina $F_{2\alpha}$ é a substância responsável pela regressão do CL, sendo secretada pelo endométrio bovino num padrão pulsátil durante o período da luteólise (SHEMESH & HANSEL, 1975) e atinge o CL por um sistema de transporte local veno-arterial de contracorrente (HIXON & HANSEL, 1974). Aproximadamente 98% da $PGF_{2\alpha}$ produzida é transformada em 13,14 diidro-15 ceto prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PGFM) na primeira passagem pelos pulmões (PIPER et al., 1970). Dessa forma, a produção de $PGF_{2\alpha}$ é geralmente mensurada, *in vivo*, através da PGFM. A concentração basal de PGFM em vacas durante a fase luteínica varia entre 10 e 100 pg/ml. No momento da luteólise, a PGFM é produzida em picos com

durações variando entre duas a cinco horas, espaçados por intervalos que duram de duas a trinta horas, atingindo concentrações plasmáticas de 150 a 500 pg/ml (BASU & KINDAHL, 1987; KINDAHL et al., 1976; KOTWICA et al., 1998; OYEDIPE et al., 1984). A ocitocina (OT), o E_2 e a P_4 parecem ser os hormônios mais importantes envolvidos na regulação deste processo (SILVIA et al., 1991).

2.2.1. O papel da Ocitocina

Nos ruminantes, a OT é secretada principalmente pela hipófise posterior e pelo CL. Seu papel na luteólise ainda não é exatamente compreendido, entretanto as observações de que a administração de OT durante o ciclo estral reduz sua duração (ARMSTRONG & HANSEL, 1959), de que pulsos de OT ocorrem concomitantemente a pulsos de $PGF_{2\alpha}$ durante a luteólise (VIGHIO & LIPTRAP, 1986) e de que a OT estimula agudamente a produção de $PGF_{2\alpha}$ pelo endométrio de ruminantes a partir do período final da fase luteínica (ROBERTS et al., 1976) sugerem que a OT está envolvida na regulação da luteólise em bovinos. A hipótese mais aceita atualmente sobre a ação da OT na luteólise foi proposta por McCracken et al. (1999), os quais consideram a OT o elemento responsável pela secreção pulsátil de $PGF_{2\alpha}$ precedente à luteólise. Segundo esses autores, próximo ao final da fase luteal, ocorre inibição dos receptores de P_4 na hipófise e endométrio, permitindo ação do E_2 , o qual estimula a hipófise a secretar pulsos de baixa concentração e alta frequência de OT. A OT secretada pela hipófise se liga aos seus receptores endometriais (OTR) e estimula a secreção de pequenas quantidades de $PGF_{2\alpha}$, as quais ainda não são suficientes para causar luteólise, mas induzem a secreção de

parte da OT estocada no CL. Essa liberação suplementar de OT amplifica a produção endometrial de $\text{PGF}_{2\alpha}$, formando-se um ciclo de retroalimentações positivas entre OT e $\text{PGF}_{2\alpha}$ que resulta na liberação de pulsos de alta amplitude de $\text{PGF}_{2\alpha}$, os quais levam à regressão do CL pela ação da $\text{PGF}_{2\alpha}$. Portanto, a aquisição de responsividade à OT pelo endométrio parece determinar quando a luteólise irá ocorrer, sendo esse fenômeno regulado pela P_4 e pelo E_2 (SILVIA et al., 1991).

2.2.2. Regulação dos receptores de OT: o papel do E_2 e da P_4 na luteólise

A P_4 regula a luteólise de diferentes formas. A exposição à P_4 promove o acúmulo nas células endometriais de ácido araquidônico (AA) e ciclooxigenase (COX), elementos essenciais à síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (SILVIA et al., 1991; GOFF, 2004). Santos (2005) observaram que vacas recebendo dieta de alta densidade energética apresentaram redução nas concentrações plasmáticas de P_4 e na secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ em resposta ao estímulo com OT. A suplementação com P_4 no início do ciclo estral promoveu redução na duração do ciclo estral, provavelmente devido a um acúmulo precoce de AA e COX no endométrio, causando secreção prematura de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (WOODY et al., 1967; GARRET et al., 1988). Este resultado de maior produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$, em vacas com maior concentração plasmática de P_4 pode ser uma possível explicação para a menor taxa de concepção em receptoras de embrião com altas concentrações de P_4 relatada por Nogueira et al. (2004) e para a correlação negativa entre alta concentração de P_4 e sobrevivência embrionária encontrada por Stronge et al. (2005).

Por outro lado, até a segunda metade do ciclo estral, a P_4 exerce efeito supressivo à secreção de $PGF_{2\alpha}$ (SILVIA et al., 1991). Esse efeito supressivo é devido à ação inibitória da P_4 na expressão do gene dos OTR (FUCHS et al., 1990; JENNER et al., 1991; MANN & LAMMING, 1994). Após aproximadamente 12 dias de exposição contínua, o bloqueio da P_4 nos OTR se reduz (LAFRANCE & GOFF, 1988), possivelmente devido a uma redução nas concentrações dos receptores de P_4 (PR) causada pela própria P_4 endógena. Dessa forma, o endométrio passa ter capacidade de secretar $PGF_{2\alpha}$ em resposta ao estímulo da OT.

A importância do E_2 na regulação da luteólise foi considerada quando observou-se que a remoção dos folículos ovarianos resultou em maior duração do ciclo estral (VILLA-GODOY et al., 1985) e que a administração do E_2 na metade da fase luteal eleva as concentrações plasmáticas de PGFM, dando início à luteólise, possivelmente através da elevação das concentrações de OTR endometriais (HIXON & FLINT, 1987). Esse efeito do E_2 é dependente da P_4 , pois ele só é observado após o endométrio ter sido previamente exposto ("priming") à P_4 (LAFRANCE & GOFF, 1988; LAMMING & MANN, 1995a). Outro fator determinante na regulação dos OTR pelo E_2 é a concentração plasmática desse esteróide. Assim, após a metade da fase luteal, as concentrações dos receptores de E_2 (ER) aumentam, possivelmente devido a um estímulo causado pelo próprio E_2 de seus próprios receptores endometriais (XIAO & GOFF, 1999), elevando conseqüentemente as concentrações de OTR. Já após o estro, o pico pré-ovulatório de E_2 secretado pelo folículo dominante resulta em decréscimo das concentrações dos OTR, produzindo uma situação

de ausência de resposta do endométrio à OT nos primeiros dias do ciclo estral (LAMMING & MANN 1995a,b).

Estes dados sugerem que a regulação dos OTR pode ocorrer de três formas diferentes no decorrer do ciclo estral: 1) na fase inicial, quando a P_4 ainda é baixa, os OTR se encontram em baixas concentrações devido à inibição causada pelos altos níveis de E_2 pré-ovulatório; 2) Na metade da fase luteal, quando a inibição do E_2 pré-ovulatório possivelmente não exerce mais influência, a P_4 encontra-se em níveis elevados, inibindo a expressão dos OTR endometriais; 3) No final da fase luteal, os PR são inibidos pela exposição prolongada à própria P_4 e o folículo dominante secreta E_2 em concentrações intermediárias, propiciando a expressão dos OTR no endométrio e permitindo o estímulo da OT à secreção de $PGF_{2\alpha}$.

2.3. Luteólise prematura

Considera-se luteólise prematura quando essa ocorre antes do 16º dia do ciclo estral, ou seja, antes do momento em que o endométrio inicia a secreção pulsátil de $PGF_{2\alpha}$ em um ciclo estral de duração normal. Nesse caso, o intervalo interestros é mais curto que a média observada sendo, portanto, denominado ciclo curto.

A ocorrência de ciclos curtos é bastante comum em vacas em anestro após ovulações induzidas por desmamas, desmamas associadas a tratamento com GnRH, GnRH, hCG e em novilhas após a primeira ovulação na puberdade (YAVAS & WALTON, 2000), sendo sempre acompanhado por baixas taxas de concepção, pois o CL regride quando o embrião ainda não é capaz de produzir bFN- τ suficiente para bloquear a luteólise (MANN & LAMMING, 2001)

ocasionando morte embrionária precoce. Nesses casos, a luteólise ocorre assim que o CL se torna responsivo à $\text{PGF}_{2\alpha}$, ou seja, no sexto dia do ciclo estral (HENRICKS et al., 1974).

Stagg et al. (1998) verificaram, após a primeira ovulação pós-parto, a ocorrência de ciclos curtos (<16 dias) em 85% das vacas, sendo que 12% das vacas tiveram ciclos de duração normal (18 a 24 dias) e 3% de ciclos longos (>24 dias).

Diversas possibilidades já foram levantadas visando explicar a ocorrência de ciclos curtos, entre elas: (1) Desenvolvimento inadequado do folículo ovulatório (RAMIREZ-GODINEZ et al., 1981); (2) suporte gonadotrófico inadequado (MANNNS et al., 1983); (3) inabilidade do CL em responder às gonadotrofinas (KESLER et al., 1981); (4) estímulo luteolítico prematuro (PULGISI et al., 1979); (5) maior sensibilidade do CL a substâncias luteolíticas (TROXEL & KESLER, 1984b).

2.3.1. Características dos CL que regridem prematuramente

Os primeiros estudos sobre ciclo curto objetivaram determinar se a ocorrência desse fenômeno estava relacionada a deficiências na função do CL. Observou-se que o peso do CL, concentrações luteais de P_4 e concentrações de receptores de LH não foram diferentes entre vacas com ciclo curto e vacas com duração luteal normal (BRADEN et al., 1989b). Além disso, o número de células luteais, porcentagem de CLG e concentração de receptores de $\text{PGF}_{2\alpha}$ também foram similares nesses dois grupos experimentais. O'Shea et al. (1984) não observaram diferença na porcentagem de CLG, porém o número total e o tamanho das CLG foi menor nos CL que apresentaram ciclo curto.

Apesar da mesma quantidade de receptores de LH, houve uma menor resposta ao LH *in vitro* dos CL cuja expectativa era de ciclo curto. Em outros estudos, a administração de LH ou hCG não alterou (KESLER et al. 1981; MCNEILLY et al., 1981) ou estimulou (O`SHEA et al., 1984; DUBY et al., 1985; RUTTER et al., 1985) a secreção *in vitro* de P_4 em CL cuja expectativa era de ciclo curto. Além disso, os CL que apresentam menor duração não são mais sensíveis à $PGF_{2\alpha}$ do que CL de duração normal (COPELIN et al., 1989).

2.3.2. Efeito do útero na ocorrência de ciclo curto

Estudos de Copelin et al. (1987), compararam a duração do ciclo estral em dois grupos de vacas em anestro que retornaram a ciclar: um grupo de vacas intactas (controle) e um grupo de vacas histerectomizadas. O grupo controle apresentou o primeiro ciclo estral mais curto ($8,8 \pm 0,3$ dias) que o grupo de vacas histerectomizadas, nas quais só se observou regressão do CL após aplicação de $PGF_{2\alpha}$. O segundo ciclo no grupo controle, no entanto, apresentou duração normal ($20,2 \pm 0,5$ dias). Esses dados confirmaram a hipótese de que o ciclo curto é consequência de um estímulo luteolítico prematuro do útero, o que já havia sido sugerido por Troxel & Kesler (1984a) ao observarem que a secreção de $PGF_{2\alpha}$ ocorre mais cedo em vacas que apresentam ciclo curto em comparação às que apresentam ciclo de duração normal. Além disso, a administração intra-uterina de indometacina, um potente inibidor da síntese de $PGF_{2\alpha}$, prolongou a duração do primeiro CL formado pós-parto (TROXEL & KESLER, 1984b). Posteriormente, também se observou que a imunização ativa contra $PGF_{2\alpha}$ em vacas em anestro reduziu a ocorrência de ciclos curtos (COPELIN et al., 1989). A partir desses estudos, iniciaram-se

novas pesquisas visando determinar os mecanismos relacionados a esse estímulo luteolítico precoce.

2.4. Hipóteses para explicar a luteólise prematura

Apesar do consenso de que o ciclo curto é consequência de uma secreção prematura de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo útero durante a fase luteal, ainda há controvérsias em relação ao mecanismo causador da antecipação dos mecanismos luteolíticos. Atualmente são aceitas duas hipóteses, sendo que não há trabalhos confrontando-as sob mesmas condições.

2.4.1. O possível papel da P_4

Vasconcelos et al. (2004) observaram que a utilização de dispositivos intravaginais de P_4 em protocolos de indução de ciclicidade para vacas em anestro proporciona maior taxa de concepção à primeira IA. Esses resultados corroboram com os trabalhos de Cooper et al. (1991) e Fike et al. (1997), os quais demonstraram que o pré-tratamento de vacas em anestro com P_4 ou progestágenos reduz a ocorrência de ciclos curtos após a indução da ovulação. Além disso, Copelin et al. (1987) observaram que o CL formado após um ciclo curto tem duração normal. Zollers et al. (1993) observaram redução na quantidade de OTR no endométrio de vacas pós-parto após tratamento com implante de norgestomet, sugerindo um efeito similar ao da P_4 , já que o norgestomet atua através de ligação a receptores de P_4 (MOFFATT et al. 1993).

Esses dados em conjunto sugerem que o mecanismo pelo qual a exposição à P_4 antes da ovulação evita a luteólise prematura envolve a inibição de OTR no endométrio após a ovulação.

2.4.2. O possível papel do E_2

Diversos trabalhos mostram menor secreção de E_2 por folículos que originaram CL de regressão precoce (GARVERICK et al., 1988; BRADEN et al. 1989a,b; SHEFFEL et al., 1982; GARCIA-WINDER et al., 1986). Lamming & Mann (1995a,b) estudando vacas durante ciclo estral normal verificaram que o pico pré-ovulatório de E_2 reduziu temporariamente a concentração de OTR endometriais, evitando, no início da fase luteal, episódios de secreção de $PGF_{2\alpha}$. Mann & Lamming (2000) compararam animais ovariectomizados tratados com diferentes doses de E_2 e constataram que altas concentrações desse hormônio provocam depleção nos receptores endometriais de OT, provavelmente por um mecanismo de inibição do E_2 em seus receptores uterinos, afetando a expressão dos receptores de ocitocina. Entretanto, como trabalharam com vacas ovariectomizadas, não foi possível verificar a duração dos ciclos estrais. Esses dados sugerem que ciclos curtos podem ser resultado de uma secreção pré-ovulatória inadequada de E_2 , de forma a não haver um sinal suficientemente forte para bloquear os receptores de OT, possibilitando a secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$.

2.4.3. Associação entre P_4 e E_2

Garverick et al. (1988) observaram que o tratamento com P_4 para evitar ciclo curto em vacas pós-parto também resulta em maiores concentrações de

E₂ pré-ovulatório. Portanto, se o mecanismo que previne ciclos curtos for relacionado ao bloqueio do E₂ aos OTR, o efeito da pré-exposição à P₄ pode ocorrer através de um mecanismo indireto, devido à maior secreção de E₂ pelo folículo pré-ovulatório.

Trabalhos com ovelhas realizados por Moore (1985) e Wilmut et al. (1986) mostraram que três estágios de exposição esteroidal são necessários para o desenvolvimento de um ambiente uterino favorável à concepção. A primeira é a fase de exposição à P₄ imediatamente antes do estro, seguindo-se uma fase de concentrações crescentes de E₂ no estro e, finalmente, a manutenção de concentrações de P₄ suficientes no ciclo estral subsequente. Na primeira ovulação pós-parto, essa seqüência de exposição aos esteróides é alterada e as concentrações de P₄ e E₂ encontram-se limitadas, ao contrário do que ocorre em vacas cíclicas. Isso sugere que a associação entre P₄ e E₂, respeitando a seqüência fisiológica, pode ser mais importante que os efeitos isolados da P₄ ou do E₂.

2.5. Ciclo curto em vacas ciclando

A ocorrência de ciclos curtos em animais ciclando tem sido relatada (VASCONCELOS et al., 2001; TAPONEN et al., 2003; PETERS & PURSLEY, 2003) quando esses foram induzidos a ovular folículos pequenos com aplicação de GnRH. A incidência de ciclos curtos nesses casos variou entre 19 e 58%. Apesar de esse fenômeno parecer estar relacionado à ovulação de folículos menores ou menos maduros, Taponen et al. (2003) mostraram que, similarmente ao que ocorre em animais pós-anestro, esses ciclos curtos são consequência de uma secreção prematura de PGF_{2α} pelo endométrio. Peters &

Pursley (2003), ao testarem a antecipação do segundo GnRH do protocolo Ovsynch, observaram redução nas taxas de concepção, provavelmente devido à ocorrência de ciclos curtos, já que as taxas de sincronização foram similares às das vacas tratadas com o protocolo convencional. Por ter sido recentemente relatada, a ocorrência de ciclos curtos em animais ciclando ainda foi pouco estudada, porém reforça a hipótese do papel do E_2 , pois animais ovulando folículos menores provavelmente apresentam menores concentrações circulantes de E_2 pré-ovulatório, o que seria insuficiente para inibir OTR no endométrio, possibilitando secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$. Além disso, a ovulação de folículos menores gera corpos lúteos menores, os quais secretam menores concentrações de P_4 (VASCONCELOS et al., 2001), de forma que o bloqueio da P_4 aos OTR pode ser minimizado, propiciando luteólise precoce.

3. Referências Bibliográficas

ARMSTRONG, D.T., HANSEL, W. Alteration of the bovine estrous cycle with oxytocin. **J. Dairy Sci.**, p.533-542, 1959.

BASU, S., KINDAHL, H. Development of a continuous blood collection technique and a detailed study of prostaglandin $F_{2\alpha}$ release during luteolysis and early pregnancy in heifers. **J. Veter. Med.**, v.A34, p.487-500, 1987.

BRADEN, T.D., KING, M.E., ODDE, K.G., NISWENDER, G.D. Development of preovulatory follicles expected to form short-lived corpora lutea in beef cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.85, p.97-104, 1989a.

BRADEN, T.D., KING, M.E., ODDE, K.G., NISWENDER, G.D. Functional and morphological characteristics of the first corpus luteum after parturition in ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v.86, p.525-533, 1989b.

COOPER, D.A., CARVER, D.A., VILLENEUVU, P., SILVIA, W.J., INSKEEP, E.K. Effects of progestogen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. **J. Reprod. Fertil.** v.91, p.411-421, 1991.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S. Effect of the uterus on subnormal luteal function in anestrous beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.64, p.1506-1511, 1987.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., KEISLER, D.H., GARVERICK, H. Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin $F_{2\alpha}$ on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea. **J. Reprod. Fertil.**, v.87, p.619-630, 1989.

DAMBER, J. E., CAJANDER, S., GAFVELS, M., SELSTAM, G. Blood flow changes and vascular appearance in preovulatory follicles and corpora lutea in immature pregnant mare's serum gonadotropin-treated rats. **Biol. Reprod.**, v.37, p.651-658, 1987.

DUBY, R. T., BROWNING, R., CAREY, D., BLACK, D. L. Progesterone synthesis and histology of post partum bovine corpora lutea. **Theriogenology**, v.23, p.619-630, 1985.

FIKE, K.E., DAY, M.L., INSKEEP, E.K., KINDER, J.E., LEWIS, P.E., SHORT, R.E., HAFS, H.D. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.2009-2015, 1997.

FUCHS, A., BEHRENS, O., HELMER, H., VANGSTED, A., IVANISEVIC, M., GRIFO, J., BARROS, C., FIELDS, M. Oxytocin and vasopressin binding sites in human and bovine ovaries. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.163, p.1961-1967, 1990.

GARCIA-WINDER, M., LEWIS, P.E., DEAVER, D.R., SMITH, V.G., LEWIS, G.S., INSKEEP, E.K., Endocrine profiles associated with lifespan of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.62, p.1353-1362, 1986.

GARRET, J.E., GEISERT, R.D., ZAVY, M.T., GRIES, L.K., WETTEMANN, R.P., BUCHANAN, D.S. Effect of exogenous progesterone on prostaglandin F₂ alpha release and the interestrus interval in the bovine. **Prostaglandins**, v.36, p.95-96, 1988.

GARVERICK, H.A., PARFET, J.R., LEE, C.N., COPELIN, J.P., YOUNGQUIST, R.S., SMITH, M.F. Relationship of pre- and post-ovulatory gonadotropin secretion to subnormal luteal function in postpartum beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.104-111, 1988.

GOFF, A.K. Steroid hormone modulation of prostaglandin secretion in the ruminant endometrium during the estrous cycle. **Biol. Reprod.**, v.71, p.11-16, 2004.

HANSEL, W., BLAIR, R.M. Bovine corpus luteum: a historic overview and implications for future research. **Theriogenology**, v.45, p.1267-1294, 1996.

HANSEL, W., ALILA, H. W., DOWD, J. P., YANG, X. Control of steroidogenesis in small and large luteal cells. **Aust. J. Biol. Sci.**, v.40, p.331-347, 1987.

HENRICKS, D.M., LONG, J.T., HILL, J.R. The various effects of prostaglandin F_{2α} during various stages of estrous cycle of beef heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v.41, p.113-120, 1974.

HIXON, J., HANSEL, W. Preferential transfer of prostaglandin F_{2α} to the ipsilateral ovarian artery following intrauterine administration in cattle. **Biol. Reprod.**, v.11, p.543-552, 1974.

HIXON, J.E., FLINT, A.P.F. Effects of a luteolytic dose of oestradiol benzoate on uterine oxytocin receptor concentrations, phosphoinositide turnover and prostaglandin F-2 α secretion in sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v.79, p.457-467, 1987.

JENNER, L.J., PARKINSON, T.J., LAMMING, G.E. Uterine oxytocin receptors in cyclic and pregnant cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.91, p.49-58, 1991.

KESLER, D. J., WESTON, P. G., PIMENTEL, C. A., TROXEL, T. R., VICENT, D. L., HIXON, J. E. Diminution of the in vitro response to luteinizing hormone by corpora lutea induced by gonadotropin releasing hormone treatment of post-partum suckled beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.53, p.749, 1981.

KINDAHL, H., EDQVIST, L.E., GRANSTROM, E., BANE, A. The release of prostaglandin F_{2 α} as reflected by 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin F_{2 α} in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers. **Prostaglandins**, v.11, n.5, p.871-879, 1976.

KOTWICA, J., SKARZYNSKI, I.D., MISZKIEL, G., MELIN, P., OKUDA, K. Oxytocin modulates the pulsatile secretion of prostaglandin F_{2 α} in initiated luteolysis in cattle. **Res. Veter. Scien.**, v.66, p.1-5, 1998.

LAFRANCE, M., GOFF, A.K. Effects of progesterone and oestradiol-17 β on oxytocin-induced release of prostaglandin F_{2 α} . **J. Reprod. Fertil.**, v.82, p.429-436, 1988.

LAMMING, G.E., MANN, G.E. A dual role for progesterone in the control of cyclicity in domestic ruminants. **J. Reprod. Fertil.**, Suppl.49, p.561-566, 1995a.

LAMMING, G.E., MANN, G.E. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F_{2 α} responses to oxytocin in ovariectomized cows by progesterone and oestradiol. **J. Reprod. Fertil.**, v.103, p.69-73, 1995b.

LEI, Z.N., CHEGINI, N., RAO, C.V., Quantitative cell composition of human and bovine corpora lutea from various reproductive states. **Biol. Reprod.**, v.44, p.1148-1156, 1991.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. Use of repeated biopsies to monitor endometrial oxytocin receptors in the cow. **Vet. Rec.**, v.135, p.403-405, 1994.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Anim. Reprod. Sci.**, v.64, p.171-180, 2000.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v.121, p.175-180, 2001.

MANNS, J. G., HUMPHREY, W. D., FLOOD, P. F., MAPLETOFT, R. J., RAWLINGS, N., CHENG, K. W. Endocrine profiles and functional characteristics of corpora lutea following onset of postpartum ovarian activity in beef cows. **Can. J. Anim. Sci.**, v.63, p.331, 1983.

MCCRACKEN, J.A., CUSTER, E.E., LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiol. Rev.**, v.79, p.263-323, 1999.

MCNEILLY, A. S., HUNTER, M., LAND, R. B., FRASER, H. M. Inadequate corpus luteum function after the induction of ovulation in anestrus ewes by LH-RH or an LH-RH agonist. **J. Reprod. Fertil.**, v.63, p.137, 1981.

MEIDAN, R., GIRSH, E., BLUM, O., ABERDAM, E., In vitro differentiation of bovine theca and granulosa cells into small and large luteal-like cells: morphological and functional characteristics. **Biol. Reprod.**, v.43, p.913-921, 1990.

MENEGHETTI, M., VILELA, E.R., VASCONCELOS, J.L.M., et al. Efeito da remoção de bezeros no folículo dominante e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas nelore em anestro. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.25, p.286-288, 2001.

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

MOFFATT, R.J., ZOLLERS, W.G., WELSHONS, W.V., KIEBORZ, M.A. Basis of norgestomet action as a progestogen in cattle. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v.10, p.21-30, 1993.

MOORE, N.W. The use of embryo transfer and steroid hormone replacement therapy in the study of prenatal mortality. **Theriogenology**, v.23, p.121-129, 1985.

MURPHY, B.D. Models of luteinization. **Biol. Reprod.**, v.63, p.2-11, 2000.

NOGUEIRA, M.F.G., MELO, D.S., CARVALHO, L.M., FUCK, E.J., TRINCA, L.A., BARROS, C.M. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF_{2α} and eCG? **Theriogenology**, v.61, p.1283-1290, 2004.

O`SHEA, J.D., RODGERS, R.J., WRIGHT, P.J. Morphometric analysis and function in vivo and in vitro of corpora lutea from ewes treated with LHRH during seasonal anoestrus. **J. Reprod. Fertil.**, v.72, p.75-85, 1984.

OYEDIPE, E.O., GUSTAFSSON, B., KINDAHL, H. Blood levels of progesterone and 15-keto-13, 14-dihydro prostaglandin F_{2α} during the estrous cycle of oxytocin-treated cows. **Theriogenology**, v.22, n.4, p.329-339, 1984.

PARKINSON, T.J., JENNER, L.J., LAMMING, G.M. Comparison of oxytocin/prostaglandin $F_{2\alpha}$ interrelationships in cyclic and pregnant cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.90, p.337-345, 1990.

PETERS, M.W., PURSLEY, J.R. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function and fertility in dairy cows. **Theriogenology**, v.60, p.1197-1204, 2003.

PIPER, P.J., VANE, J.R., WYLLE, J.H. Inactivation of prostaglandins by the lungs. **Nature**, v.225, p.600-604, 1970.

PULGISI, T. A., RAMPACEK, G. B., KRAELING, R. P., KISER, T. E. Corpus luteum susceptibility to prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) luteolysis in hysterectomised prepubertal and mature gilts. **Prostaglandins**, v.18, p.257, 1979.

RAMIREZ-GODINEZ, J.A. et al. Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet. **Theriogenology**, v.15, p.613-623, 1981.

ROBERTS, J.S., McCRACKEN, J.A., GAVAGAN, J.E., SOLOFF, M.S. Oxytocin-stimulated release of prostaglandin $F_{2\alpha}$ from ovine endometrium *in vitro*: correlation with estrous cycle and oxytocin-receptor binding. **Endocrinology**, v.99, n.4, p.1107-1114, 1976.

RUTTER, L.M., CARRUTHERS, T.D., MANNS, J.G. The postpartum induced corpus luteum: functional differences from that of cycling cows and the effects of progesterone pretreatment. **Biol. Reprod.**, v.33, p.560, 1985.

SANTOS, R.M. **Efeito da quantidade de concentrado da dieta de vacas Holandesas não-lactantes na progesterona plasmática e na produção de prostaglandina pelo endométrio**. Jaboticabal, SP, 2005, 87p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

SHEFFEL, C.E., PRATT, B.R., FERREL, W.L., INSKEEP, E.K. Induced corpora lutea in postpartum cows. II. Effects of treatments with progestogen and gonadotropins. **J. Anim. Sci.**, v.54, p.830-836, 1982.

SHEMESH, M., HANSEL, W. Stimulation of prostaglandin synthesis in bovine ovarian tissues by arachidonic acid and luteinizing hormone. **Biol. Reprod.**, v.13, p.448-452, 1975.

SILVIA, W.J., LEWIS, G.S., McCracken, J.A., THATCHER, W.W., WILSON JR., L. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin $F_{2\alpha}$ during luteolysis in ruminants. **Biol. Reprod.**, v.45, p.655-663, 1991.

STAGG, K.K., SPICER, L.J., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F., DISKIN, M.G. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. **Biol. Reprod.**, v.59, p.777-783, 1998.

STRONGE, A.J.H., SCREENAN, J.M., DISKIN, M.G., MEE, J.F., KENNY, D.A., MORRIS, D.G. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, v.64, p.1212-1224, 2005.

TAPONEN, J., HJERPPE, P., KOPRA, E., RODRÍGUEZ-MATÍNEZ, H., KATILA, T., KINDHAL, H. Premature prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. **Theriogenology**, v.60, p.379-393, 2003.

TROXEL, T.R., KESLER, D.J. The effect of progestin and GnRH treatments on ovarian function and reproductive hormone secretions of anestrous postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v.21, p.699, 1984a.

TROXEL, T.R., KESLER, D.J. Ability of indomethacin to alter prostaglandin metabolite concentrations and to enhance the function of corpora lutea induced in postpartum suckled beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.59, p.177, 1984b.

VASCONCELOS, J.L.M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H.N., GUENTHER, J.N., WILTBANK, M. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, p.307–314, 2001.

VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., SANTOS, R.M., SILVA, A.T.N., MACIEL, A.B.B. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrus Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. **J. Anim. Sci.**, v. 82 (Suppl. 1), p.67 (Abstract), 2004.

VIGHIO, G.H., LIPTRAP, R.M. Plasma concentrations of oxytocin, prostaglandin and ovarian steroids during spontaneous luteolysis in cow. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v.3, p.479/491, 1986.

VILLA-GODOY A., IRELAND, J.J., WORTMAN, J.A., AMES, N.K., HUGHES, T.L., FOGWELL, R.L. Effect of ovarian follicles on luteal regression in heifers. **J. Anim. Sci.**, v.60, p.517-527, 1985.

WILMUT, I., SALES, D.I., ASHWORTH, C.J. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. **J. Reprod. Fertil.**, v.76, p.851-864, 1986.

WOODY, C.O., FIRST, N.L., POPE, A.L. Effect of exogenous progesterone on estrous cycle length. **J. Anim. Sci.**, v.26, p.139-141, 1967.

XIAO, C., GOFF, A.K. Hormonal regulation of estrogen and progesterone receptors in cultured bovine endometrial cells. **J. Reprod. Fertil.**, v.115, p.101-109, 1999.

YAVAS, Y., WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.25-55, 2000.

ZHENG, J., FRICKE, P. M., REYNOLDS, L. P., REDMER, D. A. Evaluation of growth, cell proliferation and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle. **Biol. Reprod.**, v.51, p.623-632, 1994.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F., MOFFAT, R.J., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **J. Reprod. Fertil.**, v.97, p.329-337, 1993.

CAPÍTULO 2

**EFEITO DE TRATAMENTOS COM PROGESTERONA E/OU 17 β -
ESTRADIOL NA DURAÇÃO DO CORPO LÚTEO SUBSEQÜENTE À
PRIMEIRA OVULAÇÃO EM VACAS NELORE PÓS-PARTO.**

EFEITO DE TRATAMENTOS COM PROGESTERONA E/OU 17 β -ESTRADIOL NA DURAÇÃO DO CORPO LÚTEO SUBSEQÜENTE À PRIMEIRA OVULAÇÃO EM VACAS NELORE PÓS-PARTO.

RESUMO – O primeiro ciclo estral pós-parto dura, geralmente, menos que oito dias devido à regressão prematura do corpo lúteo e resulta em baixas taxas de concepção. O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito de tratamentos com progesterona e 17 β -estradiol antes da indução da ovulação na incidência de luteólise prematura em vacas Nelore em anestro. Cento e quatorze vacas Nelore em anestro (avaliadas por dois exames ultrassonográficos oito dias aparte; 25 a 65 dias pós-parto) foram aleatoriamente designadas a receber um dos quatro tratamentos (delineamento fatorial 2x2): Grupo Controle - Remoção de bezerros (RB) por 54 horas e injeção i.m. de 1 mL de óleo de caroço de algodão (placebo) 48 horas após o início da RB; Grupo E2 - RB por 54 horas e injeção i.m. de 1 mg de 17 β -estradiol 48 horas após o início da RB; Grupo P4 - Dispositivo intravaginal de progesterona por seis dias seguido por RB (54 horas) e injeção de placebo 48 horas após o início da RB; Grupo P4+E2 - Dispositivo intravaginal de progesterona por seis dias seguido por RB (54 horas) e injeção i.m. de 1 mg de 17 β -estradiol 48 horas após o início da RB. Ao final da RB, todas as vacas receberam uma injeção i.m. de 100 μ g de GnRH, sendo esse momento considerado o dia 0 do ciclo estral sincronizado. A ovulação foi avaliada por exames ultrassonográficos nos dias 0 e 2 e somente as vacas que ovularam foram utilizadas no estudo (Controle: n=23; E2: n=25; P4: n=19; P4+E2: n=18). As concentrações séricas de progesterona foram avaliadas por radioimunoensaio em amostras de sangue colhidas nos dias 0, 5, 7, 9, 12, 15 e 19 para avaliação da função luteal. As variáveis binomiais foram

analisadas por regressão logística (PROC LOGISTIC) e as variáveis contínuas pelo PROC MIXED do SAS. Para todos os tratamentos, as concentrações séricas de progesterona foram maiores no dia 5 em relação ao dia 0 ($P<0,01$), porém não houve efeito dos tratamentos sobre as concentrações séricas de progesterona nos dias 0 e 5 ($P>0,1$). As concentrações séricas médias de progesterona elevaram-se ($P<0,05$) entre os dias 5 e 7 nos grupos P4 (de $2,3\pm0,5$ para $3,7\pm0,5$ ng/mL) e P4+E2 (de $2,4\pm0,5$ para $3,3\pm0,5$ ng/mL) e reduziram-se ($P<0,01$) nos grupos Controle (de $2,9\pm0,4$ para $1,9\pm0,4$ ng/mL) e E2 (de $1,9\pm0,4$ para $0,8\pm0,4$ ng/mL). As vacas pré-tratadas com progesterona apresentaram maiores concentrações séricas de progesterona nos dias 7, 9, 12 e 15 em relação às não pré-tratadas ($3,5\pm0,4$ ng/mL vs. $1,4\pm0,3$ ng/mL; $3,8\pm0,4$ ng/mL vs. $1,2\pm0,3$ ng/mL; $5,1\pm0,4$ ng/mL vs. $1,2\pm0,3$ ng/mL; $4,6\pm0,4$ ng/mL vs. $1,1\pm0,3$ ng/mL, respectivamente; $P<0,01$). O pré-tratamento com progesterona foi efetivo em prevenir ciclo curto (86,5% vs. 20,8%; $P<0,01$), entretanto não se verificou efeito de tratamento com 17β -estradiol na porcentagem de regressão prematura do corpo lúteo. Conclui-se que o pré-tratamento com progesterona por seis dias antes da indução da ovulação em vacas em anestro reduziu a incidência de regressão prematura do subsequente corpo lúteo, enquanto a administração de 1 mg de 17β -estradiol não preveniu efetivamente a ocorrência de luteólise prematura.

Palavras-chave: Anestro, ciclo curto, estradiol, progesterona

EFFECT OF TREATMENT WITH PROGESTERONE AND/OR 17 β -ESTRADIOL PRIOR TO INDUCTION OF OVULATION ON LENGTH OF SUBSEQUENT CORPUS LUTEUM IN ANESTROUS NELORE COWS.

ABSTRACT – The length of first post-partum estrous cycle is often lesser than eight days due to premature luteolysis and results in low conception rates. The aim of this trial was to evaluate the effect of treatment with progesterone and/or exogenous 17 β -estradiol prior to induction of ovulation on incidence of short cycles in anestrous Nelore cows. Anestrous Nelore cows (evaluated by two ultrasound exams eight days apart; n=114; 25-65 days post-partum) were randomly assigned to receive either one of the following treatments (2x2 factorial design): Control Group – Calf removal (CR) for 54 hours and 1 mL i.m. cottonseed oil injection (placebo) 48 hours after beginning of CR; E2 Group - CR for 54 hours and 1 mg i.m. 17 β -estradiol injection 48 hours after beginning of CR; P4 Group – Intravaginal progesterone device for six days followed by CR (54 hours) and placebo injection 48 hours after beginning of CR; P4+E2 Group - Intravaginal progesterone device for 6 days followed by CR (54 hours) and 1 mg i.m. 17 β -estradiol injection 48 hours after beginning of CR. At end of CR (day 0), all cows received an 100 μ g i.m. GnRH injection. Ovulation was evaluated by ultrasound exams on days 0 and 2 and only cows ovulating were used on this study (Control: n=23; E2: n=25; P4: n=19; P4+E2: n=18). Blood samples were collected on days 0, 5, 7, 9, 12, 15 e 19 for evaluation of corpus luteum lifespan, through progesterone analysis by radioimmunoassay. Binomial data were analyzed by logistic regression (PROC LOGISTIC) and continuous data by PROC MIXED of SAS. For all treatments, serum progesterone concentrations were higher on day 5 than on day 0 ($P<0.01$), but there was no

effect of treatments on serum progesterone concentrations on days 0 and 5 ($P>0.1$). Mean serum progesterone concentrations increased ($P<0.05$) between days 5 and 7 in P4 (from 2.3 ± 0.5 to 3.7 ± 0.5 ng/mL) and P4+E2 (from 2.4 ± 0.5 to 3.3 ± 0.5 ng/mL) Groups and decreased ($P<0.01$) in Control (from 2.9 ± 0.4 to 1.9 ± 0.4 ng/mL) and E2 (from 1.9 ± 0.4 to 0.8 ± 0.4 ng/mL) Groups. Cows pre-treated with progesterone had higher mean serum progesterone concentrations on days 7, 9, 12 and 15 than cows not pre-treated (3.5 ± 0.4 ng/mL vs. 1.4 ± 0.3 ng/mL; 3.8 ± 0.4 ng/mL vs. 1.2 ± 0.3 ng/mL; 5.1 ± 0.4 ng/mL vs. 1.2 ± 0.3 ng/mL; 4.6 ± 0.4 ng/mL vs. 1.1 ± 0.3 ng/mL, respectively; $P<0.01$). Pre-treatment with progesterone was effective to prevent short cycles (86.5% vs. 20.8%; $P<0.01$), but there was no effect of treatment with 17β -estradiol on percentage of premature luteal regression. In conclusion, pre-treatment with progesterone for six days prior to induction of ovulation in anestrus cows reduced incidence of subsequent corpus luteum regression, while 1 mg of 17β -estradiol injection did not prevent effectively occurrence of premature luteolysis.

Key words: Anestrus, short cycle, estradiol, progesterone

1. Introdução

A taxa de concepção do primeiro cio pós-parto é baixa (VASCONCELOS et al., 2004) porque o corpo lúteo (CL) regride prematuramente (GARVERICK et al., 1992). A histerectomia (COPELIN et al., 1987), a infusão intrauterina de um inibidor da síntese de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$; TROXEL & KESLER, 1984) e a imunização ativa contra a $PGF_{2\alpha}$ (COPELIN et al., 1989) preveniram a ocorrência de ciclos curtos, indicando que a secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$ pelo endométrio é responsável pela luteólise no início do ciclo estral.

A expressão de receptores endometriais de ocitocina (OTR) desempenha um papel importante no início da luteólise em ruminantes (MCCRACKEN et al., 1999) e é regulada pelo estradiol (E_2) e pela progesterona (P_4 ; SILVIA et al., 1991; ROBINSON et al., 2001). Nos últimos dias do ciclo estral, a ligação da ocitocina (OT) aos seus receptores inicia a secreção pulsátil de $PGF_{2\alpha}$ que resulta na luteólise (FLINT & SHELDRIK, 1983).

Zollers et al. (1989), estudando vacas em anestro induzidas a ovular, verificaram, nas vacas que apresentaram ciclo curto, maior produção de $PGF_{2\alpha}$ em resposta à OT no dia 5 pós-ovulação em relação às vacas que apresentaram ciclo estral de duração normal. Sugeriu-se, portanto, que vacas cujo CL regride prematuramente apresentam maior concentração de OTR endometriais em relação a vacas que não apresentam luteólise prematura. Entretanto, quando vacas em anestro foram tratadas com o progestágeno norgestomet antes da indução da ovulação, observou-se redução na concentração endometrial de OTR no endométrio no dia 5 pós-ovulação (ZOLLERS et al., 1993), evidenciando que a exposição à P_4 antes da ovulação pode influenciar o momento da luteólise no ciclo estral subsequente.

O pico pré-ovulatório de E_2 parece ter um efeito inibidor sobre os OTR durante os primeiros dias do ciclo estral (MANN & LAMMING, 2000). Relatos de que vacas que apresentaram ciclo curto tiveram menores concentrações pré-ovulatórias de E_2 em relação a vacas que apresentaram ciclo estral de duração normal (SHEFFEL et al., 1982; GARCIA-WINDER et al., 1986; GARVERICK et al., 1988; BRADEN et al., 1989) e que vacas cíclicas induzidas a ovular folículos de pequeno diâmetro (menor capacidade de síntese de E_2) apresentaram secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$ (TAPONEN et al., 2003) e luteólise prematura (VASCONCELOS et al., 2001; PETERS & PURSLEY, 2003) são sugestivos de que altas concentrações pré-ovulatórias de estradiol são necessárias para garantir duração normal do subsequente CL.

A hipótese desse trabalho é que o tratamento com P_4 por seis dias e/ou injeção de 1 mg de 17β -estradiol antes da indução da ovulação previnem a regressão prematura do CL em vacas Nelore em anestro pós-parto.

2. Materiais e métodos

2.1. Animais e Tratamentos

Foram utilizadas 114 vacas Nelore paridas (55 primíparas e 59 multíparas; 25 a 65 dias pós-parto) em anestro, mantidas a pasto (*Brachiaria humidicola*) e pertencentes à Pecuária Novo Horizonte, localizada no município de Coxim-MS. A condição de anestro foi determinada por exames ultrassonográficos e das concentrações séricas de P_4 conforme explicado a seguir. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, em um delineamento fatorial 2x2 (Figura 1):

Grupo Controle (n=34): Dia -2: remoção de bezerros (RB) por 54 horas; Dia 0 (48 horas após início da RB): aplicação de óleo de caroço de algodão (placebo) via intramuscular (1 mL); Dia 0 (54 horas após início da RB): aplicação de 100 µg de GnRH (Gonadorelina, Fertagyl[®], Intervet, Brasil) via intramuscular (1 mL).

Grupo E2 (n=34): Dia -2: RB por cinquenta e quatro horas; Dia 0 (48 horas após a RB): aplicação do 1 mg de 17β-estradiol (preparado em solução oleosa pelo Centro Paulista de Desenvolvimento Farmacotécnico) via intramuscular (1 mL); Dia 0 (54 horas após início da RB): aplicação de 100 µg de GnRH via intramuscular.

Grupo P4 (n=23): Dia -8: inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil); Dia -2: retirada de dispositivo intravaginal de progesterona + RB por 54 horas; Dia 0 (48 horas após a RB): aplicação de 1 mL de placebo via intramuscular; Dia 0 (54 horas após início da RB): aplicação de 100 µg de GnRH via intramuscular.

Grupo P4+E2 (n=23): Dia -8: inserção de dispositivo intravaginal de progesterona; Dia -2: retirada de dispositivo intravaginal de progesterona + RB por 54 horas; Dia 0 (48 horas após a RB): aplicação de 1 mg de 17β-estradiol via intramuscular; Dia 0 (54 horas após início da RB): aplicação de 100 µg de GnRH via intramuscular.

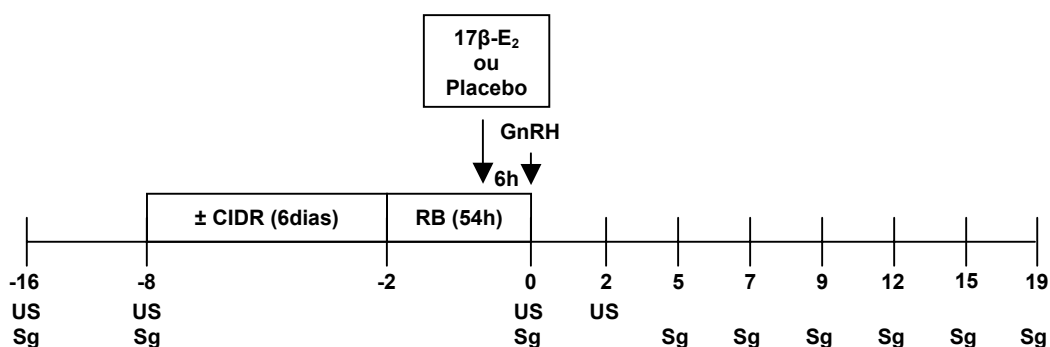


FIGURA 1. Diagrama esquemático do delineamento experimental. US, ultrassonografia ovariana; Sg, colheita de sangue; RB (54h), remoção de bezerros por cinquenta e quatro horas; 17β -E₂, injeção de 17β -estradiol (1 mg); Placebo, injeção de óleo de caroço de algodão (1 mL); GnRH, injeção de gonadorelina (100 μ g). Cento e quatorze vacas em anestro (avaliadas por ultrassonografia ovariana nos dias -16 e -8) foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos (P₄ e/ou E₂; fatorial 2x2). A ovulação em resposta à injeção de GnRH foi avaliada por dois exames ultrassonográficos (d0 e d2). Apenas vacas que ovularam foram utilizadas para colheita de sangue nos dias 5, 7, 9, 12, 15 e 19. Coxim-MS, 2005.

2.2. Remoção temporária de bezerros e observação de cio

Durante os dias -2 e 0 (54 horas) os bezerros foram separados das vacas em currais de forma a não haver contato físico entre ambos. Nesse período foi fornecido água à vontade para os bezerros. O objetivo da remoção temporária de bezerros foi aumentar a taxa de ovulação à aplicação de GnRH. Enquanto os bezerros permaneceram separados, observou-se o comportamento de estro das vacas duas vezes ao dia por 30 minutos cada período (das 7:00h às 7:30h e das 17:30h às 18:00h).

2.3. Ultrassonografia das estruturas ovarianas

Os exames ultrassonográficos foram realizados com aparelho Aloka, modelo SSD-500 com transdutor linear retal de 7,5 MHz, para determinar a ciclicidade antes do início dos tratamentos e a ovulação em resposta à aplicação de GnRH.

A avaliação da ciclicidade foi realizada nos dias -16 e -8, sendo considerados em anestro os animais que não apresentaram tecido luteal em ambos os exames. Além disso, amostras de sangue colhidas nesses dias para dosagem das concentrações séricas de P_4 confirmaram a condição de anestro, como descrito no item a seguir. A ovulação foi determinada pela comparação das imagens ultrassonográficas no dia 0 e no dia 2. Considerou-se ovulação quando houve presença de folículo >7 mm em um dos ovários no dia 0 e ausência do mesmo no dia 2.

2.4. Colheita e análise de sangue

As amostras de sangue foram colhidas da veia coccígea em tubos tipo vacutainer sem anticoagulante e armazenadas por 24 horas em refrigerador a 4°C , quando então foram centrifugados a $1500 \times g$ por 15 minutos a 25°C . O soro foi separado e armazenado a -20°C até a realização das dosagens.

2.4.1. Dosagem de Estradiol

As amostras de sangue para dosagem de estradiol foram colhidas 48 e 54 horas após o início da remoção de bezerros, ou seja, no momento e seis horas após a aplicação de placebo (Grupos Controle e P_4) ou 17β -estradiol (Grupos E2 e P_4+E_2). Devido às características farmacocinéticas do 17β -estradiol

(rápida absorção e eliminação), foi anotado, para cada vaca, o horário da primeira e da segunda colheitas, a fim de se determinar o intervalo entre elas.

As dosagens de E_2 foram realizadas por radioimunoensaio, utilizando-se kits comerciais de 3ª Geração da DSL-39100® (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Webster, Texas, EUA). A curva padrão foi constituída a partir das amostras do kit (200 μ L/padrão) acrescidas de 300 μ L de soro de vaca ovariectomizada previamente tratado para remoção de hormônios esteróides com carvão ativado. Todas as amostras foram dosadas em duplicata.

Após a pipetagem, a curva padrão e as amostras foram submetidas a procedimento de extração. A cada tubo de ensaio (vidro borosilicato 16 x 100 mm) foram adicionados 3 mL de éter etílico, os quais foram homogeneizados por 1 minuto em vortex e imediatamente locados em recipiente contendo metanol e gelo seco. Após um minuto, o sobrenadante foi transferido para outro tubo de ensaio (vidro borosilicato 12 x 75 mm) e permaneceu em capela para evaporação por 24 horas, quando os extratos foram ressuspensos em 500 μ L de PBSg e o ensaio prosseguiu de acordo com as recomendações do fabricante.

A sensibilidade do ensaio foi de 0,5 pg/mL. O coeficiente de variação intra-ensaio foi 14,5%.

2.4.2. Dosagem de Progesterona

As amostras de sangue para dosagem de P_4 para confirmar a condição de anestro foram colhidas nos dias -16 e -8. As vacas previamente avaliadas por ultrassonografia que apresentaram concentrações séricas de P_4 inferiores a 0,5 ng/mL em ambos os dias foram consideradas em anestro.

Nos animais que ovularam, as amostras de sangue para dosagem de progesterona foram colhidas nos dias 0, 5, 7, 9, 12, 15 e 19. As dosagens de P_4 foram realizadas por radioimunoensaio, em três ensaios, utilizando-se kits comerciais da DPC (Coat-a-count®, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) e procedimentos de acordo com as recomendações do fabricante. A sensibilidade dos ensaios foi 0,01 ng/mL. O coeficiente de variação inter-ensaios foi 5,35% e os coeficientes de variação intra-ensaio foram 5,53%, 4,56% e 4,38% para os ensaios 1, 2 e 3, respectivamente.

Foi considerada a ocorrência de luteólise nos animais que, após o dia 5, apresentaram concentração sérica de P_4 decrescente e menor que 0,5 ng/mL. Considerou-se luteólise prematura quando a mesma ocorreu antes do dia 15.

2.5. Análise estatística

As variáveis dependentes contínuas foram analisadas por meio do procedimento MIXED do programa SAS. Para cada variável, os dados foram testados quanto à normalidade e a homogeneidade das variâncias. Quando os dados não obedeceram às premissas para a análise, foram submetidos à transformação logarítmica e re-analisados. As médias ajustadas foram re-expressas na escala original.

Para a análise da variável dependente diâmetro do folículo ovulatório foi incluído no modelo o efeito de pré-tratamento com P_4 . Escore de condição corporal e ordem de parição foram incluídos como covariáveis.

A variável dependente concentração sérica de E_2 pré-ovulatório foi analisada após transformação logarítmica. Foram incluídos no modelo os efeitos fixos de momento (48 ou 56 horas após início da RB), pré-tratamento

com P_4 , administração de 17β -estradiol e interações, e o efeito aleatório de vaca dentro de cada combinação de pré-tratamento com P_4 e tratamento com E_2 . Diâmetro do folículo ovulatório, escore de condição corporal e ordem de parição foram incluídos como covariáveis. Admitiu-se para as medidas repetidas um efeito auto-regressivo de primeira ordem.

A variável dependente concentração sérica de P_4 foi analisada após transformação logarítmica. Foram incluídos no modelo os efeitos fixos de dia, pré-tratamento com P_4 , administração de 17β -estradiol e interações, e o efeito aleatório de vaca dentro de cada combinação de pré-tratamento com P_4 e tratamento com E_2 . Diâmetro do folículo ovulatório, escore de condição corporal e ordem de parição foram incluídos como covariáveis. Admitiu-se para as medidas repetidas um efeito auto-regressivo de primeira ordem. Quando detectada interação, as médias dos tratamentos para cada dia foram comparadas através da opção SLICE.

As variáveis dependentes binomiais foram analisadas por meio do procedimento LOGISTIC do programa SAS. Duas formas de análise foram realizadas. A primeira considerou cada grupo experimental como um tratamento e o modelo incluiu o efeito de grupo. Escore de condição corporal e ordem de parição foram incluídos como covariáveis. Os efeitos de tratamento foram decompostos para comparação das médias entre os grupos Controle e E_2 , Controle e P_4 e Controle e P_4+E_2 . Essa forma de análise é desaconselhada por estatísticos em delineamentos fatoriais, entretanto se mostra interessante do ponto de vista prático, pois permite comparações entre os grupos tratados e o grupo controle. A segunda análise considerou a estrutura fatorial do delineamento experimental e o modelo incluiu os efeitos

principais pré-tratamento com P_4 e administração de 17β -estradiol, além da interação entre ambos. Escore de condição corporal e ordem de parição foram incluídos como covariáveis.

3. Resultados

3.1. Concentrações séricas de estradiol

O tratamento com 1 mg i.m. de 17β -estradiol elevou as concentrações séricas de E_2 mensuradas no momento da injeção de GnRH (Figura 2; $P<0,01$). A diferença média entre as concentrações séricas de E_2 medidas nos dois momentos foi de $67,76\pm9,98$ pg/mL nas vacas tratadas com 17β -estradiol e $1,10\pm1,35$ pg/mL nas vacas tratadas com placebo ($P<0,01$). Em 67,86% das vacas tratadas com placebo houve decréscimo nas concentrações séricas de E_2 entre os dois momentos, enquanto em todas as vacas tratadas com 17β -estradiol houve acréscimo nas concentrações séricas de E_2 .

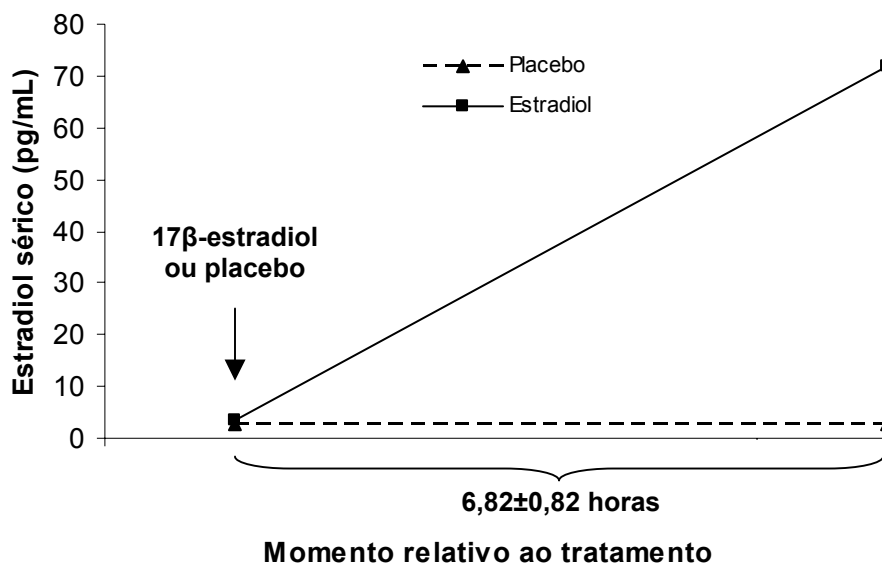


FIGURA 2. Concentrações séricas de estradiol, em dois momentos, em vacas tratadas ou não com 17 β -estradiol. O primeiro momento foi imediatamente antes dos tratamentos (E_2 : 2,88 $\pm$ 1,13 pg/mL; Placebo: 2,72 $\pm$ 1,13 pg/mL) e o segundo momento foi 6,82 $\pm$ 0,82 horas após os tratamentos (E_2 : 71,78 $\pm$ 11,14 pg/mL; Placebo: 3,37 $\pm$ 1,13 pg/mL). A concentração sérica de estradiol no segundo momento foi maior nas vacas tratadas com injeção i.m. de 1 mg de 17 β -estradiol ($P<0,01$). Coxim-MS, 2005.

O intervalo médio entre as duas colheitas de sangue para dosagem de E_2 foi de 6,82 $\pm$ 0,82 horas. As vacas cujo intervalo entre colheitas foi maior ou igual a sete horas apresentaram menores concentrações séricas de E_2 que as vacas cujo intervalo foi menor que sete horas ($P<0,05$; Figura 3).

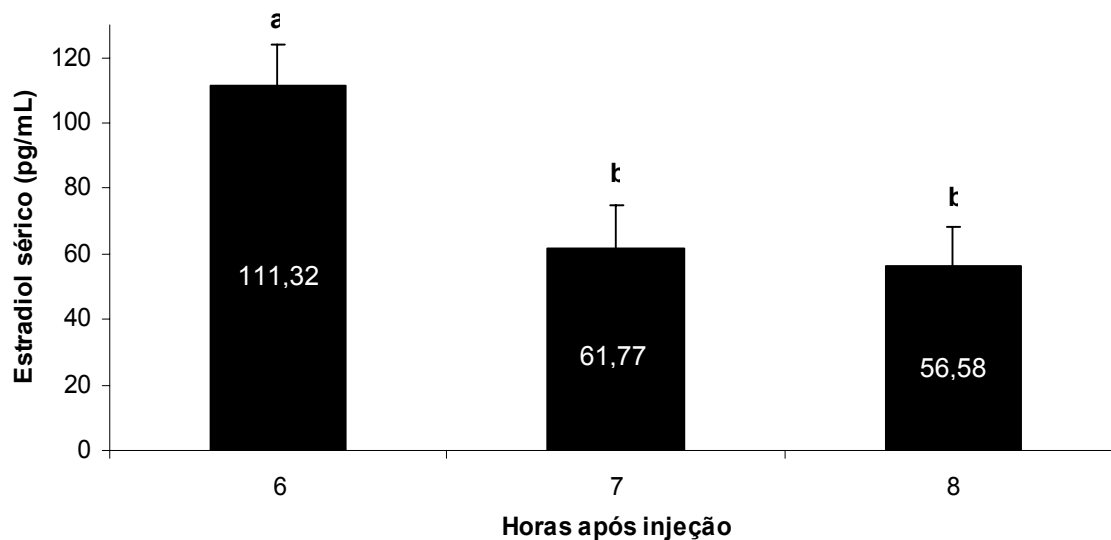


FIGURA 3. Concentrações séricas de estradiol (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) nas vacas seis, sete e oito horas após tratamento com injeção i.m. de 1 mg de 17β -estradiol. a $\neq$ b ($P < 0,05$). Coxim-MS, 2005.

Observou-se efeito quadrático positivo do diâmetro do folículo dominante na concentração de E_2 mensurada antes das injeções de 17β -estradiol ou placebo ($P < 0,01$; Figura 4).

O pré-tratamento com P_4 e a manifestação de cio não influenciaram ($P > 0,1$) a concentração sérica de E_2 mensurada antes das injeções de 17β -estradiol ou placebo ($3,24 \pm 1,09$ pg/mL sem P_4 vs. $3,92 \pm 1,11$ pg/mL com P_4 ; $2,95 \pm 1,14$ pg/mL sem cio vs. $3,72 \pm 1,07$ pg/mL com cio).

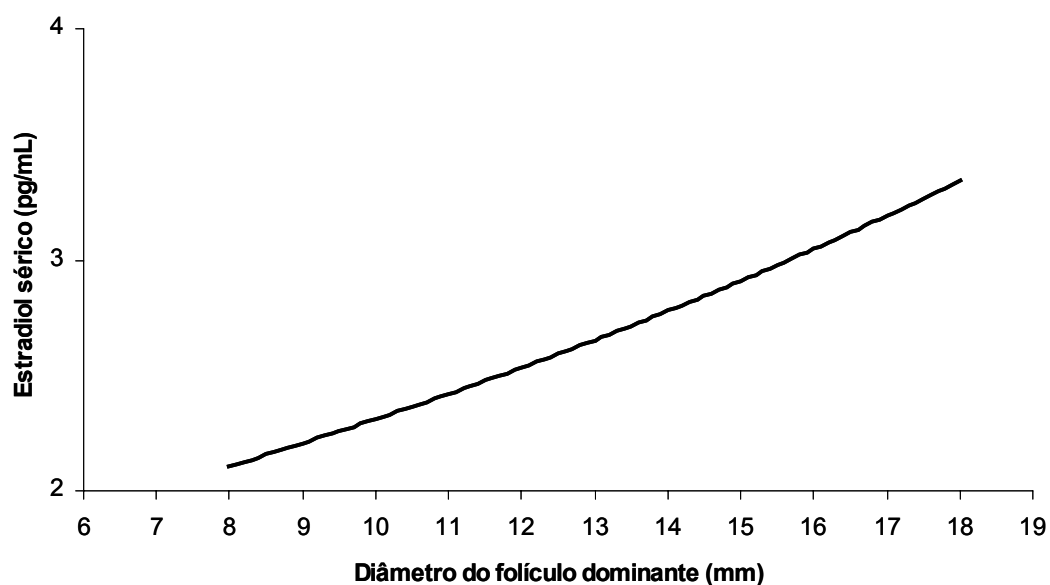


FIGURA 4. Efeito do diâmetro do folículo dominante sobre as concentrações séricas de estradiol 48 horas após início da remoção de bezerros ($P < 0,01$). Coxim-MS, 2005.

3.2. Taxa de ovulação

Das 114 vacas em anestro utilizadas inicialmente, 89 ovularam até 48 horas após a aplicação de GnRH (78,07%). Não houve efeito dos tratamentos experimentais, bem como do pré-tratamento com P_4 (efeito principal) na taxa de ovulação (Tabela 1).

TABELA 1. Efeito dos tratamentos experimentais e do pré-tratamento com progesterona por seis dias (efeito principal) na taxa de ovulação ao estímulo com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2005.

Tratamento	Taxa de ovulação	R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Controle	67,6% (23/34)	Referência	Referência	N.A.
E2	73,5% (25/34)	1,33	0,47-3,79	0,72
P4	82,6% (19/23)	2,72	0,62-8,30	0,37
P4+E2	78,3% (18/23)	1,72	0,51-5,85	0,76
Efeito principal	Taxa de ovulação	R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Sem P ₄	70,59% (48/68)	Referência	Referência	N.A.
Com P ₄	80,43% (37/46)	1,50	0,63-3,59	0,24

R.P.A. = Razão de proporções ajustada; I.C. = Intervalo de confiança; N.A. = Não aplicável.

Não se verificou efeito do tratamento com P₄ no diâmetro do folículo ovulatório (11,57±1,04 mm sem P₄ vs. 10,72±1,05 mm com P₄; P>0,1).

O diâmetro do folículo ovulatório influenciou positivamente a taxa de ovulação (P<0,01; Figura 5).

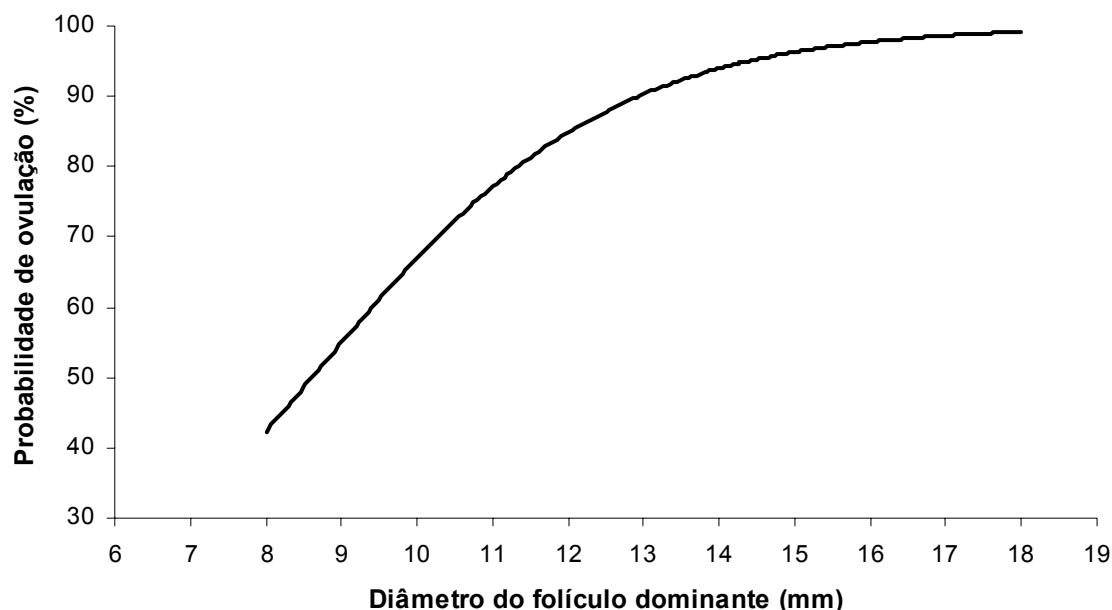


FIGURA 5. Efeito do diâmetro do folículo dominante sobre a probabilidade de ovulação ao estímulo com GnRH ($P < 0,01$). Coxim-MS, 2005.

3.3. Características da fase luteal

Três diferentes perfis de P_4 sérica foram observados após a indução da ovulação com GnRH (Figura 6). As vacas que apresentaram fase luteal de duração normal ($n=46$) apresentaram elevação gradativa ($P < 0,01$) nas concentrações séricas de P_4 ao longo dos dias 0, 5, 7, 9, 12 e 15, respectivamente, seguido por um decréscimo acentuado no dia 19 (de $4,14 \pm 0,30$ ng/mL para $0,61 \pm 0,08$ ng/mL; $P < 0,01$). Nas vacas que apresentaram luteólise precoce ($n=43$), as concentrações séricas de P_4 nos dias 0 e 5 foram similares às das vacas que apresentaram fase luteal de duração normal ($0,40 \pm 0,03$ ng/mL vs. $0,31 \pm 0,02$ ng/mL no dia 0 e $2,25 \pm 0,30$ ng/mL vs. $2,44 \pm 0,20$ ng/mL no dia 5, para vacas que apresentaram luteólise precoce e fase luteal normal, respectivamente; $P > 0,1$). Entretanto, nas vacas cujo CL regrediu prematuramente, houve decréscimo entre os dias 5 e 7 nas

concentrações séricas de P_4 (de $2,25 \pm 0,30$ ng/mL para $0,95 \pm 0,11$ ng/mL; $P < 0,01$). Essas vacas apresentaram dois diferentes perfis de P_4 sérica após a luteólise precoce: (1) em 88,37% das vacas (38/43) as concentrações séricas de P_4 se mantiveram abaixo de 1 ng/mL nos dias 7, 9, 12, 15 e 19, indicando que não houve nova ovulação, pelo menos até o dia 15; e (2) em 11,63% das vacas (5/43) houve elevação das concentrações séricas de P_4 nos dias 12, 15 e 19 a níveis acima da 1 ng/mL, indicando que houve ovulação após a regressão prematura do CL.

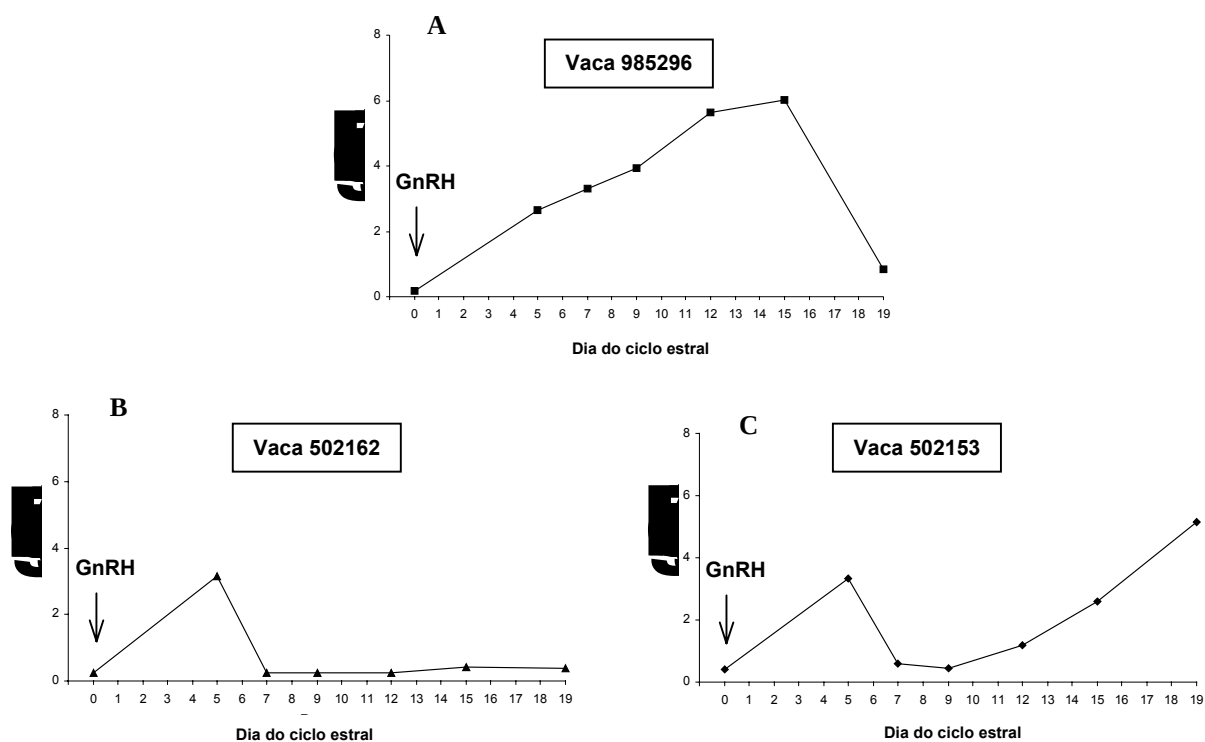


FIGURA 6. Exemplos de perfis de progesterona sérica observados após a indução da ovulação em vacas Nelore em anestro com remoção de bezerros + GnRH. A) Fase luteal de duração normal (vaca 985296); B) Luteólise prematura sem ovulação subsequente (vaca 502162); (C) Luteólise prematura sucedida por ovulação (vaca 502153). Coxim-MS, 2005.

Na Figura 7 estão ilustradas, para cada um dos tratamentos, as concentrações médias de P_4 nos dias 0, 5, 7, 9, 12, 15 e 19 das vacas que

apresentaram os três diferentes perfis de P_4 sérica. O tratamento com P_4 reduziu a porcentagem de regressão prematura do CL ($P<0,01$), enquanto a administração de 17β -estradiol não influenciou a porcentagem de vacas que apresentaram luteólise prematura (Tabela 2). Não foi detectada interação entre pré-tratamento com P_4 e administração de 17β -estradiol ($P>0,1$).

Houve interação tratamento com P_4 x dia ($P<0,01$) nas concentrações séricas médias de P_4 após a ovulação (Figura 8). As vacas tratadas com P_4 apresentaram maiores concentrações séricas de P_4 nos dias 7, 9, 12 e 15 em relação às vacas não tratadas. Não se observaram efeitos de administração de 17β -estradiol x dia e de tratamento com P_4 x administração de 17β -estradiol x dia nas concentrações séricas de P_4 após a ovulação ($P>0,1$).

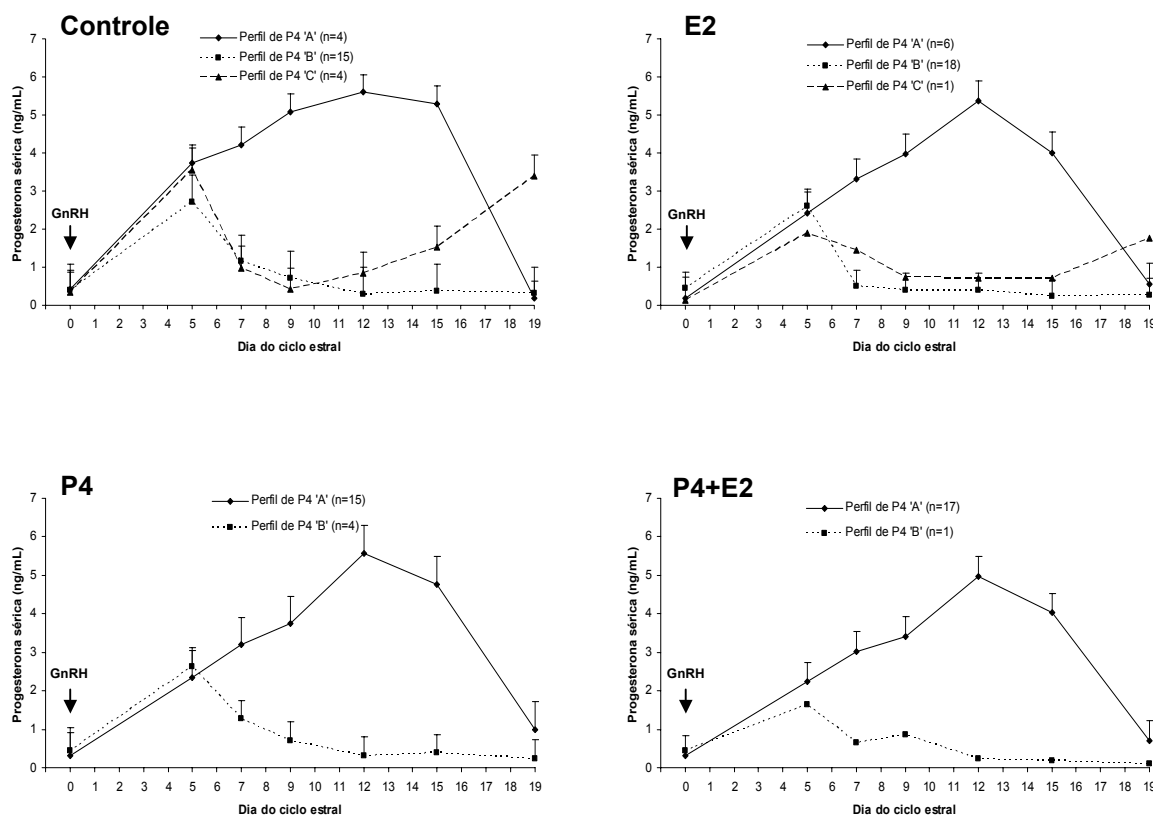


FIGURA 7: Perfis de concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro. Perfil de P_4 'A': Fase luteal de duração normal; Perfil de P_4 'B': Luteólise prematura sem ovulação subsequente; Perfil de P_4 'C': Luteólise prematura sucedida por ovulação. Coxim-MS, 2005.

TABELA 2. Efeitos dos tratamentos experimentais, do pré-tratamento com progesterona por seis dias (efeito principal) e do tratamento com 1 mg de 17 β -estradiol antes da ovulação (efeito principal) na porcentagem de luteólise prematura após indução da ovulação com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2005.

Tratamento	% L.P.	Risco de luteólise prematura		
		R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Controle	82,6% (19/23)	Referência	Referência	N.A.
E2	76,0% (19/25)	0,67	0,16-2,75	0,57
P4	21,1% (4/19)	0,06	0,01-0,26	<0,01
P4+E2	5,6% (1/18)	0,01	0,01-0,12	<0,01
Efeito principal	% L.P.	Risco de luteólise prematura		
		R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Sem E ₂	54,8% (23/42)	Referência	Referência	N.A.
Com E ₂	46,5% (20/43)	0,47	0,14-1,53	0,21
Sem P ₄	79,2% (38/48)	Referência	Referência	N.A.
Com P ₄	13,5% (5/37)	0,04	0,01-0,12	<0,01

% L.P. = Porcentagem de luteólise prematura; R.P.A. = Razão de proporções ajustada; I.C. = Intervalo de confiança; N.A. = Não aplicável.

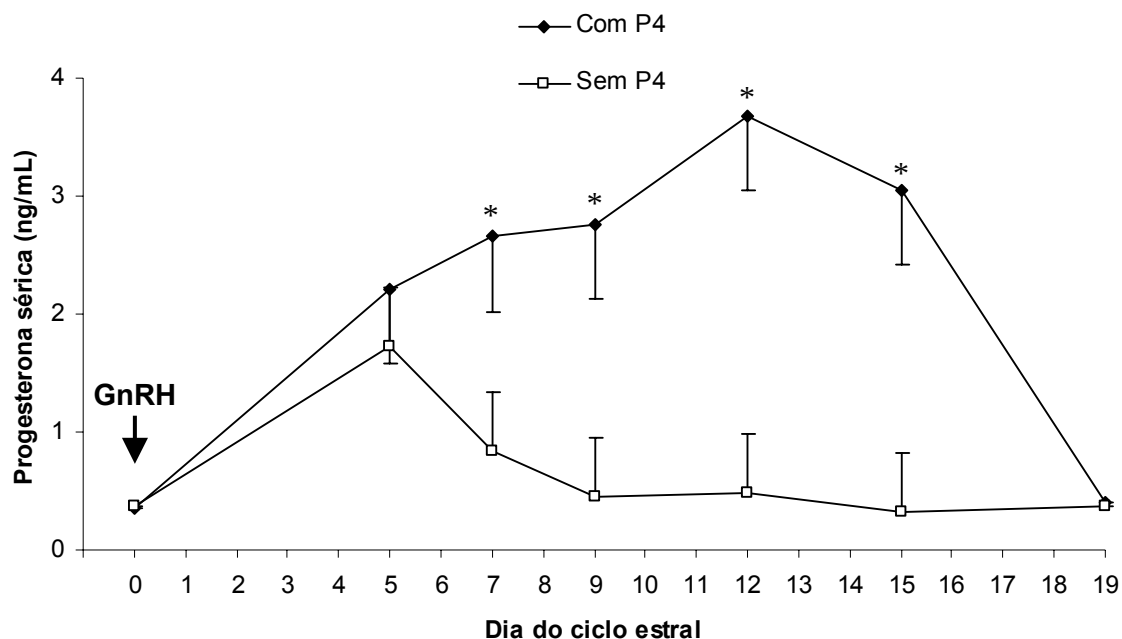


FIGURA 8. Concentrações séricas de progesterona (médias dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro tratadas (■) ou não (□) com dispositivo intravaginal de progesterona por seis dias (*) Médias diferem significativamente ($P < 0,01$). Coxim-MS, 2005.

Considerando somente as vacas que não foram tratadas com P_4 , não houve efeito da concentração pré-ovulatória de E_2 e da manifestação de cio sobre a porcentagem de ciclos curtos (75% de ciclo curto em vacas que apresentaram comportamento de estro vs. 80% em vacas que não apresentaram comportamento de estro) e sobre as concentrações séricas de P_4 após a ovulação.

4. Discussão

O tratamento com 1 mg de 17β -estradiol foi eficiente em elevar as concentrações séricas de E_2 (Figura 2). As concentrações séricas de E_2 verificadas nesse experimento após o tratamento com 1 mg de 17β -estradiol são aproximadamente quatro vezes maiores que as reportadas por Souza et al.

(2005) ao tratamento com mesma dose e tipo de estradiol. Esses autores, no entanto, trabalhou com vacas em lactação de alta produção, categoria em que há maior fluxo sanguíneo no sistema porta-hepático e conseqüente maior metabolização de esteróides, tanto E_2 como P_4 (SANGSRITAVONG et al., 2002; VASCONCELOS et al., 2003; LOPEZ et al., 2004; SANTOS, 2005). Já Martinez et al., (2006) encontraram concentrações séricas de E_2 aproximadamente sete vezes maiores às reportadas no presente experimento ao utilizarem dose de 5 mg de 17β -estradiol em vacas de corte ovariectomizadas.

As vacas cujo intervalo entre o tratamento com 17β -estradiol e a segunda colheita de sangue para dosagem de E_2 foi maior ou igual a sete horas apresentaram menores concentrações séricas de E_2 que as vacas cujo intervalo foi menor que sete horas (Figura 3). Entre a 6^a e a 8^a horas após o tratamento com 17β -estradiol as concentrações séricas de E_2 se reduziram aproximadamente 50%. Essa observação evidencia que o retorno à concentração basal de E_2 após o tratamento com 17β -estradiol é rápido. Souza et al. (2005) observou, após tratamento em vacas leiteiras de alta produção com injeção intramuscular de 1 mg de 17β -estradiol, que as concentrações circulantes de E_2 atingiram pico $5,0 \pm 0,6$ horas após o tratamento; decorridas oito horas do tratamento, já haviam se reduzido praticamente à metade da concentração máxima e com $22,7 \pm 4,8$ horas estavam novamente em níveis basais. Similarmente, Martinez et al. (2005) verificaram, em vacas de corte ovariectomizadas, redução de aproximadamente 50% nas concentrações séricas de E_2 entre a 6^a e a 12^a horas após injeção i.m. de 5 mg de 17β -estradiol.

A influência do diâmetro do folículo dominante sobre a concentração sérica de E_2 verificada no momento que antecedeu o tratamento com 17β -estradiol (quarenta e oito horas após início da RB; Figura 4) confirma a capacidade estrogênica do folículo dominante nessa fase. Souza et al. (2005) verificaram que vacas de leite de alta produção em lactação com presença de folículo dominante apresentam concentração circulante máxima de estradiol de $18,5 \pm 4,6$ pg/mL após o tratamento com 1 mg de 17β -estradiol i.m., enquanto vacas sem folículo apresentam concentração máxima de $12,8 \pm 4,0$ pg/mL. Enquanto o folículo é dominante, o seu diâmetro está positivamente correlacionado à concentração sérica de estradiol (VASCONCELOS et al., 2001), o que suporta os achados deste experimento pois, como somente foram utilizadas nas análises vacas que ovularam, retrospectivamente é sabido que todas as vacas possuíam um folículo dominante.

O pré-tratamento com P_4 não influenciou as concentrações séricas de E_2 mensuradas antes das injeções de 17β -estradiol ou placebo, bem como o diâmetro do folículo dominante mensurado no momento da aplicação de GnRH. Essa observação é contrária às observações de que o pré-tratamento com progestágenos em vacas em anestro resulta em melhor desenvolvimento folicular e conseqüente maior secreção pré-ovulatória de estradiol (GARCIA-WINDER et al., 1986; GARCIA-WINDER et al., 1987; INSKEEP et al., 1988; RHODES et al., 2002). Esses trabalhos sugerem que o folículo dominante de vacas pré-tratadas com progestágenos têm maior estímulo para desenvolvimento e maturação devido ao maior estímulo à expressão de receptores de LH e maior secreção de LH pela hipófise. A elevação na secreção de LH possivelmente é conseqüente da redução na concentração de

receptores de E_2 no hipotálamo, minimizando a retroalimentação negativa do E_2 na secreção de GnRH, como demonstraram Day & Anderson (1998). Stock & Fortune (1993) observaram que concentrações subluteais de P_4 induzem elevação na frequência de secreção pulsátil de LH, fator que propicia maior desenvolvimento folicular. No presente trabalho, entretanto, utilizaram-se dispositivos intravaginais de P_4 sem utilização prévia os quais, segundo Santos et al. (2004), nos primeiros seis dias após inserção, fornecem concentrações circulantes de P_4 acima de 2,5 ng/mL, ou seja, acima do considerado subluteal (1 a 2 ng/mL; STOCK & FORTUNE, 1993). Isso pode explicar a similaridade no diâmetro do folículo dominante e nas concentrações séricas de E_2 pré-ovulatório entre vacas pré-tratadas ou não com P_4 . Outro fator importante a ser considerado é que todos tratamentos experimentais foram associados à RB, com o intuito de melhorar o desenvolvimento folicular, proporcionando maior taxa de ovulação (MENEGETTI et al., 2001). Nos trabalhos citados acima, os efeitos do pré-tratamento com P_4 no desenvolvimento folicular foram estudados em modelos experimentais que não utilizaram a estratégia de RB. É possível, portanto, que o estímulo gerado pela RB tenha permitido que folículos de vacas pré-tratadas ou não com P_4 atingissem diâmetros e produção de E_2 semelhantes.

Independente de tratamento, o diâmetro do folículo dominante influenciou a taxa de ovulação (Figura 5), similarmente às observações de Meneghetti et al. (2001) em vacas Nelore pós-parto, em que o diâmetro do folículo dominante foi maior em vacas que ovularam ao estímulo com GnRH (10,63 mm vs. 9,56 mm para vacas que ovularam e não ovularam, respectivamente). A aquisição de capacidade ovulatória pelo folículo dominante

ocorre logo após a divergência (SARTORI et al., 2001; GIMENES et al., 2007), entretanto nesse momento é necessária uma alta dose de LH para que a ovulação seja induzida (SARTORI et al., 2001). Conforme o folículo dominante cresce, eleva-se a expressão gênica de receptores de LH nas células da granulosa (BAO et al., 1997) e a atividade do AMPc em resposta ao LH (JOLLY et al., 1994), resultando em maior capacidade ovulatória (SARTORI et al., 2001). Isso explica a maior probabilidade de ovulação observada nas vacas com maiores folículos.

Portanto, considerando a influência do diâmetro do folículo dominante na taxa de ovulação, a similaridade observada no desenvolvimento do folículo dominante é a provável explicação para a ausência de efeito do tratamento com P_4 na taxa de ovulação.

Após a ovulação, em 51,7% das vacas (46/89) houve elevação gradativa nas concentrações séricas médias de P_4 ao longo dos dias 0, 5, 7, 9, 12 e 15, respectivamente, indicando desenvolvimento normal do CL. Em seguida, houve decréscimo acentuado no dia 19, indicando que a luteólise ocorreu entre os dias 15 e 19 (Figuras 6 e 7), ou seja, no momento em que o CL regride fisiologicamente em vacas cíclicas (BINELLI et al., 2001). Considerou-se, portanto, que essas vacas apresentaram ciclo estral de duração normal.

Em 48,3% das vacas (43/89) houve elevação nas concentrações séricas médias de P_4 entre os dias 0 e 5, seguido por um decréscimo acentuado no dia 7, indicando que a luteólise ocorreu por volta do dia 6 (Figuras 6 e 7). Considerou-se, portanto, que essas vacas apresentaram regressão prematura do CL. O fato de a luteólise prematura ter ocorrido entre os dias 5 e 7 sugere que nesse momento já há secreção de $PGF_{2\alpha}$, como

verificaram Troxel & Kesler (1984), Cooper & Inskeep (1989), Copelin et al. (1989), Zollers et al. (1991) e Taponen et al. (2003), e que o CL regride assim que se torna responsivo à $\text{PGF}_{2\alpha}$, ou seja, por volta do sexto dia do ciclo estral (HENRICKS et al., 1974). Copelin et al. (1987), Garverick et al. (1992) e Perry et al. (2004) também observaram luteólise neste momento após indução da ovulação em vacas em anestro.

É interessante observar que as concentrações séricas de P_4 no dia 5 não diferiram entre vacas cujo CL regrediu prematuramente e vacas cujo CL apresentou duração normal, concordando com Copelin et al. (1987), Copelin et al. (1989) e Taponen et al. (2003). Esses dados suportam a idéia de que ciclos curtos não estão relacionados a deficiências funcionais do CL, mas sim à secreção prematura de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo endométrio (COPELIN et al., 1987). De fato, Braden et al. (1989) não observaram alterações no peso do CL, concentrações luteais de P_4 , concentrações de receptores de LH, número de células luteais, porcentagem de células luteais grandes e concentração luteal de receptores de $\text{PGF}_{2\alpha}$, no dia 5 pós-ovulação, em vacas com expectativa de apresentarem ciclo curto.

A análise dos perfis individuais de P_4 sérica revelou que 88,37% das vacas (38/43) cujo CL regrediu prematuramente não ovularam novamente até o dia 15, pois as concentrações séricas de P_4 se mantiveram abaixo de 1 ng/mL nos dias 7, 9, 12, 15 e 19. Essa condição foi mais marcante nas vacas não tratadas com P_4 (Grupos Controle e E2), pois a incidência de luteólise prematura foi maior nesses grupos (Tabela 2). Essa observação é contrária à idéia de que, após apresentar um ciclo estral de curta duração, ocorre indução de ciclicidade e a vaca ovula novamente, apresentado um ciclo estral

subseqüente de duração e, conseqüentemente, fertilidade normais. Rhodes et al. (2003) propuseram que o ciclo curto é sucedido por ciclo de duração normal em vacas pós-parto que retomam naturalmente a ciclicidade, pois durante o primeiro ciclo estral (ciclo curto) há pré-exposição à P_4 por aproximadamente cinco dias. Entretanto, os dados do presente experimento indicam que estratégias para induzir ovulação em vacas recém-paridas não necessariamente induzem ciclicidade.

Considerando cíclicas as vacas que, após a indução da ovulação, apresentaram ciclo estral de duração normal e as vacas que apresentaram luteólise prematura seguida por ovulação subseqüente, observaram-se 33,3% (8/24), 30,4% (7/23), 78,9% (15/19) e 94,4% (17/18) de indução de ciclicidade para os tratamentos Controle, E_2 , P_4 e P_4+E_2 , respectivamente. Essa discrepância nos resultados referentes à ciclicidade é um indicador de que a estratégia remoção de bezerros + GnRH (associada ou não a E_2 exógeno) é pouco eficaz em induzir ciclicidade, apesar de ser altamente eficaz em induzir ovulação em vacas em anestro. Perez (2005) utilizou a estratégia de RB (48 horas) em vacas em anestro, obtendo ovulação em 33,3% das vacas, durante o período em que os bezerros estavam separados. Entretanto, dez dias após a RB, apenas 28,6% das vacas que haviam ovulado retornaram em estro. Havia expectativa de maior porcentagem de animais detectados em estro em 10 dias, o que não ocorreu, mostrando que o impacto da RB foi momentâneo, ou seja, estimulou ovulação, mas não induziu a ciclicidade em todas as vacas que ovularam após a RB. Estudando o desempenho reprodutivo de vacas em anestro nos primeiros 25 dias de estação de monta com inseminação artificial após detecção de cio, Vasconcelos et al. (2004) obtiveram taxas de prenhez de

7,10% vs. 28,6% para vacas tratadas com RB vs. P_4 + RB, respectivamente. Esses dados em conjunto reforçam a importância do uso da P_4 em programas de sincronização de estro e ovulação em vacas em anestro, visando não só aumentar a concepção na primeira inseminação, através da prevenção de ciclo curto, mas também induzir ciclicidade, permitindo que as vacas que não ficarem gestantes na primeira inseminação emprenhem o mais rápido possível, nos estros subseqüentes.

Através da análise das Figuras 7 e 8 e da Tabela 2 é possível observar que o pré-tratamento com P_4 por seis dias, associado ou não a 1 mg de 17 β -estradiol, reduziu a incidência da luteólise prematura. Esse resultado está de acordo com os trabalhos de Cooper et al. (1991) e Fike et al. (1997), os quais demonstraram que o pré-tratamento de vacas em anestro com P_4 ou progestágenos reduz a ocorrência de ciclos curtos após a indução da ovulação. O mecanismo pelo qual a exposição à P_4 antes da ovulação evita a regressão prematura do CL ainda não está esclarecido. Zollers et al. (1993) observaram redução na quantidade de receptores de ocitocina no endométrio de vacas pós-parto após tratamento com implante de norgestomet, sugerindo um efeito similar ao da P_4 , já que o norgestomet atua através de ligação a receptores de P_4 (MOFFATT et al. 1993). Adicionalmente, explantes endometriais obtidos a partir de vacas em anestro pré-tratadas com norgestomet secretaram, *in vitro*, menores concentrações de PGF_{2 α} em relação aos obtidos de vacas não tratadas (ZOLLERS et al., 1991). Portanto, mesmo não conhecido o mecanismo exato de atuação da P_4 , é consenso que o mesmo envolve inibição da secreção de PGF_{2 α} pelo endométrio, possivelmente através de inibição de OTR no endométrio após a ovulação.

Independente do mecanismo pelo qual a P_4 evita a regressão prematura do CL, é fato que utilização de P_4 /progestágenos em programas de sincronização de cio e ovulação para vacas em anestro proporciona maiores taxas de concepção à primeira inseminação (VASCONCELOS et al., 2004; VILELA, 2004; PEREZ, 2005).

O tratamento com 1 mg de 17β -estradiol não influenciou a porcentagem de vacas que apresentaram luteólise prematura (Tabela 2). Os dados de duração do ciclo estral foram obtidos a partir da análise gráfica individual dos animais e, portanto, os efeitos dos tratamentos sobre porcentagem de ciclos curtos condizem com os efeitos dos tratamentos nas concentrações séricas de P_4 após a ovulação. Assim, não se observou efeito de tratamento com 1 mg de 17β -estradiol nas concentrações séricas médias de P_4 após a ovulação. Esses dados indicam que o tratamento com 1 mg de 17β -estradiol não preveniu a ocorrência de ciclos curtos, contrariando a expectativa inicial desse experimento, baseada na hipótese proposta por Mann & Lamming (2000), que utilizaram vacas ovariectomizadas como modelo experimental.

Entretanto, o resultado obtido nesse experimento é consistente com outros trabalhos em animais intactos, os quais utilizaram estratégias para elevar as concentrações pré-ovulatórias de E_2 . Fike et al. (1997) trataram vacas em anestro com 1 mg de benzoato de estradiol antes da indução da ovulação e não verificaram redução na incidência de ciclos curtos. Em ovelhas em anestro, o tratamento com E_2 exógeno antes da indução da ovulação atenuou a secreção de $PGF_{2\alpha}$ nos primeiros dias do ciclo estral, entretanto não foi suficiente para evitar a regressão prematura do CL (MANN & HARESIGN, 2001). Por outro lado, no mesmo experimento, o tratamento com injeções de

repetidas de P_4 evitou significativamente a ocorrência de ciclos curtos. O presente trabalho e o trabalho de Fike et al. (1997) utilizaram estrógenos rápida absorção e eliminação, enquanto Mann & Lamming (2000) trabalharam com sucessivas aplicações de 17β -estradiol ao longo de quarenta e oito horas. É considerável, portanto, que a inibição dos OTR no endométrio seja, em parte, dependente de um tempo mínimo de exposição ao E_2 , o qual pode ser insuficiente em tratamentos com estrógenos de rápida metabolização. Considerando essa possibilidade, ésteres de estradiol de menor polaridade, como cipionato de estradiol e valerato de estradiol, poderiam ser mais eficientes que 17β -estradiol e benzoato de estradiol, devido à sua maior meia-vida na circulação (LAMMOGLIA et al., 1998; BO et al., 2000; HAUGHIAN et al., 2002; BURKE et al., 2003; MARTINEZ et al., 2005; SOUZA et al., 2005). Também, sob um ponto de vista prático, o uso de ésteres de estradiol de longa ação seria mais viável que aplicações sucessivas de ésteres de curta meia-vida.

Finalmente, é importante salientar que a hipótese apresentada por Mann & Lamming (2000), foi proposta a partir de estudos com vacas ovariectomizadas, em que a aplicação de E_2 promoveu, seis dias após, redução nas concentrações endometriais de OTR e na produção de $PGF_{2\alpha}$. Devido a esse modelo experimental utilizado, não foi possível avaliar o efeito do tratamento com E_2 na regressão do CL. A discordância com a hipótese proposta por Mann & Lamming (2000) pode, portanto, ser devido à utilização de modelos experimentais diferentes, pois o presente estudo avaliou a luteólise em si. Adicionalmente, quando ovelhas intactas em anestro foram tratadas com E_2 exógeno antes da indução da ovulação, houve menor secreção de $PGF_{2\alpha}$

nos primeiros dias do ciclo estral, entretanto isso não foi suficiente para evitar a regressão prematura do CL (MANN & HARESIGN, 2001). Esse estudo indica que a atenuação na produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ não significa, necessariamente, prevenção da luteólise.

É interessante observar que a incidência de ciclo curto foi de 5,6% no Grupo P4+E2, enquanto vacas do Grupo P4 apresentaram incidência de 21,1% de ciclo curto. Similarmente, Fike et al. (1997) observaram incidências de ciclos curtos de 10,2% vs. 6,35% em vacas em anestro tratadas com P₄ (7 dias) vs. P₄ + 1 mg de benzoato de estradiol, respectivamente, antes da indução da ovulação. Em ambos os experimentos, a análise comparativa entre os dois grupos não revelou diferença significativa, provavelmente devido à quantidade restrita de animais. De fato esses experimentos não foram delineados para responder essa questão, entretanto a diferença numérica observada sugere que é possível um efeito benéfico da associação entre P₄ e E₂ na manutenção do CL. Trabalhos com ovelhas realizados por Moore (1985) e Wilmut et al. (1986) mostraram que três estágios de exposição esteroidal são necessários para o desenvolvimento de um ambiente uterino favorável à concepção. A primeira é a fase de exposição à P₄ imediatamente antes do estro, seguindo-se uma fase de concentrações crescentes de E₂ no estro e, finalmente, a manutenção de concentrações de P₄ suficientes no ciclo estral subsequente. Nesse contexto, tratamentos para vacas em anestro que associam P₄ e E₂ fornecem exogenamente os elementos essenciais das duas primeiras fases de exposição esteroidal sendo, provavelmente, mais completos que tratamentos somente à base de P₄, que fornecem exogenamente somente o elemento da primeira fase.

5. Conclusões

Com base nos resultados desse experimento, conclui-se:

- 1) O pré-tratamento com P_4 por 6 dias antes da indução da ovulação em vacas em anestro reduziu a incidência de regressão prematura do CL;
- 2) A aplicação de 1 mg de 17β -estradiol previamente à ovulação não reduziu a incidência de luteólise prematura tanto em vacas tratadas como em vacas não tratadas com P_4 .

6. Referências bibliográficas

BAO, B., GARVERICK, H.A., SMITH, G.W., SMITH, M.F., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. **Biol. Reprod.**, v.56, p.1158-1168, 1997.

BINELLI, M., THATCHER, W.W., MATTOS, R., BARUSELLI, P.S. Anti-luteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1451-1463, 2001.

BO, G.A., BERGFELT, D.R., BROGLIATTI, G.M., PIERSON, R.A., ADAMS, G.P., MAPLETOFT, R.J. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 beta on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. **Anim. Reprod. Sci.**, v.31, p.141-157, 2000.

BRADEN, T.D., KING, M.E., ODDE, K.G., NISWENDER, G.D. Development of preovulatory follicles expected to form short-lived corpora lutea in beef cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.85, p.97-104, 1989.

BURKE, C.R., MUSSARD, M.L., GASSER, C.L., GRUM, D.E., DAY, M.L. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology**, v.60, p.647-658, 2003.

COOPER, D.A., INSKEEP, E.K. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and oxytocin during premature regression of corpora lutea in the postpartum beef cow. **J. Anim. Sci.**, v.67 (Suppl. 1), p.337 (Abstract), 1989.

COOPER, D.A., CARVER, D.A., VILLENEUVU, P., SILVIA, W.J., INSKEEP, E.K. Effects of progestogen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. **J. Reprod. Fertil.** v.91, p.411-421, 1991.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S. Effect of the uterus on subnormal luteal function in anestrus beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.64, p.1506-1511, 1987.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., KEISLER, D.H., GARVERICK, H. Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin $F_{2\alpha}$ on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea. **J. Reprod. Fertil.**, v.87, p.619-630, 1989.

DAY, M.L., ANDERSON, L.H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **J. Anim. Sci.**, v.76 (Suppl.3), p.1-15, 1998.

FIKE, K.E., DAY, M.L., INSKEEP, E.K., KINDER, J.E., LEWIS, P.E., SHORT, R.E., HAFS, H.D. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrus when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.2009-2015, 1997.

FLINT, A.P.F., SHELDRIK, E.L. Evidence for systemic role for ovarian oxytocin in luteal regression in sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v.67, p.215-225, 1983.

GARCIA-WINDER, M., LEWIS, P.E., DEEVER, D.R., SMITH, V.G., LEWIS, G.S., INSKEEP, E.K. Endocrine profiles associated with lifespan of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.62, p.1353-1362, 1986.

GARCIA-WINDER, M., LEWIS, M.P.E., TOWNSEND, E.C., INSKEEP, E.K. Effects of norgestomet on follicular development in post-partum beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.64 (Suppl.1), p.1099 (Abstract), 1987.

GARVERICK, H.A., PARFET, J.R., LEE, C.N., COPELIN, J.P., YOUNGQUIST, R.S., SMITH, M.F. Relationship of pre- and post-ovulatory gonadotropin secretion to subnormal luteal function in postpartum beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.104-111, 1988.

GARVERICK, H.A., ZOLLERS, W.G., SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. **Anim. Reprod. Sci.**, v.28, p.111-124, 1992.

GIMENES, L.U., CARVALHO, N.A.T., SÁ FILHO, M.F., AYRES, H., TORRES-JUNIOR, J.R.S., SOUZA, A.H., BO, G.A., BARROS, C.M., SARTORELLI, E.S., BARUSELLI, P.S., MAPLETOFT, R.J. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Reprod. Fertil. Dev.**, v.19 (Suppl. 1), p.242 (Abstract), 2007.

HAUGHIAN, J.M., SARTORI, R., GUENTHER, J.N., GÜMEN, A., WILTBANK, M.C. Extending the postpartum anovulatory period in dairy cattle with estradiol cypionate. **J. Dairy Sci.**, v.85, p.3238-3249, 2002.

HENRICKS, D.M., LONG, J.T., HILL, J.R. The various effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ during various stages of estrous cycle of beef heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v.41, p.113-120, 1974.

INSKEEP, E.K., BRADEN, T.D., LEWIS, P.E., GARCIA-WINDER, M., NISWENDER, G.D. Receptors for luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in largest follicles of post-partum beef cows. **Biol. Reprod.**, v.38, p.587, 1988.

JOLLY, P.D., TISDALL, D.J., HEATH, D.A., LUN, S., MCNATTY, K.P. Apoptosis in bovine granulosa cells in relation to steroid synthesis, cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate response to follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and follicular atresia. **Biol. Reprod.**, v.51, p.934-944, 1994.

LAMMOGLIA, M.A., SHORT R.E., BELLOWS, S.E., BELLOWS, R.A., MCNEIL, M.D., HAFS, H.D. Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F₂α. **J. Anim. Sci.**, v.76, p.1662-1670, 1998.

LOPEZ, H., SATTER, L.D., WILTBANK, M.C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Anim Reprod Sci.**, v.81, p.209-223, 2004.

MANN, G.E., HARESIGN, W. Effect of oestradiol treatment during GnRH-induced ovulation on subsequent PGF₂α release and luteal life span in anoestrous ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, v.67, p.245-252, 2001.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Anim. Reprod. Sci.**, v.64, p.171-180, 2000.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v.121, p.175-180, 2001.

MARTINEZ, M.F., J.P. KASTELIC, G.A. BO, M. CACCIA, R.J. MAPLETOFT. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.86, p.37-52, 2005.

MCCRACKEN, J.A., CUSTER, E.E., LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiol. Rev.**, v.79, p.263-323, 1999.

MENEGHETTI, M., VILELA, E.R., VASCONCELOS, J.L.M., et al. Efeito da remoção de bezeros no folículo dominante e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas nelore em anestro. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.25, p.286-288, 2001.

MOFFATT, R.J., ZOLLERS, W.G., WELSHONS, W.V., KIEBORZ, M.A. Basis of norgestomet action as a progestogen in cattle. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v.10, p.21-30, 1993.

MOORE, N.W. The use of embryo transfer and steroid hormone replacement therapy in the study of prenatal mortality. **Theriogenology**, v.23, p.121-129, 1985.

PARKINSON, T.J., JENNER, L.J., LAMMING, G.M. Comparison of oxytocin/prostaglandin $F_{2\alpha}$ interrelationships in cyclic and pregnant cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.90, p.337-345, 1990.

PEREZ, G.C. **Uso do acetato de melengestrol (MGA), associado a $PGF_{2\alpha}$ e a GnRH ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para vacas nelores paridas.** Botucatu, SP, 2005, 79p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

PERRY, G.A., SMITH, M.F., GEARY, T.W. Ability of intravaginal progesterone inserts and melengestrol acetate to induce estrous cycles in postpartum beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.82, p.695–704, 2004.

PETERS, M.W., PURSLEY, J.R. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function and fertility in dairy cows. **Theriogenology**, v.60, p.1197-1204, 2003.

RHODES, F.M., BURKE, C.R., CLARK, B.A., DAY, M.L., MACMILLAN, K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in post-partum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Anim. Reprod. Sci.**, v.69, p.139-150, 2002.

RHODES, F.M., MCDOUGALL, S., BURKE, C.R., VERKERK, G.A., MACMILLAN, K.L. Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. **J. Dairy Sci.**, v.86, p.1876-1894, 2003.

ROBINSON, R.S., MANN, G.E., LAMMING, G.E., WATHES, D.C. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. **Reproduction**, v.122, p.965-979, 2001.

SANGSRITAVONG, S., COMBS, D.K., SARTORI, R., ARMENTANO, L.E., WILTBANK, M.C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v.85, p.2831-2842, 2002.

SANTOS, R.M., VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., MACIEL, A.B.B., SÁ FILHO, O.G. Serum progesterone concentrations in Nellore x Angus heifers treated with CIDR 1.38g or CIDR 1.9g device. **J. Dairy Sci.**, v.83 (Suppl.1), p.214 (Abstract), 2004.

SANTOS, R.M. **Efeito da quantidade de concentrado da dieta de vacas Holandesas não-lactantes na progesterona plasmática e na produção de prostaglandina pelo endométrio.** Jaboticabal, SP, 2005, 87p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

SARTORI, R., FRICKE, P.M., FERREIRA, J.C.P., GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biol. Reprod.**, v.65, p.1403-1409, 2001.

SARTORI, R., ROSA, G.J., WILTBANK, M.C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **J. Dairy Sci.**, v.85, p.2813-22, 2002.

SHEFFEL, C.E., PRATT, B.R., FERREL, W.L., INSKEEP, E.K. Induced corpora lutea in postpartum cows. II. Effects of treatments with progestogen and gonadotropins. **J. Anim. Sci.**, v.54, p.830-836, 1982.

SILVIA, W.J., LEWIS, G.S., McCracken, J.A., THATCHER, W.W., WILSON JR., L. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin $F_{2\alpha}$ during luteolysis in ruminants. **Biol. Reprod.**, v.45, p.655-663, 1991.

SOUZA, A.H., CUNHA, A.P., CARAVIELLO, D.Z., WILTBANK, M.C. Profiles of circulating estradiol-17 β after different estrogen treatments in lactating dairy cows. **Anim. Reprod.**, v.02, p.224-232, 2005.

STOCK, A.E., FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v.132, p.1108-1114, 1993.

TAPONEN, J., HJERPPE, P., KOPRA, E., RODRÍGUEZ-MATÍNEZ, H., KATILA, T., KINDHAL, H. Premature prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. **Theriogenology**, v.60, p.379-393, 2003.

TROXEL, T.R., KESLER, D.J. Ability of indomethacin to alter prostaglandin metabolite concentrations and to enhance the function of corpora lutea induced in postpartum suckled beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.59, p.177, 1984.

VASCONCELOS, J.L.M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H.N., GUENTHER, J.N., WILTBANK, M. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, p.307–314, 2001.

VASCONCELOS, J.L.M., SANGSRITAVONG, S., TSAI, S.J., WILTBANK, M.C. Acute reduction in serum progesterone concentration after feed intake in dairy cows. **Theriogenology**, v.60, p.795-807, 2003.

VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., SANTOS, R.M., SILVA, A.T.N., MACIEL, A.B.B. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrous Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. **J. Anim. Sci.**, v. 82 (Suppl. 1), p.67 (Abstract), 2004.

VILELA, E.R. **Utilização de dispositivo de liberação intravaginal de progesterona no protocolo de sincronização (GnRH / PGF_{2α} / GnRH) associado a remoção temporária dos bezerros em vacas nelore paridas.** Botucatu, SP, 2004, 58p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

WILMUT, I., SALES, D.I., ASHWORTH, C.J. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. **J. Reprod. Fertil.**, v.76, p.851-864, 1986.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F. Oxytocin-induced release of prostaglandin F_{2α} in postpartum beef cows: comparison of short versus normal luteal phases. **Biol. Reprod.**, v.41, p.262–267, 1989.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S., OTTOBRE, J.S., SILCOX, R.W., COPELIN, J.P., SMITH, M.F. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of post-partum beef cows expected to have short or normal luteal phases. **Biol. Reprod.**, v.44, p.522-526, 1991.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F., MOFFAT, R.J., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **J. Reprod. Fertil.**, v.97, p.329-337, 1993.

CAPÍTULO 3

**EFEITO DO CIPIONATO DE ESTRADIOL ANTES DA INDUÇÃO DA
OVULAÇÃO NA OCORRÊNCIA DE LUTEÓLISE PREMATURA EM VACAS
NELORE EM ANESTRO.**

EFEITO DO CIPIONATO DE ESTRADIOL ANTES DA INDUÇÃO DA OVULAÇÃO NA OCORRÊNCIA DE LUTEÓLISE PREMATURA EM VACAS NELORE EM ANESTRO.

RESUMO – Na primeira ovulação pós-parto, a taxa de concepção é geralmente baixa devido à regressão prematura do corpo lúteo. Em estudos prévios, tratamentos com 17β -estradiol e benzoato de estradiol previamente à ovulação não preveniram a luteólise prematura. O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol, antes da indução da ovulação, na prevenção de luteólise prematura em Nelore em anestro. Trinta e cinco vacas Nelore em anestro (avaliadas por dois exames ultrassonográficos oito dias aparte; 30 a 40 dias pós-parto) foram, no dia -2, submetidas à remoção de bezerros (RB; 48 horas) e designadas aleatoriamente a receber, neste momento, um dos dois tratamentos: Grupo Controle - Injeção i.m. de 0,5 mL de óleo de caroço de algodão (placebo); Grupo ECP - Injeção i.m. de 1,0 mg de cipionato de estradiol. No dia 0, quando a RB terminou, todas as vacas receberam uma injeção i.m. de 100 μ g de GnRH. A ovulação foi avaliada através de dois exames ultrassonográficos, nos dias 0 e 2, sendo que somente as vacas que ovularam foram utilizadas no experimento (Controle, n=12; ECP, n=8). As concentrações séricas de progesterona foram medidas por radioimunoensaio em amostras de sangue colhidas nos dias 0, 5, 9 e 15 para avaliação da função luteal. As variáveis binomiais foram analisadas por regressão logística (PROC LOGISTIC) e as variáveis contínuas pelo PROC MIXED do SAS. A incidência de ciclos curtos não diferiu entre os grupos (83,3% vs. 75,0%, para vacas dos Grupos Controle e ECP, respectivamente; $P>0,10$), bem como as concentrações séricas médias de progesterona nos dias

0, 5, 9 e 15 ($0,4 \pm 0,4$ vs. $0,4 \pm 0,5$; $3,0 \pm 0,4$ vs. $2,4 \pm 0,5$; $0,9 \pm 0,4$ vs. $1,3 \pm 0,5$; $0,8 \pm 0,4$ vs. $0,9 \pm 0,5$ para vacas dos Grupos Controle e ECP, respectivamente; $P > 0,10$). Em ambos os tratamentos, a concentração sérica média de progesterona elevou-se entre os dias 0 e 5 ($P < 0,01$), porém decresceu entre os dias 5 e 9 ($P < 0,01$), indicando que houve luteólise prematura. Conclui-se que o tratamento com 1,0 mg de cipionato de estradiol antes da indução da ovulação não preveniu a ocorrência de ciclos curtos em vacas Nelore em anestro.

Palavras-chave: Anestro, ciclo curto, cipionato de estradiol

EFFECT OF ESTRADIOL CYPIONATE PRIOR TO INDUCTION OF OVULATION ON OCCURRENCE OF PREMATURE LUTEOLYSIS IN ANESTROUS NELORE COWS.

ABSTRACT – Conception rate is low following first post-partum ovulation due to premature regression of corpus luteum. In previous studies, treatments with 17 β -estradiol and estradiol benzoate did not prevent premature luteolysis. The aim of this trial was to evaluate the effect of treatment with 1 mg of estradiol cypionate, prior to induction of ovulation, on prevention of premature luteolysis in anestrous Nelore cows. Anestrous Nelore cows (evaluated by two ultrasound exams eight days apart; n=35; 30-40 days post-partum) received on day -2 calf removal (CR; 48 hours) and were randomly assigned to receive either one of the following treatments: Control Group – 0.5 mL i.m. cottonseed oil injection (placebo); ECP Group – 1.0 mg i.m. estradiol cypionate injection. At end of CR (day 0), all cows received 100 μ g i.m. GnRH injection. Ovulation was evaluated by two ultrasound exams on days 0 and 2, and only cows ovulating were used in this study (Control, n=12; ECP, n=8). Blood samples were collected on days 0, 5, 9 and 15 to evaluate luteal lifespan through progesterone analysis by radioimmunoassay. Binomial data were analyzed by logistic regression (PROC LOGISTIC) and continuous data by PROC MIXED of SAS. Incidence of short cycles did not differ between groups (83.3% vs. 75.0%, for cows of Control and ECP Groups, respectively; $P>0.10$), as well as mean serum progesterone concentrations on days 0, 5, 9 e 15 (0.4 ± 0.4 vs. 0.4 ± 0.5 ; 3.0 ± 0.4 vs. 2.4 ± 0.5 ; 0.9 ± 0.4 vs. 1.3 ± 0.5 ; 0.8 ± 0.4 vs. 0.9 ± 0.5 for cows of Control and ECP Groups, respectively; $P>0.10$). In both treatments, mean serum progesterone concentration increased between days 0 and 5 ($P<0.01$), but decreased

between days 5 and 9 ($P < 0.01$), indicating occurrence of premature luteolysis.

In conclusion, treatment with 1.0 mg of estradiol cypionate prior to induction of ovulation in anestrous Nelore cows did not prevent occurrence of short cycle.

Key-words: Anestrous, short cycle, estradiol cypionate

1. Introdução

Em estudo com vacas ovariectomizadas tratadas com injeções sucessivas de estradiol (E_2) em diferentes doses, Mann & Lamming (2000) observaram que as vacas tratadas com doses mais altas apresentaram menores concentrações de receptores endometriais de ocitocina (OTR) e menor produção de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) nos dias subseqüentes. A partir desses dados, propôs-se a hipótese de que a luteólise prematura seria consequência de secreção insuficiente de E_2 pré-ovulatório.

Relatos de que vacas que apresentaram ciclo curto tiveram menores concentrações pré-ovulatórias de E_2 em relação a vacas que apresentaram ciclo estral de duração normal (SHEFFEL et al., 1982; GARCIA-WINDER et al., 1986; GARVERICK et al., 1988; BRADEN et al., 1989) e que vacas cíclicas induzidas a ovular folículos de pequeno diâmetro (menor capacidade de síntese de E_2) apresentaram secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$ (TAPONEN et al., 2003) e ciclo curto (VASCONCELOS et al., 2001; PETERS & PURSLEY, 2003) suportam a hipótese proposta por Mann & Lamming (2000).

Contrariando essa hipótese, quando vacas em anestro foram pré-tratadas com 1 mg de benzoato de estradiol (FIKE et al., 1997) ou de 17β -estradiol (SÁ FILHO et al., 2006), visando elevar as concentrações pré-ovulatórias de E_2 , a ocorrência de ciclos curtos não foi alterada. Em ovelhas em anestro, o tratamento com E_2 exógeno antes da indução da ovulação atenuou a secreção de $PGF_{2\alpha}$ nos primeiros dias do ciclo estral, entretanto não foi suficiente para evitar a regressão prematura do corpo lúteo (CL; MANN & HARESIGN, 2001).

Considerando a hipótese proposta por Mann & Lamming (2000), se o efeito supressivo do E_2 pré-ovulatório sobre os OTR for tempo-dependente, o

tratamento de vacas em anestro com um éster de estradiol de duração mais longa que 17β -estradiol e benzoato de estradiol, previamente à ovulação, poderia ser mais eficiente em bloquear OTR e prevenir ciclo curto.

A hipótese desse trabalho é que o tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol antes da indução da ovulação previne a regressão prematura do CL em vacas Nelore em anestro.

2. Materiais e métodos

2.1. Animais e Tratamentos

Foram utilizadas 35 vacas Nelore multíparas paridas (30 a 40 dias pós-parto) em anestro, mantidas a pasto (*Brachiaria decumbens*) e pertencentes à Fazenda São Francisco, localizada no município de Bauru-SP. A condição de anestro foi determinada por exames ultrassonográficos e das concentrações séricas de P_4 conforme explicado a seguir. As vacas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos (Figura 1):

Grupo Controle (n=18): Dia -2: aplicação de óleo de caroço de algodão (placebo) via intramuscular (0,5 mL) + remoção de bezerros (RB) por 48 horas; Dia 0: aplicação de 100 μ g de GnRH (Gonadorelina, Fertagyl[®], Intervet, Brasil) via intramuscular (1 mL).

Grupo ECP (n=17): Dia -2: aplicação de 1 mg de cipionato de estradiol (ECP[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil) via intramuscular (0,5 mL) + RB por 48 horas; Dia 0: aplicação de 100 μ g de GnRH via intramuscular.

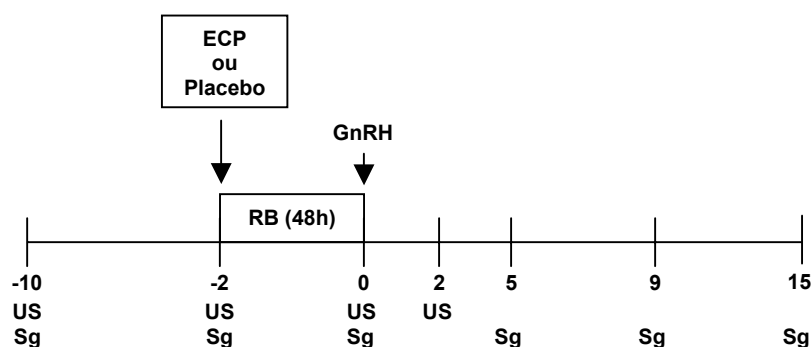


FIGURA 1. Diagrama esquemático do delineamento experimental. US, ultrassonografia ovariana; Sg, colheita de sangue; RB (48h), remoção de bezerros por 48 horas; ECP, injeção i.m. de cipionato de estradiol (1 mg); Placebo, injeção i.m. de óleo de caroço de algodão (1 mL); GnRH, gonadorelina. Trinta e cinco vacas em anestro (avaliadas por ultrassonografia ovariana nos dias -10 e -2) foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos (Controle e ECP). A ovulação em resposta à injeção de GnRH foi avaliada por dois exames ultrassonográficos (d0 e d2). Apenas vacas que ovularam foram utilizadas para colheita de sangue nos dias 5, 9 e 15. Bauru-SP, 2005.

2.2. Remoção temporária de bezerros

Durante os dias -2 e 0 (48 horas) os bezerros foram separados das vacas em currais de forma a não haver contato físico entre ambos. Nesse período foi fornecido água à vontade para os bezerros. O objetivo da remoção temporária de bezerros foi de aumentar a taxa de ovulação à aplicação de GnRH.

2.3. Ultrassonografia das estruturas ovarianas

Os exames ultrassonográficos foram realizados com aparelho Aloka, modelo SSD-500 com transdutor linear retal de 7,5 MHz, para determinar a

ciclicidade antes do início dos tratamentos e a ovulação em resposta à aplicação de GnRH.

A avaliação da ciclicidade foi realizada nos dias -10 e -2, sendo considerados em anestro os animais que não apresentaram tecido luteal em ambos exames. Além disso, amostras de sangue colhidas nesses dias para dosagem das concentrações séricas de P_4 confirmaram a condição de anestro, como descrito no item a seguir. A ovulação foi determinada pela comparação das imagens ultra-sonográficas no dia 0 e no dia 2. Considerou-se ovulação quando houve presença de folículo >7 mm em um dos ovários no dia 0 e ausência do mesmo no dia 2.

2.4. Colheita e análise de sangue

As amostras de sangue foram colhidas da veia coccígea em tubos tipo vacutainer sem anticoagulante e armazenadas por 24 horas em refrigerador a 4°C , quando então foram centrifugados a $1500 \times g$ por 15 minutos a 25°C . O soro foi separado e armazenado a -20°C até a realização das dosagens.

2.4.1. Dosagem de Progesterona

As amostras de sangue para dosagem de progesterona para confirmar que as vacas estavam em anestro foram colhidas nos dias -10 e -2. As vacas previamente avaliadas por ultrassonografia que apresentaram concentrações séricas de P_4 inferiores a $0,5 \text{ ng/mL}$ em ambos os dias foram consideradas em anestro.

Nos animais que ovularam, as amostras de sangue para dosagem de progesterona foram colhidas nos dias 0, 5, 9 e 15. As dosagens de

progesterona foram realizadas por radioimunoensaio, utilizando-se kits comerciais da DPC (Coat-a-count®, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) e procedimentos de acordo com as recomendações do fabricante. A sensibilidade do ensaio foi 0,01 ng/mL e o coeficiente de variação intra-ensaio foi 6,33%.

Foi considerada a ocorrência de ciclo curto nos animais que, após o dia 5, apresentaram concentração sérica de P_4 decrescente e menor que 0,5 ng/mL.

2.5. Análise estatística

A variável dependente concentração sérica de P_4 foi previamente testada quanto à normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste F máximo) e analisada por análise de variância dos quadrados mínimos utilizando-se o procedimento MIXED do programa SAS, após transformação logarítmica. Foram incluídos no modelo os efeitos fixos de dia, tratamento com ECP e interação, e o efeito aleatório de vaca dentro de cada tratamento. Escore de condição corporal foi incluído como covariável. Admitiu-se para as medidas repetidas um efeito auto-regressivo de primeira ordem.

As variáveis dependentes binomiais taxa de ovulação e porcentagem de ciclos curtos foram analisados por meio do procedimento LOGISTIC do programa SAS. Em ambos os casos, o modelo incluiu o efeito de tratamento. Escore de condição corporal foi incluído como covariável.

3. Resultados

3.1. Taxa de ovulação

Das 35 vacas em anestro utilizadas inicialmente, 20 ovularam até 48 horas após a aplicação de GnRH (57,14%). Não houve efeito do tratamento com cipionato de estradiol na taxa de ovulação ($P>0,1$; Tabela 1).

TABELA 1. Efeito do tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol 48 horas antes do estímulo com GnRH na taxa de ovulação em vacas Nelore em anestro. Bauru-SP, 2005.

Tratamento	Taxa de ovulação	Risco de ovulação		
		R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Controle	66,7% (12/18)	Referência	Referência	N.A.
ECP	47,1% (8/17)	0,50	0,07-3,55	0,49

R.P.A. = Razão de proporções ajustada; I.C. = Intervalo de confiança; N.A. = Não aplicável.

3.2. Características da fase luteal

Dois diferentes perfis de P_4 sérica foram observados após a indução da ovulação com GnRH (Figura 2). As vacas que apresentaram fase luteal de duração normal ($n=4$) apresentaram uma elevação gradativa ($P<0,01$) nas concentrações séricas de P_4 ao longo dos dias 0, 5, 9 e 15. Nas vacas que apresentaram luteólise prematura ($n=16$), as concentrações séricas de P_4 nos dias 0 e 5 foram similares às das vacas que apresentaram fase luteal de duração normal ($0,38\pm0,51$ ng/mL vs. $0,45\pm0,47$ ng/mL no dia 0 e $3,14\pm0,98$ ng/mL vs. $2,99\pm1,02$ ng/mL no dia 5, para vacas que apresentaram luteólise precoce e fase luteal normal, respectivamente; $P>0,1$). Entretanto, nas vacas cujo CL regrediu prematuramente, houve decréscimo entre os dias 5 e 9 nas

concentrações séricas de P_4 (de $3,02 \pm 0,91$ ng/mL para $0,65 \pm 0,23$ ng/mL; $P < 0,01$). Em todas as vacas cujo CL regrediu prematuramente as concentrações séricas de P_4 se mantiveram abaixo de 1 ng/mL no dia 15 indicando que não houve nova ovulação logo após a luteólise.

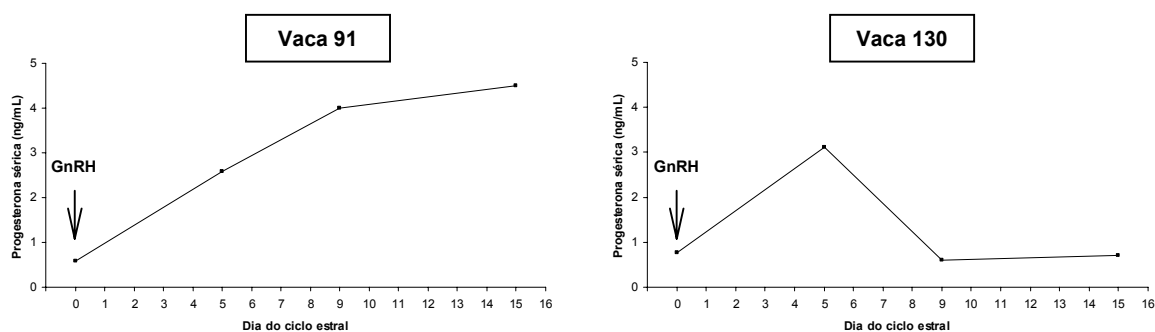


FIGURA 2. Exemplos de perfis de progesterona sérica observados após a indução da ovulação em vacas Nelore em anestro com remoção de bezerras + GnRH. A) Fase luteal de duração normal (vaca 91); B) Luteólise prematura (vaca 130). Bauru-SP, 2005.

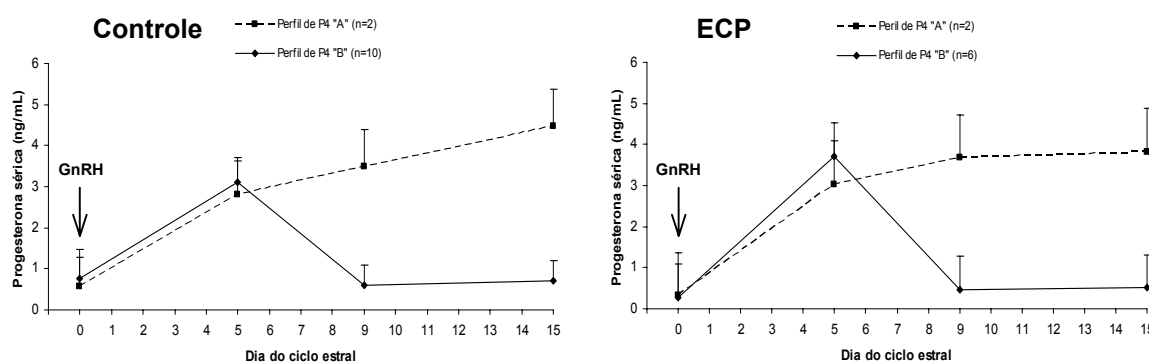


FIGURA 3: Perfis de concentrações séricas de progesterona (médias dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro. Perfil de P4 'A': Fase luteal de duração normal; Perfil de P4 'B': Luteólise prematura. Bauru-SP, 2005.

Na Figura 3 estão ilustradas, para cada um dos tratamentos, as concentrações médias de P_4 nos dias 0, 5, 9 e 15 das vacas que apresentaram os dois diferentes perfis de P_4 sérica. Não houve efeito do tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol sobre a porcentagem de ciclo curto ($P>0,1$; Tabela 2).

TABELA 2. Efeitos do tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol 48 horas antes do estímulo com GnRH na porcentagem de luteólise prematura após ovulação em vacas Nelore em anestro. Bauru-SP, 2005.

Tratamento	% L.P.	Risco de luteólise prematura		
		R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Controle	83,3% (10/12)	Referência	Referência	N.A.
ECP	75,0% (6/8)	0,60	0,07-5,45	0,65

% L.P. = Porcentagem de luteólise prematura; R.P.A. = Razão de proporções ajustada; I.C. = Intervalo de confiança; N.A. = Não aplicável.

Não houve efeito do tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol nas concentrações séricas médias de P_4 após a ovulação ($P>0,1$; Figura 4).

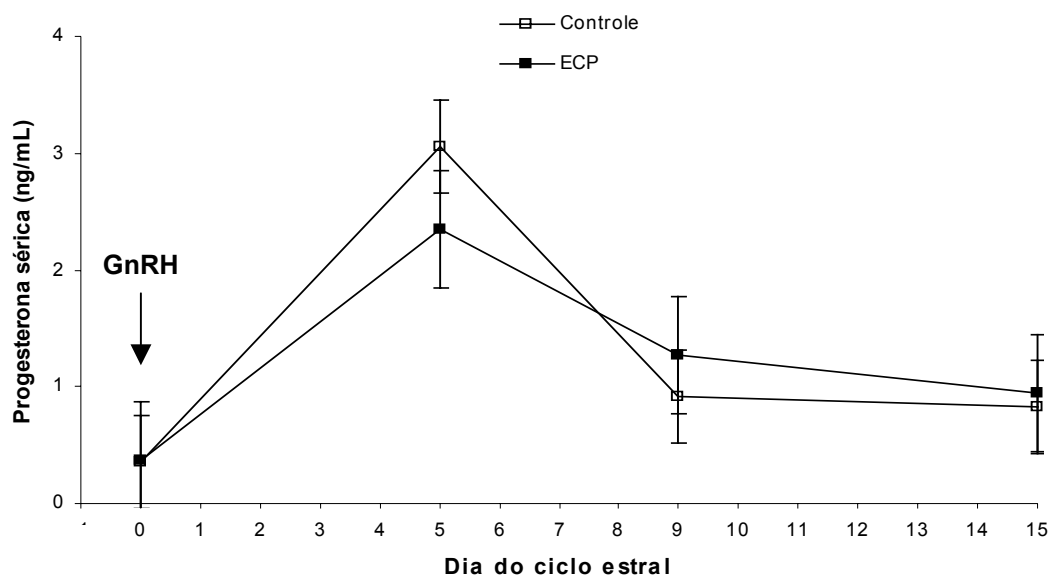


FIGURA 4. Concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro tratadas (■) ou não (□) com 1 mg de cipionato de estradiol 48 horas antes da injeção de GnRH. Bauru-SP, 2005.

4. Discussão

Não houve efeito de tratamento sobre a taxa de ovulação (Tabela 1). Havia expectativa de uma possível menor taxa de ovulação no Grupo ECP pelo fato de serem vacas em anestro suplementadas com E_2 . É sabido que vacas em anestro apresentam o eixo hipotálamo-hipófise hipersensível ao E_2 , o qual exerce efeito de retroalimentação negativa sobre a secreção de GnRH e LH. Portanto, o tratamento com E_2 em vacas em anestro pode não causar ovulação e prolongar o período anovulatório (HAUGHIAN et al., 2002), principalmente em vacas de corte, pois a presença do bezerro e a amamentação potencializam o efeito negativo do E_2 no eixo hipotálamo-hipófise (ACOSTA et al., 1983; GARICA-WINDER et al., 1984; CHANG & REEVES, 1987; ZALESKY et al., 1990). É possível que a RB minimize esse efeito, de forma que a

associação RB + ECP + GnRH possa ser utilizada sem prejudicar a taxa de ovulação.

Após a ovulação, em 20% das vacas (4/20) houve elevação gradativa nas concentrações séricas médias de P_4 ao longo dos dias 0, 5, 9 e 15, respectivamente, indicando desenvolvimento normal do CL. Considerou-se, portanto, que essas vacas apresentaram ciclo estral de duração normal.

Em 80% das vacas (16/20) houve elevação nas concentrações séricas médias de P_4 entre os dias 0 e 5, seguida por um decréscimo acentuado no dia 9, indicando que a luteólise ocorreu entre os dias 5 e 9 (Figuras 2 e 3). Considerou-se, portanto, que essas vacas apresentaram regressão prematura do CL. O fato de a luteólise ter ocorrido entre os dias 5 e 9 nas vacas que apresentaram ciclo curto mostra que nesse momento já há secreção de $PGF_{2\alpha}$, como verificaram Troxel & Kesler (1984), Cooper & Inskeep (1989), Copelin et al. (1989), Zollers et al. (1991) e Taponen et al. (2003), e que o CL regride assim que se torna responsivo à $PGF_{2\alpha}$, ou seja, por volta do sexto dia do ciclo estral (HENRICKS et al., 1974). Esses dados são consistentes com os apresentados no Capítulo 2. Copelin et al. (1987), Garverick et al. (1992) e Perry et al. (2004) também observaram luteólise neste mesmo momento após indução da ovulação em vacas em anestro.

É interessante observar que as concentrações séricas de P_4 no dia 5 não diferiram entre vacas cujo CL regrediu prematuramente e vacas cujo CL apresentou duração normal, concordando com Copelin et al. (1987), Copelin et al. (1989) e Taponen et al. (2003). Esses dados suportam a idéia de que ciclos curtos não estão relacionados a deficiências funcionais do CL, mas sim à secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$ pelo endométrio (COPELIN et al., 1987). De

fato, Braden et al. (1989) não observaram alterações no peso do CL, concentrações luteais de P_4 , concentrações de receptores de LH, número de células luteais, porcentagem de células luteais grandes e concentração luteal de receptores de $PGF_{2\alpha}$, no dia 5 pós-ovulação em vacas com expectativa de apresentarem ciclo curto.

A análise dos perfis individuais de P_4 sérica revelou que nenhuma vaca cujo CL regrediu prematuramente ovulou em seguida à luteólise, pois as concentrações séricas de P_4 se mantiveram abaixo de 1 ng/mL nos dias 9 e 15. Essa observação é contrária à idéia de que, logo após apresentar um ciclo estral de curta duração, ocorre indução de ciclicidade e a vaca ovula novamente, apresentando um ciclo estral subsequente de duração e, conseqüentemente, fertilidade normais.

Rhodes et al. (2003) propuseram que o ciclo curto é sucedido por ciclo de duração normal em vacas pós-parto que retomam naturalmente a ciclicidade, pois durante o primeiro ciclo estral (ciclo curto) houve pré-exposição à P_4 por aproximadamente 5 dias. Considerando cíclicas as vacas que, após a indução da ovulação, apresentaram ciclo estral de duração normal, observaram-se 16,7% (2/12) vs. 25,0% (2/8) de indução de ciclicidade para os tratamentos Controle vs. ECP, respectivamente. Esses resultados referentes à ciclicidade mostram que a estratégia RB + GnRH (associada ou não ao cipionato de estradiol) é pouco eficaz em induzir ciclicidade, apesar de ser altamente eficaz em induzir ovulação em vacas em anestro. Perez (2005) utilizou a estratégia de RB (48 horas) em vacas em anestro, obtendo ovulação em 33,3% das vacas, durante o período em que os bezerros estavam separados. Entretanto, dez dias após a RB apenas 28,6% das vacas que

havia ovulado retornaram em estro. Havia expectativa de maior porcentagem de animais detectados em estro em 10 dias, o que não ocorreu, mostrando que o impacto da RB foi momentâneo, ou seja, estimulou ovulação, mas não induziu ciclicidade nas vacas que ovularam após a RB.

Trabalhos utilizando tratamentos com 1 mg de ésteres de estradiol de curta duração, como benzoato de estradiol e 17 β -estradiol, previamente à indução da ovulação em vacas em anestro não verificaram redução na incidência de ciclos curtos (FIKE et al., 1997; SÁ FILHO et al., 2006). Considerando a hipótese proposta por Mann & Lamming (2000), é possível que os resultados obtidos por Fike et al. (1997) e Sá Filho et al. (2006) tenha sido devido ao uso de estrógenos de curta meia-vida na circulação, de forma a não ter havido tempo suficiente para o E₂ exercer ação supressiva sobre os OTR no endométrio. Em vacas leiteiras tratadas com injeção intramuscular de 1 mg de 17 β -estradiol ou benzoato de estradiol, o intervalo entre a aplicação e o pico de estradiol foi 4,0 $\pm$ 0,0 e 16,0 $\pm$ 6,1 horas, respectivamente, e o intervalo entre a aplicação e o retorno às concentrações basais de E₂ foi de 22,7 $\pm$ 4,8 e 30,7 $\pm$ 7,1 horas, respectivamente (SOUZA et al., 2005). Nesse contexto, o presente trabalho propôs a utilização de um éster de estradiol de maior meia-vida na circulação como estratégia manter elevadas as concentrações séricas pré-ovulatórias de E₂ por um maior tempo. O cipionato de estradiol é hidrolisado mais lentamente que o benzoato de estradiol, resultando em pico de menor amplitude porém com maior meia-vida, mantendo as concentrações plasmáticas de estradiol acima dos níveis basais por 48 a 72 horas (LOPES et al., 2000). Souza et al. (2005) observou, após tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol em vacas leiteiras, que o intervalo entre a aplicação e o

pico de E_2 e o intervalo entre a aplicação e o retorno do estradiol às concentrações basais foram de $30,7 \pm 3,5$ e $50,7 \pm 4,8$ horas, respectivamente.

Através das Figuras 3 e 4 e da Tabela 2 observa-se que o tratamento com 1 mg de cipionato de estradiol não preveniu a ocorrência de ciclos curtos, contrariando a expectativa inicial desse experimento. Entretanto, o resultado obtido nesse experimento está de acordo com o trabalho de Mann & Haresign (2001), em que sucessivas injeções de E_2 antes da indução da ovulação em ovelhas em anestro atenuaram a secreção de $PGF_{2\alpha}$ nos primeiros dias do ciclo estral, entretanto não evitaram a regressão prematura do CL. É especulável que a utilização de uma dose maior de cipionato de estradiol seja mais eficiente na prevenção de ciclos curtos, já que Mann & Lamming (2000) observaram efeito dose-dependente do E_2 na inibição dos OTR. Entretanto, o uso de altas doses de E_2 pode ser um entrave à concepção, devido a possíveis alterações no ambiente uterino (BORCHERT et al., 1999) e do oviduto (BINELLI et al., 1999), o que limita a aplicação dessa estratégia.

A hipótese apresentada por Mann & Lamming (2000), foi proposta a partir de estudos com vacas ovariectomizadas em que a aplicação de E_2 promoveu, seis dias após, redução nas concentrações endometriais de OTR e na produção de $PGF_{2\alpha}$. Devido a esse modelo experimental utilizado, não foi possível avaliar o efeito do tratamento com E_2 na regressão do CL. A discordância com a hipótese proposta por Mann & Lamming (2000) pode, portanto, ser devida à utilização de modelos experimentais diferentes, pois o presente estudo avaliou a luteólise em si. Os resultados desse estudo e de outros com animais intactos (SÁ FILHO et al., 2006; MANN & HARESIGN,

2001) são indicadores de que a atenuação na produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e na expressão dos OTR não resulta, necessariamente, em prevenção da luteólise.

5. Conclusão

Com base nos resultados desse experimento, conclui-se:

- 1) A aplicação de 1 mg de cipionato de estradiol previamente à ovulação em vacas Nelore em anestro não preveniu a regressão prematura do CL.

6. Referências bibliográficas

ACOSTA, B., TARNAVSKY, G.K., PLATT, T.E., HAMERNIK, D.L., BROWN, J.L., SCHOENEMANN, H.M., REEVES, J.J., Nursing enhances the negative effect of estrogen on LH release in the cow. **J. Anim. Sci.**, v.57, p.1530-1536, 1983.

BINELLI, M., BUHI, W.C., THATCHER, W.W. Persistent dominant follicle alters pattern of oviductal secretory proteins from cows at estrus. **Biol. Reprod.**, v.61, p.127-134, 1999.

BORCHERT, K.M., FARIN, C.E., WASHBURN, S.P. Effect of synchronization with norgestomet on the integrity of oocytes from persistent follicles in beef cattle. **J. Anim. Sci.** v 77, p.2742-2748, 1999.

BRADEN, T.D., KING, M.E., ODDE, K.G., NISWENDER, G.D. Development of preovulatory follicles expected to form short-lived corpora lutea in beef cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.85, p.97-104, 1989.

CHANG, C.F., REEVES, J.J. Postpartum interval in beef cows shortened by enclomiphene. **J. Anim. Sci.**, v.65 (Suppl.1), p.217 (Abstract), 1987.

COOPER, D.A., INSKEEP, E.K. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and oxytocin during premature regression of corpora lutea in the postpartum beef cow. **J. Anim. Sci.**, v.67 (Suppl. 1), p.337 (Abstract), 1989.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S. Effect of the uterus on subnormal luteal function in anestrous beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.64, p.1506-1511, 1987.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., KEISLER, D.H., GARVERICK, H. Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin $F_{2\alpha}$ on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea. **J. Reprod. Fertil.**, v.87, p.619-630, 1989.

FIKE, K.E., DAY, M.L., INSKEEP, E.K., KINDER, J.E., LEWIS, P.E., SHORT, R.E., HAFS, H.D. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.2009-2015, 1997.

GARICA-WINDER, M., IMAKAWA, K., DAY, M.L., ZALESKY, D.D., KITTOCK, R.J., KINDER, J.E. Effect of suckling and ovariectomy on the control of luteinizing hormone secretion during the postpartum period in beef cows. **Biol. Reprod.**, v.31, p.771-778, 1984.

GARCIA-WINDER, M., LEWIS, P.E., DEEVER, D.R., SMITH, V.G., LEWIS, G.S., INSKEEP, E.K., Endocrine profiles associated with lifespan of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.62, p.1353-1362, 1986.

GARVERICK, H.A., PARFET, J.R., LEE, C.N., COPELIN, J.P., YOUNGQUIST, R.S., SMITH, M.F. Relationship of pre- and post-ovulatory gonadotropin secretion to subnormal luteal function in postpartum beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.104-111, 1988.

GARVERICK, H.A., ZOLLERS, W.G., SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. **Anim. Reprod. Sci.**, v.28, p.111-124, 1992.

HAUGHIAN, J.M., SARTORI, R., GUENTHER, J.N., GÜMEN, A., WILTBANK, M.C. Extending the postpartum anovulatory period in dairy cattle with estradiol cypionate. **J. Dairy Sci.**, v.85, p.3238-3249, 2002.

HENRICKS, D.M., LONG, J.T., HILL, J.R. The various effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ during various stages of estrous cycle of beef heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v.41, p.113-120, 1974.

LOPES, F.L., ARNOLD, D.R., WILLIAMS, J., PANCARCI, S.M., THATCHER, M.J., DROST, M., THATCHER, W.W. Use of estradiol cypionate for timed insemination. **J. Dairy Sci.**, v.83 (Suppl.1), p.910 (Abstract), 2000.

MANN, G.E., HARESIGN, W. Effect of oestradiol treatment during GnRH-induced ovulation on subsequent PGF_{2α} release and luteal life span in anoestrous ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, v.67, p.245-252, 2001.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Anim. Reprod. Sci.**, v.64, p.171-180, 2000.

PEREZ, G.C. **Uso do acetato de melengestrol (MGA), associado a PGF_{2α} e a GnRH ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para vacas nelores paridas.** Botucatu, SP, 2005, 79p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

PERRY, G.A., SMITH, M.F., GEARY, T.W. Ability of intravaginal progesterone inserts and melengestrol acetate to induce estrous cycles in postpartum beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.82, p.695–704, 2004.

PETERS, M.W., PURSLEY, J.R. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function and fertility in dairy cows. **Theriogenology**, v.60, p.1197-1204, 2003.

RHODES, F.M., BURKE, C.R., CLARK, B.A., DAY, M.L., MACMILLAN, K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in post-partum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Anim. Reprod. Sci.**, v.69, p.139-150, 2002.

SÁ FILHO, O.G., DIAS, C.C., VASCONCELOS, J.L.M. Effect of progesterone or 17 β -estradiol on luteal lifespan in anoestrous Nelore cows. **J. Anim. Sci.**, v.84 (Suppl. 1), p.207 (Abstract), 2006.

SHEFFEL, C.E., PRATT, B.R., FERREL, W.L., INSKEEP, E.K. Induced corpora lutea in postpartum cows. II. Effects of treatments with progestogen and gonadotropins. **J. Anim. Sci.**, v.54, p.830-836, 1982.

SOUZA, A.H., CUNHA, A.P., CARAVIELLO, D.Z., WILTBANK, M.C. Profiles of circulating estradiol-17 β after different estrogen treatments in lactating dairy cows. **Anim. Reprod.**, v.02, p.224-232, 2005.

TAPONEN, J., HJERPPE, P., KOPRA, E., RODRÍGUEZ-MATÍNEZ, H., KATILA, T., KINDHAL, H. Premature prostaglandin F_{2 α} secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. **Theriogenology**, v.60, p.379-393, 2003.

TROXEL, T.R., KESLER, D.J. Ability of indomethacin to alter prostaglandin metabolite concentrations and to enhance the function of corpora lutea induced in postpartum suckled beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.59, p.177, 1984.

VASCONCELOS, J.L.M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H.N., GUENTHER, J.N., WILTBANK, M. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, p.307–314, 2001.

VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., SANTOS, R.M., SILVA, A.T.N., MACIEL, A.B.B. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrous Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. **J. Anim. Sci.**, v. 82 (Suppl. 1), p.67 (Abstract), 2004.

ZALESKY, D.D., FORREST, D.W., McARTHUR, N.H., WILSON, J.M., MORRIS, D.L., HARMS, P.G. Suckling inhibits release of luteinizing hormone-releasing hormone from the bovine median eminence following ovariectomy. **J. Anim. Sci.**, v.68, p.444-448, 1990.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S., OTTOBRE, J.S., SILCOX, R.W., COPELIN, J.P., SMITH, M.F. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of post-partum beef cows expected to have short or normal luteal phases. **Biol. Reprod.**, v.44, p.522-526, 1991.

CAPÍTULO 4

**EFEITO DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO À PROGESTERONA EXÓGENA
(TRÊS VS. SEIS DIAS) ANTES DA INDUÇÃO DA OVULAÇÃO NA
OCORRÊNCIA DE LUTEÓLISE PREMATURA EM VACAS NELORE EM
ANESTRO.**

EFEITO DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO À PROGESTERONA EXÓGENA (TRÊS VS. SEIS DIAS) ANTES DA INDUÇÃO DA OVULAÇÃO NA OCORRÊNCIA DE LUTEÓLISE PREMATURA EM VACAS NELORE EM ANESTRO.

RESUMO – O tratamento de vacas em anestro com progesterona por seis dias antes da indução da ovulação tem sido demonstrado como uma estratégia eficiente na prevenção de luteólise prematura. O objetivo deste experimento foi avaliar se o pré-tratamento com progesterona exógena por três dias apresenta a mesma efetividade que o pré-tratamento por seis dias na prevenção de ciclos curtos. Cento e nove vacas Nelore em anestro (avaliadas por dois exames ultrassonográficos oito dias aparte; 30 a 60 dias pós-parto) foram aleatoriamente designadas a receber um dos dois tratamentos: Grupo Controle - Dispositivo intravaginal de progesterona por seis dias seguido por remoção de bezerros (RB; 48 horas); Grupo 3d - Dispositivo intravaginal de progesterona por três dias seguido por RB. Ao final da RB (dia 0), todas as vacas receberam uma injeção i.m. de 100µg de GnRH. A ovulação foi avaliada através de exames ultrassonográficos nos dias 0 e 2 e somente as vacas que ovularam foram utilizadas no estudo. As concentrações séricas de progesterona foram medidas por radioimunoensaio em amostras de sangue colhidas nos dias 0, 5, 7 e 9 para avaliação da função luteal. As variáveis binomiais foram analisadas por regressão logística (PROC LOGISTIC) e as variáveis contínuas foram analisadas pelo PROC MIXED do SAS. A taxa de ovulação foi menor ($P < 0,01$) no Grupo 3d (33,3%, 18/54) em relação ao Controle (65,4%; 36/55). A incidência de ciclos curtos não diferiu ($P > 0,1$) entre os grupos: 5,5% (2/36) para o Grupo Controle e 5,5% (1/18) para o Grupo 3d. Similarmente, as

concentrações séricas médias de progesterona nos dias 0, 5, 7 e 9 não diferiram entre os grupos ($0,3 \pm 0,4$ ng/mL vs. $0,3 \pm 0,5$ ng/mL; $2,1 \pm 0,4$ ng/mL vs. $1,8 \pm 0,5$ ng/mL; $2,9 \pm 0,4$ ng/mL vs. $2,8 \pm 0,5$ ng/mL; $3,6 \pm 0,4$ ng/mL vs. $3,4 \pm 0,5$ ng/mL para vacas dos Grupos Controle e 3d, respectivamente; $P > 0,1$). Em ambos os tratamentos, a concentração sérica média de progesterona elevou-se gradualmente entre os dias 0, 5, 7 e 9 ($P < 0,01$), indicando desenvolvimento normal do corpo lúteo neste período. Conclui-se que o tratamento com progesterona por três dias antes da indução da ovulação em vacas em anestro garantiu duração normal ao subsequente corpo lúteo.

Palavras-chave: Anestro, ciclo curto, progesterona

EFFECT OF LENGTH OF TREATMENT WITH EXOGENOUS PROGESTERONE (THREE VS. SIX DAYS) PRIOR TO INDUCTION OF OVULATION ON OCCURRENCE OF PREMATURE LUTEOLYSIS IN ANESTROUS NELORE COWS.

ABSTRACT – Treatment of anestrous cows with progesterone during six days prior to induction of ovulation has been shown as an efficient strategy preventing premature luteolysis. The aim of this trial was to evaluate if a three days pre-treatment with exogenous progesterone has the same effectiveness than a six days pre-treatment on prevention of short cycles. Anestrous Nelore cows (evaluated by two ultrasound exams eight days apart; n=109; 30-60 days post-partum) were randomly assigned to receive either one of the following treatments: Control Group – Intravaginal progesterone device for six days followed by calf removal (CR; 48 hours); 3d Group – Intravaginal progesterone device for three days followed by CR. At end of CR (day 0), all cows received an 100 µg i.m. GnRH injection. Ovulation was evaluated by ultrasound exams on days 0 and 2, and only cows ovulating were used for the study. Blood samples were collected on days 0, 5, 7 and 9 to evaluate luteal lifespan, through serum progesterone analysis by radioimmunoassay. Binomial data were evaluated by logistic regression (PROC LOGISTIC) and continuous data by PROC MIXED of SAS. Ovulation rate was lower ($P<0.01$) in 3d Group (33.3%, 18/54) than in Control (65.4%; 36/55). Incidence of short cycles did not differ ($P>0.1$) between groups: 5.5% (2/36) for Control and 5.5% (1/18) for 3d Group. Similarly, mean serum progesterone concentrations on days 0, 5, 7 and 9 did not differ between groups (0.3 ± 0.4 ng/mL vs. 0.3 ± 0.5 ng/mL; 2.1 ± 0.4 ng/mL vs. 1.8 ± 0.5 ng/mL; 2.9 ± 0.4 ng/mL vs. 2.8 ± 0.5 ng/mL; 3.6 ± 0.4 ng/mL vs.

3.4±0.5 ng/mL for cows of Control and 3d Groups, respectively; $P>0.1$). In both treatments, mean serum progesterone concentration increased gradually on days 0, 5, 7 e 9 ($P<0.01$), indicating normal development of corpus luteum. In conclusion, treatment with progesterone for three days prior to induction of ovulation in anestrous Nelore cows warranted normal lifespan of the subsequent corpus luteum.

Palavras-chave: Anestrous, short cycle, progesterone

1. Introdução

A duração do primeiro ciclo estral pós-parto é geralmente reduzida (GARVERICK et al., 1992) devido a uma secreção prematura de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo endométrio (TROXEL & KESLER, 1984; COPELIN et al., 1987; COPELIN et al., 1989). Em estudos prévios, verificou-se que em aproximadamente 80% dos casos, a primeira fase luteal pós-parto é de curta duração (STAGG et al., 1998; SÁ FILHO et al., 2006).

A etiologia da luteólise precoce no primeiro ciclo estral pós-parto não está esclarecida, entretanto duas hipóteses foram propostas: 1) Ausência de pré-exposição à progesterona (RAMIREZ-GODINEZ et al., 1981; SHEFFEL et al., 1982) e 2) Baixa concentração de estradiol (E_2) pré-ovulatório (MANN & LAMMING, 2000). O pré-tratamento com progesterona exógena reduziu a incidência de luteólise prematura em vacas pós-parto de 79,2% para 13,5% (SÁ FILHO et al., 2006). Entretanto, a mesma eficiência não foi observada após tratamentos com 17β -estradiol (SÁ FILHO et al., 2006), benzoato de estradiol (FIKE et al., 1997) e cipionato de estradiol (SÁ FILHO & VASCONCELOS, 2006).

Nesse contexto, dispositivos liberadores de progesterona ou progestágenos têm sido amplamente utilizados em programas de sincronização de cio e ovulação para vacas pós-parto, em que os animais são tratados por seis a nove dias para permitir controle adequado do desenvolvimento folicular e evitar ciclos curtos (VILELA, 2004; VASCONCELOS et al., 2004; MENEGHETTI et al., 2005). Em trabalho recente, vacas foram tratadas com progesterona por cinco dias com resultado satisfatório (BRIDGES et al., 2005).

Não se encontraram, na literatura, trabalhos em que se estudaram especificamente os efeitos de diferentes durações de pré-exposição à

progesterona ou progestágenos na incidência de ciclos curtos. Sob uma perspectiva prática, a hipótese desse experimento é que a redução no tempo de pré-exposição à progesterona (três dias) apresenta a mesma eficácia que o pré-tratamento por seis dias na prevenção da luteólise precoce no primeiro ciclo estral em vacas pós-parto.

2. Materiais e métodos

2.1. Animais e Tratamentos

Foram utilizadas 109 vacas Nelore multíparas paridas (30 a 60 dias pós-parto) em anestro, mantidas a pasto (*Brachiaria humidicola*) e pertencentes à Pecuária Novo Horizonte, localizada no município de Coxim-MS. A condição de anestro foi determinada por exames ultrassonográficos e das concentrações séricas de P_4 conforme explicado a seguir. As vacas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos (Figura 1):

Grupo Controle (n=55): Dia -8: inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil); Dia -2: retirada do dispositivo intravaginal de progesterona + remoção de bezerros (RB) por 48 horas; Dia 0: aplicação de 100 µg de GnRH (Gonadorelina, Fertagyl[®], Intervet, Brasil) via intramuscular (1 mL).

Grupo 3d (n=54): Dia -5: inserção de dispositivo intravaginal de progesterona; Dia -2: retirada do dispositivo intravaginal de progesterona + RB por 48 horas; Dia 0: aplicação de 100 µg de GnRH via intramuscular.

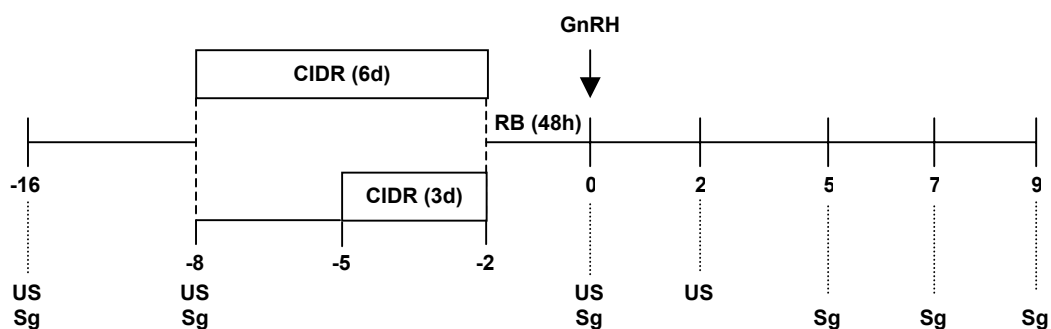


FIGURA 1. Diagrama esquemático do delineamento experimental. US, ultrassonografia ovariana; Sg, colheita de sangue; RB (48h), remoção de bezerros por 48 horas; GnRH, gonadorelina. Cento e nove vacas em anestro (avaliadas por ultrassonografia ovariana nos dias -16 e -8) foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos (Controle e 3d). A ovulação em resposta à injeção de GnRH foi avaliada por dois exames ultrassonográficos (d0 e d2). Apenas vacas que ovularam foram utilizadas para colheita de sangue nos dias 0, 5, 7 e 9. Coxim-MS, 2006.

2.2. Remoção temporária de bezerros

Durante os dias -2 e 0 (48 horas) os bezerros foram separados das vacas em currais de forma a não haver contato físico entre ambos. Nesse período foi fornecido água à vontade para os bezerros. O objetivo da remoção temporária de bezerros foi de aumentar a taxa de ovulação à aplicação de GnRH.

2.3. Ultrassonografia das estruturas ovarianas

Os exames ultrassonográficos foram realizados com aparelho Aloka, modelo SSD-500 com transdutor linear retal de 7,5 MHz, para determinar a ciclicidade antes do início dos tratamentos e a ovulação em resposta à aplicação de GnRH.

A avaliação da ciclicidade foi realizada nos dias -16 e -8, sendo considerados em anestro os animais que não apresentaram tecido luteal em ambos exames. Além disso, amostras de sangue colhidas nesses dias para dosagem das concentrações séricas de P_4 confirmaram a condição de anestro, como descrito no ítem a seguir. A ovulação foi determinada pela comparação das imagens ultrassonográficas no dia 0 e no dia 2. Considerou-se ovulação quando houve presença de folículo >7 mm em um dos ovários no dia 0 e ausência do mesmo no dia 2.

2.4. Colheita e análise de sangue

As amostras de sangue foram colhidas da veia coccígea em tubos tipo vacutainer sem anticoagulante e armazenadas por 24 horas em refrigerador a 4°C , quando então foram centrifugados a $1500 \times g$ por 15 minutos a 25°C . O soro foi separado e armazenado a -20°C até a realização das dosagens.

2.4.1. Dosagem de Progesterona

As amostras de sangue para dosagem de progesterona para confirmar que as vacas estavam em anestro foram colhidas nos dias -16 e -8. As vacas previamente avaliadas por ultrassonografia que apresentaram concentrações séricas de P_4 inferiores a $0,5 \text{ ng/mL}$ em ambos os dias foram consideradas em anestro.

Nos animais que ovularam, as amostras de sangue para dosagem de progesterona foram colhidas nos dias 0, 5, 7 e 9. As dosagens de progesterona foram realizadas por radioimunoensaio, utilizando-se kits comerciais da DPC

(Coat-a-count[®], Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) e procedimentos de acordo com as recomendações do fabricante. A sensibilidade do ensaio foi 0,01 ng/mL e o coeficiente de variação intra-ensaio foi 11,25%.

Foi considerada a ocorrência de ciclos curtos nos animais que, após o dia 5, apresentaram concentração sérica de P₄ decrescente e menor que 0,5 ng/mL.

2.5. Análise estatística

As variáveis dependentes contínuas foram analisadas por análise de variância dos quadrados mínimos utilizando-se o procedimento MIXED do programa SAS. Para cada variável, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e a homogeneidade das variâncias (teste F máximo). Quando os dados não obedeceram às premissas para a análise, foram submetidos à transformação logarítmica e re-analisados. As médias ajustadas foram re-expressas na escala original.

A variável dependente diâmetro do folículo ovulatório foi analisada após transformação logarítmica. Foi incluído no modelo o efeito de duração do pré-tratamento com P₄. Escore de condição corporal foi incluído como covariável.

A variável dependente concentração sérica de P₄ foi analisada após transformação logarítmica. Foram incluídos no modelo os efeitos fixos de dia, duração do pré-tratamento com P₄ e interação, e o efeito aleatório de vaca dentro de cada duração de pré-tratamento com P₄. Diâmetro do folículo ovulatório e escore de condição corporal foram incluídos como covariáveis.

Admitiu-se para as medidas repetidas um efeito auto-regressivo de primeira ordem.

As variáveis dependentes binomiais taxa de ovulação e porcentagem de ciclos curtos foram analisados por meio do procedimento LOGISTIC do programa SAS. Em ambos os casos, o modelo incluiu o efeito de tratamento. Escore de condição corporal foi incluído como covariável.

3. Resultados

3.1. Diâmetro do folículo ovulatório e taxa de ovulação

As vacas pré-tratadas com P₄ por três dias tenderam a apresentar menor diâmetro do folículo dominante no momento da aplicação de GnRH (9,51±1,02 mm vs. 10,01±1,02 mm para as vacas pré-tratadas por três vs. seis dias, respectivamente; P<0,1).

A taxa de ovulação foi influenciada pelo diâmetro do folículo dominante no momento da injeção de GnRH (P<0,01; Figura 2) e pela duração do tratamento com o dispositivo intravaginal de P₄ (P<0,05), sendo menor nas vacas pré-tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ por três dias (Tabela 1).

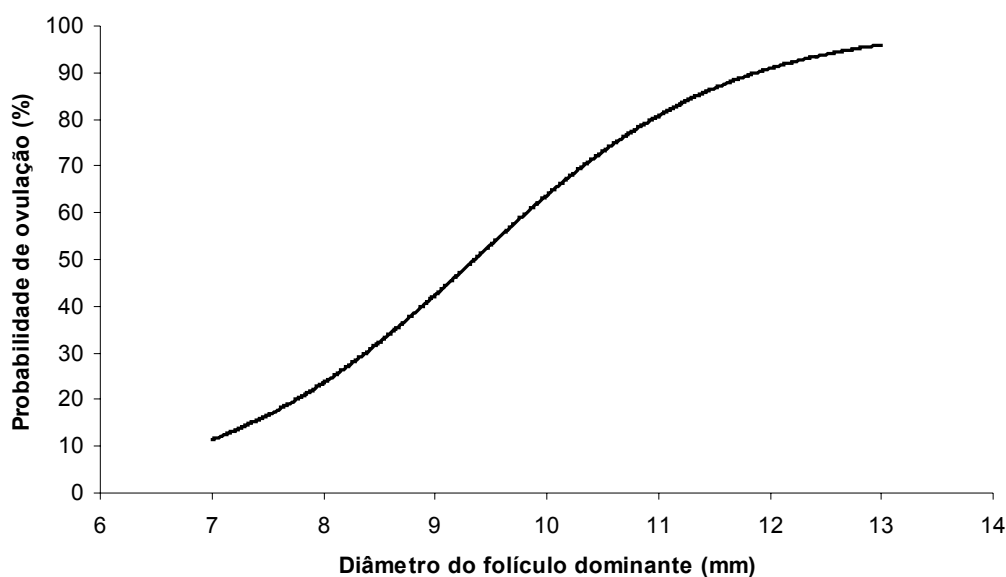


FIGURA 2. Efeito do diâmetro do folículo dominante sobre a probabilidade de ovulação ao estímulo com GnRH ($P < 0,01$). Coxim-MS, 2006.

TABELA 1. Efeito da duração do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (três vs. seis dias) na taxa de ovulação ao estímulo com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2006.

Tratamento	Taxa de ovulação	Risco de ovulação		
		R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Controle (seis dias)	65,45% (36/55)	Referência	Referência	N.A.
3d (três dias)	33,33% (18/54)	0,26	0,12-0,57	<0,05

R.P.A. = Razão de proporções ajustada; I.C. = Intervalo de confiança; N.A. = Não aplicável.

3.2. Características da fase luteal

Dois diferentes perfis de P_4 sérica foram observados após a indução da ovulação com GnRH (Figura 2). As vacas que apresentaram fase luteal de duração normal ($n=51$) apresentaram elevação gradativa ($P < 0,0001$) nas concentrações séricas de P_4 ao longo dos dias 0, 5, 7 e 9. Nas vacas que

apresentaram luteólise precoce (n=3), as concentrações séricas de P₄ nos dias 0 e 5 foram similares às das vacas que apresentaram fase luteal de duração normal ($0,35 \pm 0,13$ ng/mL vs. $0,27 \pm 0,02$ ng/mL no dia 0 e $1,83 \pm 0,22$ ng/mL vs. $2,01 \pm 0,12$ ng/mL no dia 5, para vacas que apresentaram luteólise precoce e fase luteal normal, respectivamente; $P > 0,1$). Entretanto, nas vacas cujo CL regrediu prematuramente, houve decréscimo entre os dias 5 e 7 (n=1) ou entre os dias 7 e 9 (n=2) nas concentrações séricas de P₄.

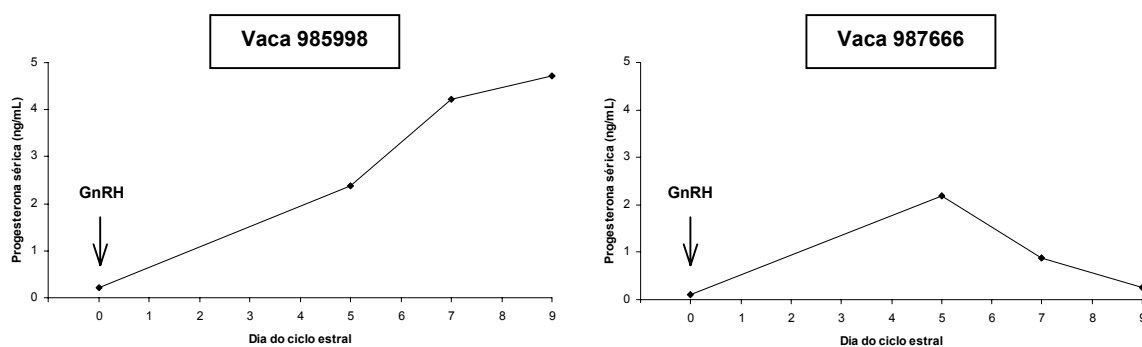


FIGURA 3. Exemplos de perfis de progesterona sérica observados após a indução da ovulação em vacas Nelore em anestro com remoção de bezerros + GnRH. A) Fase luteal de duração normal (vaca 985998); B) Luteólise prematura (vaca 987666). Coxim-MS, 2006.

Na Figura 4 estão ilustradas, para cada um dos tratamentos, as concentrações séricas médias de P₄ nos dias 0, 5, 7 e 9 das vacas que apresentaram os dois diferentes perfis de P₄ sérica. Não houve efeito da duração do pré-tratamento com dispositivo intravaginal de P₄ sobre a porcentagem de ciclo curto (Tabela 2).

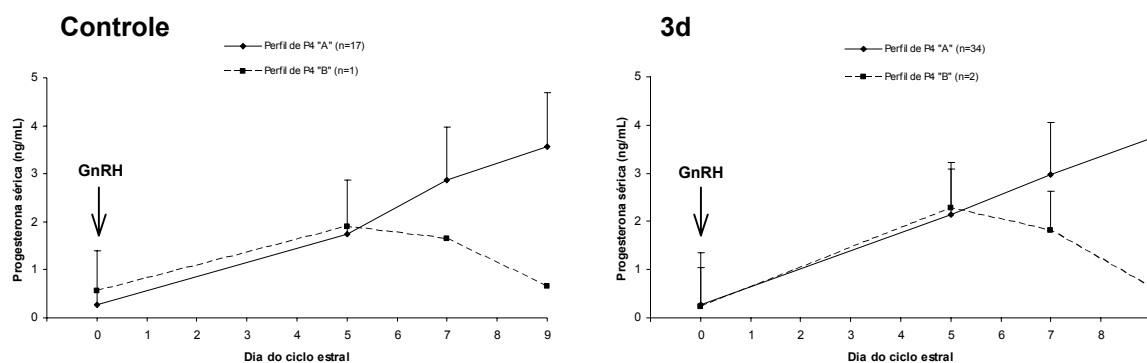


FIGURA 4: Perfis de concentrações séricas de progesterona (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro. Perfil de P4 "A": Fase luteal de duração normal; Perfil de P4 "B": Luteólise prematura. Coxim-MS, 2006.

TABELA 2. Efeito da duração do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (três vs. seis dias) na porcentagem de ciclo curto após indução da ovulação com GnRH em vacas Nelore em anestro. Coxim-MS, 2006.

Tratamento	% L.P.	Risco de luteólise prematura		
		R.P.A.	I.C. (95%)	Valor de P
Controle (seis dias)	5,55% (2/36)	Referência	Referência	N.A.
3d (três dias)	5,55% (1/18)	1,00	0,19-5,18	1,0

% L.P. = Porcentagem de luteólise prematura; R.P.A. = Razão de proporções ajustada; I.C. = Intervalo de confiança; N.A. = Não aplicável.

Observou-se efeito de dia sobre as concentrações séricas de P_4 após a ovulação ($P < 0,01$), de forma que as concentrações séricas médias de P_4 se elevaram gradativamente entre os dias 0, 5, 7 e 9. Não se verificaram efeitos da duração do tratamento com P_4 e da interação duração do tratamento com P_4 x dia nas concentrações séricas de P_4 após a ovulação (Figura 5). Assim, a

duração do pré-tratamento com P₄ não afetou a porcentagem vacas que apresentaram regressão prematura do CL. (Tabela 2).

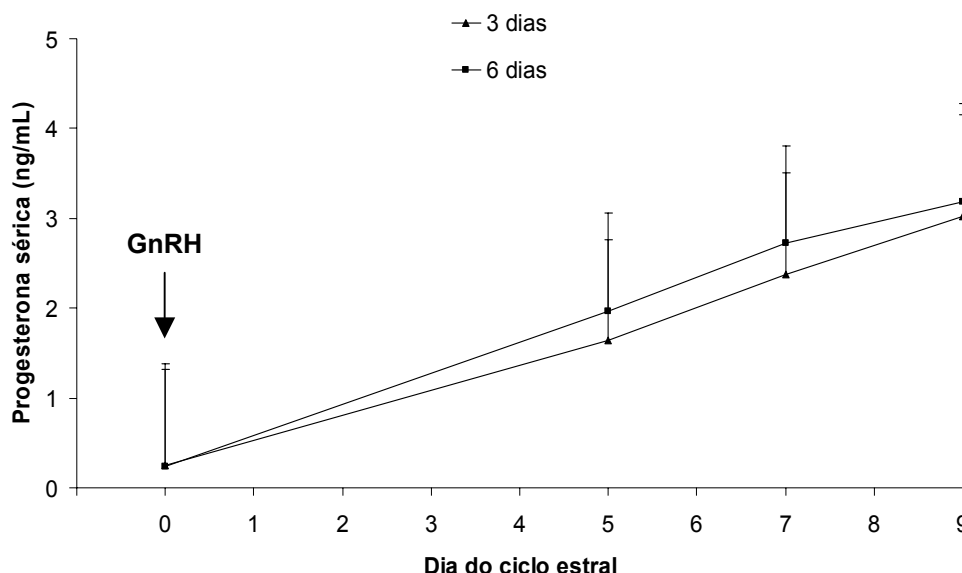


FIGURA 5. Concentrações séricas de P₄ (média dos quadrados mínimos $\pm$ EPM) após indução da ovulação em vacas em anestro tratadas pré-tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ por três (▲) ou seis (■) dias. Coxim-MS, 2006.

4. Discussão

O diâmetro do folículo dominante influenciou a taxa de ovulação (Figura 2), similarmente aos resultados discutidos no Capítulo 2. Meneghetti et al. (2001), estudando vacas Nelore pós-parto, verificaram que o diâmetro do folículo dominante foi maior nas vacas que ovularam ao estímulo com GnRH (10,63 mm vs. 9,56 mm para vacas que ovularam e não ovularam, respectivamente). A aquisição de capacidade ovulatória pelo folículo dominante ocorre logo após a divergência, entretanto nesse momento é necessária uma alta dose de LH para que a ovulação seja induzida (SARTORI et al., 2001). Conforme o folículo dominante cresce, eleva-se a expressão gênica de receptores de LH nas células da granulosa (BAO et al., 1997) e a atividade do

AMPC em resposta ao LH (JOLLY et al., 1994), resultando em maior capacidade ovulatória (SARTORI et al., 2001). Isso explica a maior probabilidade de ovulação observada nas vacas com maiores folículos.

A tendência a menor diâmetro folicular médio verificado nas vacas tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ por três dias foi provavelmente a causa da menor taxa de ovulação observada nesse grupo. De acordo com Santos et al. (2004), nos primeiros três dias após inserção do dispositivo intravaginal de P₄ CIDR[®], as concentrações plasmáticas de P₄ se situam acima de 3,0 ng/mL. Em vacas ovariectomizadas, o tratamento com P₄ resultou em inibição drástica, porém curta (36 horas), da secreção de LH, sem efeitos sobre a secreção de FSH (BURKE et al., 1996). O desenvolvimento folicular é inicialmente suportado pelo FSH e passa a ter maior dependência do LH após a divergência (FINDLAY et al., 1996; GONG et al., 1996). A P₄ proveniente do CIDR[®] acima de 3,0 ng/mL pode ter suprimido a secreção de LH (STOCK & FORTUNE, 1993), de forma que os folículos que já haviam passado da fase de divergência entraram em atresia. Nesse caso, é possível que, nas vacas que possuíam um folículo dominante no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄, tenha havido atresia folicular, com subsequente novo recrutamento. Nas vacas tratadas com CIDR[®] por três dias, a indução da ovulação aconteceu cinco dias após a inserção dos dispositivos, período que pode ter sido insuficiente para o folículo da nova onda recrutada crescer o suficiente e possuir capacidade ovulatória. Essa possibilidade justificaria a tendência a menor diâmetro folicular e menor taxa de ovulação nas vacas do Grupo 3d. Já nas vacas do Grupo Controle, a indução da ovulação ocorreu oito dias após a inserção do dispositivo intravaginal de P₄, ou seja, houve maior

tempo para o folículo da nova onda recrutada crescer, caso tenha acontecido atresia do folículo dominante.

Estudando o desempenho reprodutivo de vacas em anestro nos primeiros 25 dias de estação de monta com inseminação artificial após detecção de cio, Vasconcelos et al. (2004) obtiveram taxa de prenhez de 28,6% para vacas tratadas com dispositivo intravaginal de P_4 (sete dias) associado a RB. Nesse sentido, o tratamento com dispositivo intravaginal de P_4 por três dias associado à RB poderia ser uma alternativa mais econômica de sincronização para inseminação após observação de cio em vacas em anestro. A baixa taxa de ovulação observada nas vacas tratadas com dispositivo intravaginal de P_4 por três dias, entretanto, pode limitar o uso desse tratamento como estratégia em programas de inseminação artificial. Havia expectativa de que o dispositivo intravaginal de P_4 mantivesse crescendo os folículos que já haviam passado da fase de divergência, o que possivelmente não ocorreu. Caso isso tivesse sido verificado, novas estratégias de sincronização ovulação poderiam ser desenvolvidas, com alta taxa de ovulação e menor custo.

Após a ovulação, em 94,4% das vacas (51/54) houve elevação gradativa nas concentrações séricas médias de P_4 ao longo dos dias 0, 5, 7 e 9, respectivamente, indicando desenvolvimento normal do CL. Nas demais 5,6% (3/51) houve elevação nas concentrações séricas médias de P_4 entre os dias 0 e 5, seguido por decréscimo acentuado nos dias seguintes, indicando que a luteólise ocorreu após o dia 5 (Figuras 3 e 4). Considerou-se, portanto, que essas vacas apresentaram regressão prematura do CL.

Trabalhos estudando luteólise prematura mostraram que a secreção de $PGF_{2\alpha}$ se inicia por volta do sexto dia após a ovulação (TROXEL & KESLER,

1984; COOPER & INSKEEP, 1989; COPELIN et al., 1989; ZOLLERS et al., 1991; TAPONEN et al., 2003). É interessante observar que, ao contrário dos resultados discutidos no Capítulo 2, em que a luteólise ocorreu sempre entre os dias 5 e 7, no presente experimento, 2 das 3 vacas que apresentaram ciclo curto apresentaram concentrações séricas de P_4 abaixo de 0,5 ng/mL somente no dia 9. Através da análise dos perfis séricos de P_4 desses animais, entretanto, observou-se que já no dia 7 houve um pequeno decréscimo nas concentrações séricas de P_4 (Figura 4), indicando que possivelmente o processo de luteólise já havia se iniciado.

As concentrações séricas de P_4 no dia 5 não diferiram entre vacas cujo CL regrediu prematuramente e vacas cujo CL apresentou duração normal, concordando com Copelin et al. (1987), Copelin et al. (1989) e Taponen et al. (2003). Esses dados suportam a idéia de que ciclos curtos não estão relacionados a deficiências funcionais do CL, mas sim à secreção prematura de $PGF_{2\alpha}$ pelo endométrio (COPELIN et al., 1987). De fato, Braden et al. (1989) não observaram alterações no peso do CL, concentrações luteais de P_4 , concentrações de receptores de LH, número de células luteais, porcentagem de células luteais grandes e concentração luteal de receptores de $PGF_{2\alpha}$, no dia 5 pós-ovulação em vacas com expectativa de apresentarem ciclo curto.

Através das Figuras 4 e 5 e da Tabela 2 é possível observar que o tratamento com P_4 por três dias foi similar ao tratamento por seis dias na prevenção de regressão prematura do CL. Não se encontraram na literatura relatos de tratamentos para evitar ciclo curto com a utilização de P_4 ou progestágenos com duração menor que cinco dias. Cooper et al. (1991) e Fike et al. (1997), demonstraram que o pré-tratamento de vacas em anestro com P_4

ou progestágenos, por no mínimo sete dias, reduz a ocorrência de ciclos curtos após a indução da ovulação. Bridges et al. (2005) e Sá Filho et al., (2006) utilizaram, com sucesso, estratégias com P_4 por cinco e seis dias, respectivamente, para evitar ciclo curto. O mecanismo pelo qual a exposição à P_4 antes da ovulação evita a regressão prematura do CL ainda não está esclarecido. Shaham-Albalancy et al. (2001) demonstraram que a redução na concentração circulante de P_4 em um ciclo estral resulta em maior produção de $PGF_{2\alpha}$ no ciclo estral subsequente. Zollers et al. (1993) observaram redução na quantidade de OTR no endométrio de vacas pós-parto após tratamento com implante de norgestomet por nove dias, sugerindo um efeito similar ao da P_4 , já que o norgestomet atua através de ligação a receptores de P_4 (MOFFATT et al., 1993). Adicionalmente, explantes endometriais obtidos a partir de vacas em anestro pré-tratadas com norgestomet secretaram, *in vitro*, menores concentrações de $PGF_{2\alpha}$ em relação aos obtidos de vacas não tratadas (ZOLLERS et al., 1991). Portanto, mesmo não conhecido o mecanismo exato de atuação da P_4 , é consenso que o mesmo envolve inibição da secreção de $PGF_{2\alpha}$ pelo endométrio possivelmente através da redução das concentrações de OTR endometriais.

Ainda não é conhecido se a ação da P_4 sobre receptores celulares de E_2 , P_4 e ocitocina é dependente de dose, tempo de exposição ou de ambos. Em vacas císticas, o tratamento com P_4 exógena por três dias foi similar ao tratamento por sete dias em restabelecer a capacidade do eixo hipotálamo-hipófise de secretar pico de GnRH/LH em resposta ao estradiol, o que não ocorreu ao tratamento por apenas um dia (GÜMEN & WILTBANK, 2005). Esses dados sugerem um possível efeito tempo-dependente, sendo necessário

mais que um dia de exposição à P_4 para solucionar essa condição anovulatória. No caso da luteólise prematura, possivelmente há também um efeito tempo-dependente, sendo necessário um tempo mínimo de pré-exposição à P_4 para garantir duração normal do CL. Com os resultados do presente experimento se sugere que, se um componente tempo-dependente realmente existe, a exposição à P_4 por três dias já é suficiente para evitar a luteólise prematura.

Independente do mecanismo pelo qual a P_4 evita a regressão prematura do CL, é fato que associação de P_4 /progestágenos a programas de sincronização de cio e ovulação para vacas em anestro proporciona maiores taxas de concepção à primeira inseminação (VASCONCELOS et al., 2004; VILELA, 2004; PEREZ, 2005). Adicionalmente, os resultados desse experimento e de outros (COOPER et al., 1991; ZOLLERS et al., 1993; FIKE et al., 1997; VASCONCELOS et al., 2004; BRIDGES et al., 2005; SÁ FILHO et al., 2006) confirmam que o tratamento com P_4 previamente à indução da ovulação em vacas em anestro é altamente eficiente em prevenir luteólise precoce.

5. Conclusão

Com base nos resultados desse experimento, conclui-se:

- 1) Apesar de resultar em menor taxa de ovulação, em vacas em anestro, o pré-tratamento com P₄ por três dias previamente à indução da ovulação apresentou eficácia similar ao pré-tratamento por seis dias na prevenção da luteólise precoce.

6. Referências bibliográficas

BAO, B., GARVERICK, H.A., SMITH, G.W., SMITH, M.F., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. **Biol. Reprod.**, v.56, p.1158-1168, 1997.

BRADEN, T.D., KING, M.E., ODDE, K.G., NISWENDER, G.D. Development of preovulatory follicles expected to form short-lived corpora lutea in beef cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.85, p.97-104, 1989.

BRIDGES, G.A., GASSER, C.L., GRUM, D.E., MUSSARD, M.L., HESLER, L.A., DAY, M.L. Influence of reducing the interval between GnRH and PGF₂ to 5 days on reproductive performance of cows synchronized with GnRH-CIDR-PGF₂ programs. **J. Anim. Sci.**, v.83 (Suppl.1), p.169 (Abstract), 2005.

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

COOPER, D.A., INSKEEP, E.K. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and oxytocin during premature regression of corpora lutea in the postpartum beef cow. **J. Anim. Sci.**, v.67 (Suppl. 1), p.337 (Abstract), 1989.

COOPER, D.A., CARVER, D.A., VILLENEUVU, P., SILVIA, W.J., INSKEEP, E.K. Effects of progestogen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. **J. Reprod. Fertil.** v.91, p.411-421, 1991.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S. Effect of the uterus on subnormal luteal function in anestrous beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.64, p.1506-1511, 1987.

COPELIN, J.P., SMITH, M.F., KEISLER, D.H., GARVERICK, H. Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin $F_{2\alpha}$ on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea. **J. Reprod. Fertil.**, v.87, p.619-630, 1989.

FIKE, K.E., DAY, M.L., INSKEEP, E.K., KINDER, J.E., LEWIS, P.E., SHORT, R.E., HAFS, H.D. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.2009-2015, 1997.

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

GARVERICK, H.A., ZOLLERS, W.G., SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. **Anim. Reprod. Sci.**, v.28, p.111-124, 1992.

GONG, J.G., CAMPBELL, T.A., BRAMLEY, T.A., GUTIERREZ, C.G., PETERS, A.R., WEBB, R. Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicular development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. **Biol. Reprod.**, v.55, p.68-74, 1996.

GÜMEN, A., WILTBANK, M.C. Length of progesterone exposure needed to resolve large follicle anovular condition in dairy cows. **Theriogenology**, v.63, p.202-218, 2005.

JOLLY, P.D., TISDALL, D.J., HEATH, D.A., LUN, S., MCNATTY, K.P. Apoptosis in bovine granulosa cells in relation to steroid synthesis, cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate response to follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and follicular atresia. **Biol. Reprod.**, v.51, p.934-944, 1994.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Anim. Reprod. Sci.**, v.64, p.171-180, 2000.

MENEGHETTI, M., VILELA, E.R., VASCONCELOS, J.L.M., et al. Efeito da remoção de bezerros no folículo dominante e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas nelore em anestro. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.25, p.286-288, 2001.

MENEGHETTI, M., LOSI, T.C., MARTINS JR., A.P., VILELA, E.R., VASCONCELOS J.L.M. Uso de protocolo de IATF associado a diagnostico precoce de gestação e ressincronização como estratégia para maximizar o número de vacas gestantes por IA em estação de monta reduzida. **A Hora Veterinária**, v. 147, p. 25-27, 2005.

MOFFATT, R.J., ZOLLERS, W.G., WELSHONS, W.V., KIEBORZ, M.A. Basis of norgestomet action as a progestogen in cattle. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v.10, p.21-30, 1993.

PEREZ, G.C. **Uso do acetato de melengestrol (MGA), associado a PGF_{2α} e a GnRH ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para vacas nelores paridas.** Botucatu, SP, 2005, 79p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

RAMIREZ-GODINEZ, J. A., KIRACOFÉ, G. H., MCKEE, R. M., SCHALLES, R. R., KITOK, R. J. Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet. **Theriogenology**, v.15, p.613-623, 1981.

SÁ FILHO, O.G., DIAS, C.C., VASCONCELOS, J.L.M. Effect of progesterone and/or 17β-estradiol treatment on subsequent luteal lifespan in anoestrous Nelore cows. **J. Anim. Sci.**, v.84 (Suppl. 1), p.207 (Abstract), 2006.

SÁ FILHO, O.G., VASCONCELOS, J.L.M. Effect of oestradiol cypionate before induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anoestrous Nelore cows. **J. Anim. Sci.**, v.84 (Suppl. 1), p.207 (Abstract), 2006.

SANTOS, R.M., VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., MACIEL, A.B.B., SÁ FILHO, O.G. Serum progesterone concentrations in Nelore x Angus heifers treated with CIDR 1.38g or CIDR 1.9g device. **J. Dairy Sci.**, v.83 (Suppl.1), p.214 (Abstract), 2004.

SARTORI, R., FRICKE, P.M., FERREIRA, J.C.P., GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biol. Reprod.**, v.65, p.1403-1409, 2001.

SHAHAM-ALBALANCY, A., FOLMAN, Y., KAIM, M., ROSENBERG, M., WOLFENSON, D. Delayed effect of progesterone concentration on bovine uterine PGF₂ α secretion in the subsequent oestrous cycle. **Reproduction**, v.122, p.643-648, 2001.

SHEFFEL, C.E., PRATT, B.R., FERREL, W.L., INSKEEP, E.K. Induced corpora lutea in postpartum cows. II. Effects of treatments with progestogen and gonadotropins. **J. Anim. Sci.**, v.54, p.830-836, 1982.

STAGG, K.K., SPICER, L.J., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F., DISKIN, M.G. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. **Biol. Reprod.**, v.59, p.777-783, 1998.

STOCK, A.E., FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v.132, p.1108-1114, 1993.

TAPONEN, J., HJERPPE, P., KOPRA, E., RODRÍGUEZ-MATÍNEZ, H., KATILA, T., KINDHAL, H. Premature prostaglandin F₂ α secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. **Theriogenology**, v.60, p.379-393, 2003.

TROXEL, T.R., KESLER, D.J. Ability of indomethacin to alter prostaglandin metabolite concentrations and to enhance the function of corpora lutea induced in postpartum suckled beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.59, p.177, 1984.

VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., SANTOS, R.M., SILVA, A.T.N., MACIEL, A.B.B. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrus Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. **J. Anim. Sci.**, v. 82 (Suppl. 1), p.67 (Abstract), 2004.

VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., SANTOS, R.M., SILVA, A.T.N., MACIEL, A.B.B. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrous Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. **J. Anim. Sci.**, v. 82 (Suppl. 1), p.67 (Abstract), 2004.

VILELA, E.R. **Utilização de dispositivo de liberação intravaginal de progesterona no protocolo de sincronização (GnRH / PGF2 α / GnRH) associado a remoção temporária dos bezerros em vacas nelore paridas.** Botucatu, SP, 2004, 58p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S., OTTOBRE, J.S., SILCOX, R.W., COPELIN, J.P., SMITH, M.F. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of post-partum beef cows expected to have short or normal luteal phases. **Biol. Reprod.**, v.44, p.522-526, 1991.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F., MOFFAT, R.J., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **J. Reprod. Fertil.**, v.97, p.329-337, 1993.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

1. Conclusões gerais e implicações

Os resultados dos experimentos discutidos nos capítulos 2 e 3 contrariam a hipótese de que o estradiol é o elemento-chave na etiologia da luteólise prematura, uma vez que, em vacas em anestro, a suplementação previamente à ovulação com estradiol exógeno, tanto de curta quanto de longa meia-vida, não preveniu a regressão prematura do corpo lúteo. Esses dados são indicadores de inviabilidade da suplementação com estradiol exógeno pré-ovulação como estratégia única para evitar ciclo curto.

Por outro lado, os resultados dos experimentos discutidos nos Capítulos 2 e 4 estão de acordo com a hipótese de que a luteólise prematura é consequência de ovulação sem pré-exposição à progesterona, sendo necessários apenas três dias de exposição à progesterona antes da ovulação para garantir duração normal ao corpo lúteo. Apesar de não compreendido ainda o mecanismo exato de atuação, o conhecimento atual tem a suplementação com progesterona exógena ou progestágenos como única estratégia eficaz na prevenção da luteólise prematura.

A atual situação econômica da pecuária nacional exige dos produtores máxima eficiência para garantia do retorno econômico. Dessa forma, elevados índices de produção associados à alta eficiência reprodutiva devem ser obtidos para melhor retorno econômico na atividade. A otimização da eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para a melhora do desempenho produtiva e da lucratividade dos rebanhos bovinos. Diversas estratégias têm sido

desenvolvidas visando aumentar o número de bezerros produzidos por vaca ao longo de sua vida reprodutiva. Essas estratégias objetivam a redução no intervalo parto-concepção, através da indução de ciclicidade com possibilidade de concepção já na primeira ovulação pós-parto.

O conhecimento mais aprofundado dos fatores e mecanismos que são entraves às estratégias para redução do intervalo parto-concepção é essencial para torná-las mais eficientes, menos onerosas e também para o desenvolvimento de novas estratégias e estratégias alternativas. Nesse contexto, novos estudos se fazem necessários para se determinar os mecanismos endócrinos e celulares que desencadeiam e previnem a luteólise precoce.