

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/02/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Efeitos do 17β -estradiol na abundância de transcritos
para enzimas envolvidas na síntese de $PGF2\alpha$ endometrial
em fêmeas bovinas no final do diestro**

ISABELLA RIO FELTRIN

**Botucatu – SP
2020**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Efeitos do 17β -estradiol na abundância de transcritos
para enzimas envolvidas na síntese de $PGF2\alpha$ endometrial
em fêmeas bovinas no final do diestro**

ISABELLA RIO FELTRIN

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação do Instituto de Biociências de
Botucatu, Universidade Estadual Paulista -
UNESP, para a obtenção do título de Mestre
em Farmacologia e Biotecnologia.**

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Pugliesi

Botucatu – SP

2020

F327e Feltrin, Isabella Rio
Efeitos do 17 -estradiol na abundância de transcritos para enzimas envolvidas na síntese de PGF2 endometrial em fêmeas bovinas no final do diestro / Isabella Rio Feltrin. -- Botucatu, 2020
87 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientadora: Claudia Maria Bertan Membrive
Coorientador: Guilherme Pugliesi

1. Medicina Veterinária. 2. Fisiologia da Reprodução. 3. Bovinos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Ins Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Nome da Autora: Isabella Rio Feltrin

Título: Efeitos do 17β -estradiol na abundância de transcritos para enzimas envolvidas na síntese de $PGF2\alpha$ endometrial em fêmeas bovinas no final do diestro

Banca Examinadora

Prof. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Presidente e Orientadora

Departamento de Produção Animal - FCAT - UNESP - Campus de Dracena.

Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira

Membro Titular

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária - FMVZ - UNESP - Campus Botucatu.

Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira

Membro titular

Departamento de Produção e Saúde Animal - FMVA - Unesp - Campus Araçatuba.

Data da Defesa: 28/02/2020

Local da Defesa: Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, Botucatu – SP

Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "Ação do 17B-estradiol na transcrição e síntese das enzimas PKC e PLA2 envolvidas na síntese de PGF2a endometrial em fêmeas bovinas" (Action of 17B-estradiol on the transcription and synthesis of PKC and PLA2 enzymes involved in the synthesis of endometrial PGF2a in bovine females), registrada com o nº 31/2018.R1 – CEUA, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Claudia Maria Bertan Membrive** – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica** – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em reunião de **21/11/2018**.

Dracena, 21 de novembro de 2018.

Profa. Dra. **Sirlei Aparecida Maestá**
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

*Dedico esta dissertação aos meus pais, Ana e Feltrin,
por todo o apoio e carinho que vocês dedicam à mim e aos meus
sonhos. Vocês são a razão para todas as minhas conquistas!*

Agradecimentos

Ao *Programa de Pós Graduação em Farmacologia e Biotecnologia*, do Instituto de Biociências (IB) da UNESP, Campus de Botucatu/SP, pela oportunidade oferecida de ingressar no mestrado.

À *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)*, pelo suporte financeiro ao projeto (Processo FAPESP 2018/24168-1).

À *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*, pela bolsa de mestrado concedida, condição que possibilitou minha formação e capacitação científica.

Aos *Professores do Programa de Pós Graduação*, pelas disciplinas oferecidas que contribuíram imensamente para o meu conhecimento e crescimento intelectual.

Aos *Membros da banca de qualificação*, Profa. Dra. Fernanda da Cruz Landin da UNESP – FMVZ, Campus de Botucatu/SP; Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira da UNESP - FMVZ, Campus de Botucatu/SP e Prof. Dr. Anthony Castilho da UNOESTE, Presidente Prudente/SP, pela contribuição científica ao referido trabalho.

À *Profa. Dra. Claudia M. Bertan Membrive*, da UNESP - FCAT, Campus de Dracena/SP, pela orientação e pelo voto de confiança em minha capacidade de executar este projeto. Por todos os ensinamentos e conhecimentos transmitidos ao longo desses anos que contribuíram para minha inserção na vida acadêmica e crescimento pessoal e intelectual. Meu eterno agradecimento e admiração!

Ao *Prof. Dr. Guilherme Pugliesi*, do Departamento de Reprodução Animal e responsável pelo Laboratório de Fisiologia e Endocrinologia Molecular (LFEM), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga/SP, por aceitar o convite em ser coorientador deste projeto, fornecendo total apoio e disponibilidade para a execução desta pesquisa. Por todo o conhecimento, ensinamentos e contribuição científica; e pela oportunidade em participar das atividades do seu grupo de pesquisa, meu eterno agradecimento.

Ao *Prof. Dr. Ky Pohler*, do Animal Science Department, da Texas A&M University, College Station, Texas, EUA e aos membros de seu laboratório, pela

colaboração em realizar as dosagens de progesterona e PGFM, resultados estes imprescindíveis ao estudo.

Ao **Dr. Thiago Martins**, Pós-doutorando da University of Florida (UF), pela disponibilidade e colaboração em realizar todas as análises estatísticas realizadas neste estudo.

Ao **Prof. Dr. Juliano Silveira**, da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga/SP, pela disponibilização de seu laboratório e auxílio com o protocolo de extração dos fragmentos de biópsia.

À **Profa. Dra. Saara Carolina Scolari**, ex-docente da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF, Garça/SP, pelo carinho e ensinamentos transmitidos que me direcionaram à vida acadêmica. Muito obrigado!

Ao **Alejandro Ojeda**, Doutorando da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga/SP, pelo valioso auxílio na realização das biópsias endometriais.

À **Cecília Constantino Rocha**, Mestranda da da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga/SP, membro do LFEM, por todo o conhecimento e ensinamentos passados para a execução da técnica de PCR.

À **Alessandra Bridi**, doutoranda da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga/SP, por toda sua ajuda, disponibilidade, paciência e cuidado na execução do protocolo de extração de proteínas do tecido endometrial.

Ao **Prof. Dr. José Buratini**, da UNESP - IB, Campus de Botucatu/SP, responsável pelo Laboratório de Fisiologia Molecular Ovariana, do Departamento de Fisiologia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu/SP, por permitir que eu fizesse parte da rotina do seu laboratório, oferecendo conhecimento sobre técnicas laboratoriais e produção *in vitro* de embriões.

As alunas de Pós-Graduação, **Ana Caroline Silva Soares** e **Thaisy Tino Dellaqua**, do Laboratório de Fisiologia Molecular Ovariana da UNESP, Campus

Botucatu/SP, por me receberem tão bem, pelos ensinamentos, amizade e parceria durante esses anos.

Aos meus *amigos de Pós Graduação da UNESP*, Campus Botucatu/SP, Vinícius Rodrigues, Fernanda Fagali Franchi, Priscila Helena Santos e Patrícia Kubo Fontes, por toda a ajuda, esclarecimentos, paciência e apoio.

A minha amiga do coração *Evelyn Fernanda Flores Caron*, por todo o apoio, carinho, amizade, companheirismo e paciência todos esses anos que moramos juntas.

À *Prefeitura do Campus Fernando Costa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo* (USP – Pirassununga), por disponibilizar os animais utilizados neste estudo.

Ao *Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal (CBRA)* do Campus Fernando Costa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP – Pirassununga), pela disponibilização da infraestrutura e logística, o que permitiu a execução deste projeto.

Aos *membros do LFEM*, Cécilia Constantino Rocha, Igor Garcia Motta, Amanda Guimarães, Gilmar Arantes Junior, Gabriela Dalmaso, Thiago Nishimura, Diego Poit e Priscila Ferraz. E aos alunos de iniciação científica e estagiários, Thais, Leonardo, Danilo, Adomar e Carol, por todo o tempo e ajuda disponibilizada para a execução e logística desse projeto.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram no planejamento e para a execução deste estudo. Muito obrigado.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

José de Alencar

RESUMO

FELTRIN, I.R.: Efeitos do 17 β -estradiol na abundância de transcritos para enzimas envolvidas na síntese de PGF2 α endometrial em fêmeas bovinas no final do diestro [Effects of 17 β -estradiol in the abundance of transcripts for enzymes involved in the synthesis of endometrial PGF2 α in bovine females at the end of diestrus] 2020. 87 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia e Biotecnologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.

Em bovinos, o 17 β -estradiol (17 β -E2) estimula a expressão de receptores de estradiol (ER) e ocitocina (OXTR) no endométrio. A ativação de OXTR induz a ativação de uma complexa cascata que resulta na síntese de PGF2 α . A hipótese é que o tratamento com 17 β -E2, 15 dias após o estro (D15), modula a expressão gênica das proteínas quinase (PKC) e fosfolipase A2 (PLA2), ambas envolvidas na síntese de PGF2 α e dependentes de cálcio. Objetivou-se neste estudo determinar os efeitos do 17 β -E2 na abundância de transcritos (PKC α , PKC β , PLA2G4, AKR1B1, AKR1C4 e PTGS2) diretamente envolvidos na síntese de PGF2 α . Novilhas (N=50), não prenhes, cíclicas, foram sincronizadas pela inserção de um dispositivo de liberação intravaginal contendo 0,558g de progesterona (P4), pela administração de 1 mg de benzoato de estradiol e 0,075 mg de D-Cloprostenol, ambos intramuscular (IM). Após 6 dias, foi injetado 0,075 mg de D-Cloprostenol, IM. Após 48 horas, o dispositivo contendo P4 foi removido e 0,150 mg de D-Cloprostenol foi administrado IM. Nesta ocasião, um adesivo foi inserido na base da cauda para a identificação dos estros (Boviflag Red Estrus Detector - ABS Pecplan) e observações de estro foram realizadas nos próximos 4 dias. Participaram do experimento somente novilhas identificadas em estro (D0 = dia do estro) e que ovularam (N=46). Entre D14 e D23, a área do corpo lúteo (CL; cm²), fluxo sanguíneo (%) e as concentrações plasmáticas de progesterona (P4) foram avaliadas diariamente. No D15, as novilhas foram randomicamente divididas em dois grupos: Grupo Controle (C; 2mL de óleo de girassol puro, IM; N=22) ou Estradiol (E; 1mg 17 β -E2 diluído em 2ml de óleo de girassol puro, IM, N=24). O momento da administração dos tratamentos foi considerado o tempo 0. Amostras de sangue foram obtidas de 0h a 7h, a cada hora, para a mensuração das concentrações de PGFM no D15. Depois da administração dos tratamentos, biópsias uterinas foram coletadas nos tempos 1,5h (C1,5h, N=8 e E1,5h; N =10) ou 3h (C3h, N =8 e E3h, N=11). A abundância de transcritos para os genes PKC α , PKC β , PLA2G4, AKR1B1, AKR1C4 e PTGS2 foi determinada por qPCR. No período entre o D18 e D20, houve menor área do CL no Grupo E (P = 0,023). O Grupo E apresentou maior concentração de PGFM (P = 0,0002) às 6h (225,45 \pm 16,96 pg/mL) e 7h (285,58 \pm 33,09 pg/mL) após a aplicação de 17 β -E2. No D16 e D17, o Grupo E apresentou menor concentração de P4 (P = 0,019) no D16 (4,14 \pm 0,97 ng/mL) e D17 (2,84 \pm 0,79 ng/mL). A luteólise funcional do Grupo E foi antecipada em 1,14 dias (17,07 \pm 0,43; P= 0,006). Da mesma forma, o Grupo E também apresentou antecipação da luteólise estrutural em 1,26 dias (18,42 \pm 0,33; P= 0,026). Entre os grupos de tratamento, a abundância não diferiu para os genes PKC α (P = 0,79), PRKC β (P = 0,17), AKR1B1 (P = 0,34) e PTGS2 (P = 0,22). Houve efeito de tratamento apenas para os transcritos PLA2G4 (P = 0,03) e AKR1C4 (P = 0,05), entretanto, a abundância de ambos diminuiu no Grupo Estradiol à 1,5 e 3,0 h após a administração do 17 β -E2. Conclui-se que a aplicação de 17 β -E2 no 15^o dia do ciclo estral promoveu aumento das concentrações de PGFM e a antecipação da

luteólise funcional e estrutural nas novilhas Nelore, contudo, este aumento não foi associado ao aumento da transcrição gênica das proteínas estudadas

Palavras-chave: Luteólise; Prostaglandina; Endométrio; Bovinos.

ABSTRACT

FELTRIN, I.R.: Effects of 17β -estradiol in the abundance of transcripts for enzymes involved in the synthesis of endometrial $PGF2\alpha$ in bovine females at the end of diestrus [Efeitos do 17β -estradiol na abundância de transcritos para enzimas envolvidas na síntese de $PGF2\alpha$ endometrial em fêmeas bovinas no final do diestro] 2020. 87 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia e Biotecnologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.

In cattle, 17β -estradiol (17β -E2) stimulates expression of estradiol (ER) and oxytocin receptor (OXTR) in the endometrium. The activation of OXTR leads to the induction of a complex cascade of molecular activation resulting in $PGF2\alpha$ synthesis. The hypothesis was that 17β -E2 treatment on day 15 (D15) after estrus modulates the gene expression of protein kinase (PKC) and phospholipase A2 (PLA2), both directly involved in the synthesis of $PGF2\alpha$ and calcium dependent. The aim of this study was to determine the effects of 17β -E2 on the abundance of key transcripts (PKC α , PKC β , PLA2G4, AKR1B1, AKR1C4 and PTGS2) involved in $PGF2\alpha$ signaling and synthesis. Nelore heifers (N=50), don't pregnant, cyclic were synchronized by insertion an intravaginal release device containing 0.558g of progesterone (P4), and by the administration of 1 mg of estradiol benzoate and 0.075 mg de D-Cloprostenol, both intramuscularly (IM). After 6 days, 0.075 mg D-Cloprostenol was injected, IM. After 48 hours the P4 device was removed and 0.150 mg D-Cloprostenol was administered IM. On this occasion, an adhesive was inserted at the base of the tail for the identification of estrus (Boviflag Red Estrus Detector - ABS Pecplan) and estrous observation were made in the next 4 days. Participated in the experiment only the heifers identified in estrus (D0 = day of estrus) that ovulated (N=46). Between D14 and D23, corpus luteum (CL) area (cm²), blood flow (%), and progesterone (P4) plasmatic concentrations were evaluated daily. On D15 heifers were assigned randomly to one of two groups: Control Group (C; 2mL of pure sesame oil, IM; N=22) or Estradiol (E; 1mg 17β -E2 diluted in 2mL of pure sesame oil, IM, N=24). Administration of treatment was considered time 0h. Blood samples were obtained from 0h to 7h, every hour, for the measurement of the PGFM concentrations on D15. After the treatments, uterine biopsies were collected at times 1,5h (C1,5h, N=8 and E1,5h; N=10) or 3h (C3h, N=8 and E3h, N=11). Transcript abundance PKC α , PKC β , PLA2G4, AKR1B1, AKR1C4 and PTGS2 genes were determined by qPCR. In the period between D18 and D20, there was a smaller area of CL in Group E (P = 0.023). Group E showed higher

concentration of PGFM ($P = 0.0002$) at 6 hour (225.45 ± 16.96 pg / mL) and 7 hour ($285.58 \pm 33,09$ pg / mL) after the application of 17β -E2. At D16 and D17, Group E showed lower concentration of P4 ($P = 0.019$) at D16 (4.14 ± 0.97 ng / mL) and D17 ($2,84 \pm 0.79$ ng / mL). Functional luteolysis in Group E was anticipated 1.14 days (17.07 ± 0.43 days; $P = 0.006$). Similarly, Group E also showed an anticipation of structural luteolysis in 1.26 days (18.42 ± 0.33 vs. 19.68 ± 0.42 days; $P = 0.026$). Among the treatment groups, abundance did not differ for the PKC α ($P = 0.79$), PRKC β ($P = 0.17$), AKR1B1 ($P = 0.34$) and PTGS2 ($P = 0.22$) genes. There was a treatment effect only for the PLA2G4 ($P = 0.03$) and AKR1C4 ($P = 0.05$) transcripts, however, the abundance of both decreased in the Group E at 1.5 and 3.0 h after administration of 17β -E2. It was concluded that the application of 17β -E2 on the 15th day of the estrous cycle promotes increased concentrations of PGFM and anticipation of functional and structural luteolysis in Nellore heifers, however, this increase was not associated with increased gene transcription of the studied proteins.

Keywords: Luteolysis. Prostaglandin. Endometrium. Cattle.

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------|---|
| AA | ácido araquidônico |
| AKRs | aldo-ceto redutases |
| AKR1B1 | família aldo-ceto redutase membro B1 |
| AKR1C4 | família aldo-ceto redutase membro C4 |
| ATP | adenosina trifosfato |
| BEND | células endometriais bovinas |
| bFGF | fator de crescimento fibroblástico básico |
| CI | cálcio ionóforo |
| CL | corpo lúteo |
| CLP | células esteroidogênicas luteais pequenas |
| CLG | células esteroidogênicas luteais grandes |
| COXs | cicloxigenases |
| COX 2 | cicloxigenase 2 |
| cPLA2s | PLA2 citosólicas |
| DAG | diacilglicerol |
| E ₂ | estradiol |
| ER | receptor de estradiol |
| ET-1 | endotelina 1 |
| IM | intramuscular |
| IP3 | inositol trifosfato |
| iPLA2s | fosfolipases A2 independentes de Ca ²⁺ |
| kDa | quilodaltons |
| LH | hormônio luteinizante |

| | |
|------------------|--|
| mg | miligrama |
| mL | mililitro |
| N | número de elementos |
| ng | nanograma |
| OT | ocitocina |
| OXTR | receptor de ocitocina |
| P4 | progesterona |
| PAF-AH | Platelet-activating factor acetylhydrolase |
| pg | picograma |
| PBR | receptor benzodiazepínico tipo periférico |
| PGF2 α | prostaglandina F2 α |
| PGD2 | prostaglandina D ₂ |
| PGFM | 13,14-dihidro-15-ceto-prostaglandina F2 α |
| PGE2 | prostaglandina E ₂ |
| PGG2 | hidroperóxido prostaglandina G ₂ |
| PGH2 | prostaglandina H ₂ |
| PGI2 | prostaglandina I ₂ |
| PKA | proteína quinase A |
| PKC | proteínas quinase |
| PKC α | proteína quinase α |
| PKC β | proteína quinase β |
| PLA ₂ | fosfolipase A ₂ |
| PLA2G4 | fosfolipase A ₂ , grupo IV |
| PLC | fosfolipase C |
| PIP2 | fosfatidilinositol bifosfato |

| | |
|---------------|--|
| PTGS2 | prostaglandina-endoperóxido de sintase 2 |
| P450 scc | enzima citocromo P450 side chain cleavage |
| qPCR | Real Time Quantitative PCR |
| RNAm | RNA mensageiro |
| sPLA2s | PLA2s secretadas |
| STAR | steroidogenic acute regulatory protein |
| TNF | fator de necrose tumoral |
| TNF- α | fator de necrose tumoral α |
| TXA2 | tromboxano A2 |
| VEGF | fator de crescimento endotelial vascular |
| 3-HSD | enzima 3-beta hydroxysteroid dehydrogenase, $\Delta^5\Delta^4$, isomerase - 3-HSD |

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Via de síntese de PGF2 α endometrial durante a fase luteínica em fêmeas

bovinas. A presença do receptor de progesterona (PGR) inibe a expressão de receptor 1 de estrógeno (ESR1). O estradiol ativa seus receptores nucleares (ESR1 e ESR2). A ativação de ESR1 pelo hormônio 17 β -estradiol estimula a expressão do receptor de ocitocina (OXTR). A ocitocina se liga ao OXTR que estimula proteína G, desencadeando a ativação de fosfolipase C (PLC). A ativação de PLC leva a liberação de inositol trifosfato (IP3) e 2+ diacilglicerol (DAG) no citosol. O IP3 prove a abertura dos canais de Ca e o DAG estimula uma cadeia sequencial de fosforilação de proteína quinase C (PRKC α , PRKC β e PRKC γ), proteína quinases ativadas por mitógenos (MAPK) e quinases reguladas por sinal extra-celular (ERK1/2). A ERK1/2 promove ativação de fosfolipase A2 (PLA2G4) que induz a liberação de ácido araquidônico (AA) da membrana fosfolipídica. O AA é utilizado como substrato pela enzima ciclooxigenase 2 (PTGS2) para formação de prostaglandina reduzida (PGH2). As prostaglandinas F sintases da família aldo-ceto redutases (AKR1B1, AKR1C3 e AKR1C4) metabolizam a PGH2 em prostaglandina F2 α (PGF2 α).....36

Figura 2. Modelo Hipotético. Fêmeas bovinas tratadas com 1 mg de 17 β -estradiol, via intramuscular, no D15 (D0 = dia do estro) apresentam aumento nas concentrações de PGFM e na expressão de componentes da cascata da síntese PGF2 α , com um aumento da abundância 1,5 horas após a aplicação de 17 β -estradiol e com o máximo de abundância 3 horas após a aplicação de 17 β -estradiol, especificamente as proteínas quinase C (PKC α , PKC β e PKC γ) e fosfolipase A2 (PLA2G4), todas dependentes de cálcio para a ativação.....41

Figura 3. Esquema ilustrando protocolo de sincronização de estro que se iniciou pela inserção do dispositivo intravaginal de liberação de P4 mono dose (0,558g P4; Cronipress ®, Biogénesis Bagó), D-cloprostenol (0,075 mg; Croniben®, Biogénesis Bagó) e Benzoato de Estradiol (1 mg; Sincrodiol®, Ourofino), ambos via intramuscular (IM). Seis dias após (D-6), administrou-se D-cloprostenol (0,075 mg; Croniben®, Biogénesis Bagó) via IM e avaliou-se os ovários para verificar a presença e funcionalidade do CL através de ultrassonografia transretal. No 8º dia (D-8), retirou-se o implante de P4 e administrou-se administrado D-cloprostenol (0,150 mg; Croniben®, Biogénesis Bagó), e realizou-se a colocação da fita de identificação dos estros (Boviflag, ABS) e avaliação dos ovários através de ultrassonografia transretal.

A partir do 9º dia, foi realizada observações de cio diárias durante 30 minutos (início da manhã e final da tarde) e checagem da ovulação a cada 12 horas (*). O dia da identificação do estro foi determinado como D0. Entre o D14 ao D23 pós estro, foram realizadas diariamente coletas de sangue e avaliações ultrassonográficas modo Doppler do CL (*). Quinze dias após o estro, os animais foram divididos em Grupo Estradiol e Controle para receberem os tratamentos. Neste mesmo dia, foram realizadas coletas seriadas de sangue e coleta de fragmentos endometriais através de biópsia uterina.....44

Figura 4. Detalhamento do procedimento experimental de coleta de sangue e biópsia endometrial. O momento zero hora foi definido como o momento em que os animais receberam os tratamentos (Estradiol e Controle). O Grupo Controle recebeu 2 mL (IM) de óleo de gergelim puro. O Grupo Estradiol recebeu 1 mg de 17β-estradiol (IM) diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro. Os animais dos Grupos Estradiol e Placebo foram novamente divididos em subgrupos para coleta de biópsia endometrial nos tempos 1,5 e 3 horas pós tratamento. Cada animal foi submetido a coleta de fragmento endometrial em apenas um momento. Amostras de sangue seriadas foram coletadas em todos os animais, simultaneamente, nos momentos zero, 3, 4, 6 e 7 horas (*)...... 47

Figura 5. Variação da área do CL (cm²) (Média ± erro padrão), determinada através de ultrassonografia modo B, identificada do D14 ao D22 (D0 = dia do estro), em novilhas Nelore tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....56

Figura 6. Variação da área luteal com perfusão sanguínea (%) (Média ± erro padrão), determinada através de ultrassonografia Doppler, identificada do D14 ao D22 (D0 = dia do estro), em novilhas Nelore tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....57

Figura 7. Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) (Média ± erro padrão), determinada por Radioimunoensaio (RIA), identificada do D14 ao D23 ao longo dos dias do ciclo estral, em novilhas Nelore tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 14) ou 1 mg de 17β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 15) no D15.....58

Figura 8. Porcentagem de animais com CL ativo detectado através de ultrassonografia modo Doppler, do D15 ao D24 do ciclo estral (D0 = dia do estro), em novilhas Nelore tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22)

ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....59

Figura 9. Concentração plasmática de PGFM (pg/mL) (Média \pm erro padrão), determinada por ELISA, as 0, 3, 4, 6 e 7 horas (Hora 0 = administração do tratamento), em novilhas Nelore tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 12) ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 13) no D15.....60

Figura 10. Abundância relativa de transcritos para PKC α determinada por qPCR, 1,5 e 3 horas após novilhas Nelore serem tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....61

Figura 11. Abundância relativa de transcritos para PKC β determinada por qPCR, 1,5 e 3 horas após novilhas Nelore serem tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....61

Figura 12. Abundância relativa de transcritos para PLA2G4 determinada por qPCR, 1,5 e 3 horas após novilhas Nelore serem tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....62

Figura 13. Abundância relativa de transcritos para AKR1B1 determinada por qPCR, 1,5 e 3 horas após novilhas Nelore serem tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....63

Figura 14. Abundância relativa de transcritos para AKR1C4 determinada por qPCR, 1,5 e 3 horas após novilhas Nelore serem tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....63

Figura 15. Abundância relativa de transcritos para PTGS2 determinada por qPCR, 1,5 e 3 horas após novilhas Nelore serem tratadas com 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Controle; N = 22) ou 1 mg de 17 β -E2 diluído em 2 mL de óleo de gergelim puro (Grupo Estradiol; N = 24) no D15.....64

Figura 16. Efeitos da aplicação de 17 β -E2 no D15 pós estro em fêmeas bovinas sobre a abundância de transcritos relacionados a síntese de PGF2 α endometrial, especificamente *PKC α* , *PKC β* , *PLA2G4*, *AKR1B1*, *AKR1C4* e *PTGS2*; 1,5 e 3 horas após a aplicação do tratamento (hora 0 = administração do tratamento) em Novilhas Nelore. no D15 do ciclo estral (D0 = dia do estro).....65

Figura 17. Modelo hipotético representando os efeitos do 17β -E2 sobre as enzimas de sinalização e síntese de $\text{PGF}_2\alpha$ na célula endometrial bovina. A aplicação de 17β -E2 no dia 15 pós estro não promoveu o aumento de transcritos de enzimas-chave envolvidas nesta cascata, sendo elas $\text{PKC}\alpha$, $\text{PKC}\beta$, PLA_2G_4 , PTGS_2 , AKR1B_1 e AKR1C_4 . Entretanto, a aplicação de 17β -E2 levou ao aumento da síntese de $\text{PGF}_2\alpha$ pela célula endometrial. Esses resultados indicam que possivelmente existam outros mecanismos de ação através dos quais o 17β -E2 exerce seus efeitos sobre a síntese de $\text{PGF}_2\alpha$72

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Sigla da proteína, nome da proteína, sequência dos primers forward (F) e reverse (R), identificação representativa (ID), números de pares de bases (PB) e eficiência da curva para os genes testados.....52
- Tabela 2. Dias da luteólise funcional e estrutural em novilhas Nelore tratadas com 17β -Estradiol (Grupo Estradiol) e não tratadas (Grupo Controle) no dia D15 após o estro (média \pm EPM).....55

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 25 |
| REVISÃO DE LITERATURA | 28 |
| 2.1 DESENVOLVIMENTO DO CORPO LÚTEO E ESTEROIDOGÊNESE LUTEAL..... | 28 |
| 2.2 LUTEÓLISE..... | 29 |
| 2.3 AÇÃO DA PGF2 α NA LUTEÓLISE | 32 |
| 2.4 AÇÃO DOS ESTERÓIDES E DA OCITOCINA NA LUTEÓLISE..... | 33 |
| 2.5 MECANISMOS ENDÓCRINOS E MOLECULARES ENVOLVIDOS NA SÍNTESE DE PGF2 α | 34 |
| 2.6 CARACTERÍSTICAS DAS PROTEÍNAS PARTICIPANTES DA CASCATA GERADORA DE PGF2 α | 37 |
| 2.6.1 Proteína Quinase C (PKC) | 37 |
| 2.6.2 Fosfolipase A2 (PLA2)..... | 38 |
| 2.6.3 Prostaglandina sintetase 2 (PTGS2) ou Cicloxigenase 2 (COX-2)..... | 39 |
| 2.6.4 Aldo-ceto redutases – AKR1B1 e AKR1C4..... | 40 |
| 3. HIPÓTESE | 41 |
| 4. OBJETIVOS | 42 |
| 5. MATERIAL E MÉTODOS | 42 |
| 5.1 LOCAL DO EXPERIMENTO | 42 |
| 5.2 ANIMAIS | 42 |
| 5.3 SINCRONIZAÇÃO DOS ESTROS | 43 |
| 5.4 OBSERVAÇÕES DE ESTROS..... | 43 |
| 5.5 AVALIAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS..... | 44 |
| 5.6 TRATAMENTO <i>IN VIVO</i> | 45 |
| 5.7 COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE | 45 |
| 5.8 BIÓPSIA UTERINA PARA OBTENÇÃO DOS FRAGMENTOS ENDOMETRIAIS..... | 46 |
| 5.9 MENSURAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE P4 POR RADIOIMUNOENSAIO | 47 |
| 5.10 MENSURAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PGFM POR ELISA..... | 48 |
| 5.11 AVALIAÇÃO DE TRANSCRITOS POR qPCR | 49 |
| 5.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 53 |
| 6. RESULTADOS | 54 |

| | |
|---|-----------|
| 6.1 MOMENTO DA LUTEÓLISE FUNCIONAL E ESTRUTURAL | 54 |
| 6.2 ÁREA DO CORPO LÚTEO (CL) | 55 |
| 6.3 PERFUSÃO SANGUÍNEA NO CORPO LÚTEO (CL) | 56 |
| 6.4 CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE P4 | 57 |
| 6.5 CURVA DE SOBREVIVÊNCIA PADRÃO EM RELAÇÃO À PORCENTAGEM (%) DE ANIMAIS COM CL ATIVO | 58 |
| 6.6 CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PGFM | 59 |
| 6.7 ABUNDÂNCIA DE RNAm | 60 |
| 7. DISCUSSÃO | 65 |
| 8. CONCLUSÃO | 72 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 73 |

1. INTRODUÇÃO

A produtividade e a lucratividade de um rebanho bovino estão diretamente relacionadas à eficiência reprodutiva. Para se elevar os índices reprodutivos torna-se imprescindível aumentar a eficiência das matrizes de corte na fase de cria. Para tanto, a melhor compreensão dos mecanismos endócrinos e moleculares relacionados à fisiologia do ciclo estral torna-se de extremo interesse, uma vez que constituem à base do entendimento para a implantação de estratégias de manejo reprodutivo que possam colaborar com o aumento do número de bezerros nascidos/vaca/ano. Um dos principais fatores que podem comprometer tal eficiência e determinar elevadas perdas econômicas em matrizes de corte, refere-se à mortalidade embrionária precoce, ocasionada no período compreendido entre o 15º e o 19º dias após a ovulação (DISKIN et al., 2006).

O ciclo estral corresponde ao período compreendido entre dois estros, e em fêmeas bovinas possui a duração média de 21 dias. Posteriormente a ovulação, ocorre o processo de multiplicação, diferenciação e luteinização das células foliculares remanescentes do folículo ovulatório, dando origem ao corpo lúteo - CL (GINTHER et al., 1989). Quando o reconhecimento materno-fetal é realizado com êxito o CL é preservado e mantido ativo até os últimos dias que antecedem o parto. Na ausência da fertilização ou quando o concepto (embrião e membranas anexas) não é capaz de sinalizar adequadamente sua existência no útero materno, ocorre a falência funcional e estrutural do CL no período compreendido entre o 15º e 19º dias pós-ovulação. Neste período específico, denominado de "período crítico", deve ocorrer a ausência da luteólise e a manutenção do CL para que a prenhez se estabeleça ou o desencadeamento da luteólise e a destruição do CL para que se proceda o estro e a possibilidade de um novo acasalamento (GINTHER, 1989).

A prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) endometrial é conhecida como o principal agente luteolítico em fêmeas ruminantes, e é responsável por promover a luteólise e impedir a continuidade da síntese de progesterona (P4) pelo CL (MCCRACKEN et al., 1972, 1973, 1984; MEIDAN et al., 1999; CARAMBULA et al., 2002). Em vacas e ovelhas, demonstrou-se que a síntese de $PGF2\alpha$ é regulada pela ação dos hormônios ovarianos estradiol (E2), P4 e ocitocina (OT) e seus respectivos receptores presentes no endométrio (SPENCER et al., 2007; HUGHES et al., 1987).

Utilizando em vacas a técnica de eletrocauterização de folículos ovarianos através do uso de raio-x (1.500 rads), procedimento que extingue o E2 ovariano

endógeno, observou-se uma supressão da síntese de PGF2 α acompanhada de um atraso na regressão do CL, permitiu demonstrar-se que a presença do E2 é essencial para promover o desencadeamento da luteólise espontânea (VILLA-GODOY et al., 1985). Também foi demonstrado que, a administração de E2 promove a síntese de PGF2 α e a antecipação da luteólise (THATCHER et al., 1986; PUGLIESI et al., 2011), sendo tal estímulo dose dependente (GINTHER et al., 2010; PUGLIESI et al., 2011). Dessa forma, o aumento da concentração plasmática de E2, de origem endógena ou exógena, promove o desencadeamento da luteólise (SALFEN et al., 1988) enquanto a redução da concentração plasmática de E2 promove atraso na luteólise em vacas (ARAUJO et al., 2009).

A síntese de PGF2 α no endométrio das fêmeas bovinas é resultado de uma complexa cascata de eventos intracelulares que ocorrem de forma altamente coordenada, tendo como ponto de partida a ativação dos receptores endometriais de OT (OXTR) (SPENCER et al., 2007; SILVIA; RAW, 1993; MANN et al., 1995). Estudos relataram que o E2 exerce controle positivo sob a expressão dos OXTR, aumentando a concentração de PGF2 α no endométrio das fêmeas ruminantes (SPENCER et al., 1995; ASSELIN et al., 1996; VALLET et al., 1990; FLEMING et al., 2006). Atualmente é descrito que o E2 atua estritamente sob o controle dos receptores endometriais de estradiol (ESR) e ocitocina (OXTR), entretanto, é possível que este também exerça efeitos sob outros componentes da cascata de síntese de PGF2 α . De acordo com Membrive et al. (2014), houve um aumento da síntese de PGF2 α quando explantes endometriais de vacas tratadas com E2 *in vivo* foram posteriormente cultivados *in vitro* com cálcio ionóforo (CI). O mesmo efeito foi observado quando células endometriais bovinas (BEND) foram tratadas *in vitro* com E2 e CI, efeito não observado em células tratadas somente com E2 ou CI. Esses resultados demonstram que o E2 possivelmente promova um aumento da abundância e/ou atividade de enzimas participantes da cascata geradora de PGF2 α , estas dependentes de cálcio.

Perante estes achados, presume-se que a expressão de receptores e de enzimas, assim como a presença de co-fatores são pontos fundamentais para a síntese de PGF2 α . Os efeitos do E2 na expressão de receptores endometriais são conhecidos. Porém, ainda não são conhecidos os efeitos do E2 na expressão das proteínas componentes da via de síntese de PGF2 α por ativação de OXTR durante a luteólise de vacas. A aquisição de tais conhecimentos poderá contribuir para a elaboração de estratégias anti-luteolíticas potencialmente capazes de aumentar as taxas de concepção e a eficiência reprodutiva.

Diante desse contexto, foi formulada a hipótese de que, a aplicação do 17-beta-estradiol (17 β -E2) em vacas de corte, no dia 15 do ciclo estral, modula a expressão gênica das enzimas cálcio-dependentes, especificamente a proteína quinase (PKC) e fosfolipase A2 (PLA2), ambas envolvidas na cascata geradora de PGF2 α . Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da administração sistêmica de 17 β -E2 sobre componentes da cascata de síntese endometrial de PGF2 α , em vacas de corte no dia 15 do ciclo estral, especificamente PKC α , PKC β , PLA2G4, AKR1B1, AKR1C4 e PTGS2, utilizando-se a técnica de qPCR.

8. CONCLUSÃO

Conclui-se que a aplicação de 17β -E2 no 15º dia do ciclo estral promoveu aumento das concentrações de PGFM e a antecipação da luteólise funcional e estrutural nas novilhas Nelore, contudo, este aumento não foi associado ao aumento da transcrição gênica das proteínas estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, T. J.; YOSHIKAWA, N.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after PGF₂ α injection in the cow. **Biology of Reproduction**, v.66, p.65–8, 2002.

ACTIVITY, H. P. D. et al. Identification of a Principal mRNA Species for Human 3 α -Hydroxysteroid Dehydrogenase Isoform (AKR1C3). **That Exhibits**, v. 946, p. 940-946, 1998.

ADAMS J. A. Kinetic and catalytic mechanisms of protein kinases. **Chem Rev**, v.101, n.8, p.2271–2290, 2001.

ALVES JUNIOR, S. S.; SOARES, N.; CASTRO, F. C.; THOMAZ, F.; PEREIRA, V.; BALIEIRO, J. C. C.; MUNIN, S. F.; CESAR, M. C.; BINELLI, M.; MEMBRIVE, C. M. B. Estradiol-17 β altera expressão proteica endometrial em fêmeas bovinas tratadas no 17o dia do ciclo estral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 17, p. 27–37, 2011.

ARAUJO, R. R.; GINTHER, O. J.; FERREIRA, J. C.; PALHÃO, M. M.; BEG, M. A.; WILTBANK, M. C. Role of follicular estradiol-17 β in timing of luteolysis in heifers. **Biology of reproduction**, v. 81, n. 2, p. 426–37, 2009.

ARNI, R.K.; WARD, R.J. Phospholipase A₂ – a structural review. **Toxicon**, v. 34, n. 8, p. 827-841, 1996.

AROSH, J. A.; BANU, S. K.; CHAPDELAIN, P.; MADORE, E.; SIROIS, J.; FORTIER, M. A. Prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling in corpus luteum: a basis for autoregulation of luteal function. **Endocrinology**, v.145, p.2551–60, 2004.

ASSELIN, E.; GOFF, K.; BERGERON, H.; FORTIER, M. Influence of sex steroids on the production of prostaglandins F₂ α and E₂ and response to oxytocin in cultured epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. **Biology of Reproduction**, v. 54, n. 2, p. 371–9, 1996.

ASSEY R. J.; PURWANTARA B.; GREVE T.; HYTTEL P.; SCHMIDT M. H. Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis. **Theriogenology**, v.39, p.1321-1330, 1993.

AULETTA, F. J.; FLINT, A. P. F. Mechanisms controlling corpus luteum function in sheep, cows, non human primates and women, especially in relation to the time of luteolysis. **Endocrine Reviews**, v. 9, n. 1, p. 88-105, 1988.

BALAGUER, S. A.; PERSHING, R. A.; RODRIGUEZSALLABERRY, C.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L. Effects of bovine somatotropin on uterine genes

related to the prostaglandin cascade in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 2, p. 543-552, 2005.

BEARD, A. P.; LAMMING, G. E. Oestradiol concentration and the development of the uterine oxytocin receptor and oxytocin-induced PGF₂ alpha release in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, n. 2, p. 469-475, 1994.

BENYO, D. F.; PATE, J. L. Tumor necrosis factor alpha alters bovine luteal cell synthetic capacity and viability. **Endocrinology**, v.130, p.854-960, 1992.

BERGSTROM, S.; DANIELSSON, H.; KLENBERG, D.; SAMUELSON, S. The enzymatic conversion of essential fatty acids into prostaglandins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 239, p. 4006-4009, 1964.

BERTAN, C. M. **Mecanismos endócrinos e moleculares pelos quais o estradiol estimula a síntese de prostaglandina F₂ α endometrial em fêmeas bovinas.** [Endocrine and molecular mechanisms by which estradiol stimulates endometrial prostaglandin F₂ α synthesis in the cow]. 2004. 180 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BERTAN, C. M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H.; TRALDI, A. S. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.43, p.824-840, 2006.

BINELLI, M.; GUZELOGLU, a; BADINGA, L.; ARNOLD, D. R.; SIROIS, J.; HANSEN, T. R.; THATCHER, W. W. Interferon-tau modulates phorbol ester-induced production of prostaglandin and expression of cyclooxygenase-2 and phospholipase A₂ from bovine endometrial cells. **Biology of Reproduction**, v. 63, n. 2, p. 417-24, ago. 2000.

BOLLWEIN H.; BAUMGARTNER U.; STOLLA R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. **Theriogenology**, v.57, p.2053-2061, 2002.

BOLLWEIN H.; LÜTTGENAU J.; HERZOG K. Bovine luteal blood flow: basic mechanism and clinical relevance. **Reprod Fertil Dev**, v.25, p.71-79, 2012.

BOYAN, B. D.; SYLVIA, V. L.; FRAMBACH, T.; LOHMANN, C. H.; DIETL, J.; DEAN, D. D.; SHWARTZ, Z. Estrogen-dependent rapid activation of protein kinase C in estrogen receptor-positive MCF-7 breast cancer cells and estrogen receptor-negative HCC38 cells is membrane-mediated and inhibited by tamoxifen. **Endocrinology**, v. 144, n. 5, p. 1812-1824, 2003.

BRUNNER, M.A.; DONALDSON, L.E.; HANSEL, W. Exogenous hormones and luteal function in hysterectomized and intact heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 52, p. 1849-1854, 1969.

BURNS, P. D.; GRAF, G. A.; HAYES, S. H.; SILVIA, W. J. Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF₂ α synthesis in bovine endometrium: roles of phospholipases C and A2. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 14, n. 3, p. 181-191, 1997.

BURNS, P. D.; HAYES, S. H.; SILVIA, W. J. Cellular mechanisms by which oxytocin mediates uterine prostaglandin F₂ α synthesis in bovine endometrium: Role of calcium. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 15, n. 6, p. 477–487, 1998.

CARAMBULA, S. F.; MAITIKAINEM, T.; AITIKAINEM, T. Caspase-3 is a pivotal mediator of apoptosis during regression of ovarian corpus luteum. **Endocrinology**, v. 143, n. 4, p. 1495-1501, 2002.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. a; EVANS, C. O.; KENNY, D. a; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, fertility, and development**, v. 20, n. 3, p. 368–75, jan. 2008.

CHEN, G. T. C.; GETSIOS, S.; MACCALMAN, C. D. 17beta-estradiol potentiates the stimulatory effects of progesterone on cadherin-11 expression in cultured human endometrial cells. **Endocrinology**, v. 139, p.35123519, n. 8, 1998.

DAVIS, S. R.; COLLIER, R. J.; MCNAMARA, J. P. Effects of thyroxine and growth hormone treatment of dairy cows on milk yield, cardiac output and mammary blood flow. **J. Anim. Sci.**, v. 66, p. 70-79, 1988.

DENNIS, E.A. History, classification, structure and function of phospholipase A2. In: UHL, W.; NEVALAINEN, T.J.; BÜCHLER, M.W. (Eds.). **Phospholipase A2: Basic and Clinical Aspects in Inflammatory Diseases**. 1. ed. Basel: Karger, p. 1-7, 1997.

DEVINE, K.; DRIGGERS, P. H.; SZU, S. C.; ZAREK, S.; COX, J.; SEGARS, J. H. Follicle stimulating hormone (FSH) induction of aromatase and luteinizing hormone receptor (LHR) is dependent, in part, on the protein kinase a regulatory-rho-guanine nucleotide exchange factor AKAP13. **Fertility and Sterility**, 102(3): e271–e272, 2014.

DIAZ, F. J.; ANDERSON, L. E.; WU, Y. L.; RABOT, A.; TSAI, S. J.; WILTBANK, M. C. Regulation of progesterone and Prostaglandin F₂ α production in the CL. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 191, p. 65-68, 2002.

DIELEMAN, S. J.; BEVERS, M. M. Effects of monoclonal antibody against PMSG administered shortly after the preovulatory LH surge on time and number of ovulations in PMSG/PG-treated cows. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 81, n. 2, p. 533-542, 1987.

DISKIN, M. G.; MURPHY, J. J.; SREENAN, J. M. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.297–311, 2006.

FAIRCLOUGH, R. J.; MOORE, L. G.; MCGOWAN, L. T.; PETERSON, A. J.; SMITH, J. F.; TERVIT, H. R.; WATKINS, W. B. Temporal relationship between plasma concentrations of 13,14-dihydro-15- ketoprostaglandin F and neurophysin I/II around luteolysis in sheep. **Prostaglandins**, v.20, p.199–208, 1980.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **N Engl J Med.**, 345:433-442, 2001.

FLEMING, J. G. W.; SPENCER, T. E.; SAFE, S. H.; BAZER, F. W. Estrogen regulates transcription of the ovine oxytocin receptor gene through GC-rich SP1 promoter elements. **Endocrinology**, v. 147, n. 2, p. 899–911, 2006.

FLINT, A. P. F.; SHELDRIK, E. L. Ovarian secretion of oxytocin is stimulated by Prostaglandins. **Nature**, v.297, p.587–8, 1982.

FORTIER, M. A.; KRISHNASWAMY, K.; DANYOD, G.; BOUCHER-KOVALIK, S.; J.A CHAPDELAIN, P. A postgenomic integrated view of prostaglandins in reproduction: implications for other body systems. **Prostaglandins**, p. 65–89, 2008.

GENGENBACH, D.R.; HIXON, J.E.; HANSEL, W. A luteolytic interaction between estradiol and prostaglandin F_{2α} in hysterectomized ewes. **Biology of Reproduction**, v. 16, p. 571, 1977.

GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. The Oxytocin Receptor System: Structure, Function and Regulation. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 629–683, 2001.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; KULICK, L. J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. **Biol Reprod**, 63:383–389, 2000.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, n. 1, p. 223–230, 1989.

GINTHER, O. J.; SILVA, L. a; ARAUJO, R. R.; BEG, M. A. Temporal associations among pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF 2α , luteal blood flow, and luteolysis in cattle. **Biology of reproduction**, v. 76, n. 3, p. 506–513, 2007.

GINTHER, O. J; ARAUJO, R. R.; PALHAO, M. P.; RODRIGUES, B. L.; BEG, M. A. Necessity of sequential pulses of prostaglandin F 2α for complete physiologic luteolysis in cattle. **Biology of Reproduction**, v.80, p.641– 8, 2009a.

GINTHER, O. J; SIDDIQUI, M. A.; BEG, M. A. Physiologic and nonphysiologic effects of exogenous prostaglandin F 2α on reproductive hormones in mares. **Theriogenology**, v.72, p.417–24, 2009b.

GINTHER, O. J.; SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A. Circulating hormone concentrations within a pulse of a metabolite of prostaglandin F 2α during preluteolysis and early luteolysis in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 122, n. 3–4, p. 253–258, 2010.

GINTHER, O. J; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; SHAHIDUZZAMAN, A. K.; BEG, M. A. Characteristics of pulses of 13,14-dihydro-15ketoprostaglandin F 2α before, during, and after spontaneous luteolysis and temporal intrapulse relationships with progesterone concentrations in cattle. **Biology of Reproduction**, v.82, p.1049 –56, 2010b.

GINTHER, O. J; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; BEG, M. A. Stimulation of pulses of 13,14dihydro-15-keto-PGF 2α (PGFM) with estradiol-17 β and changes in circulating progesterone concentrations within a PGFM pulse in heifers. **Theriogenology**, v.74, p.384–92, 2010d.

GIRSH, E.; MILVAE, R.; WANG, W. Effect of endothelin1 on bovine luteal cell function, role in prostaglandin F 2α -induced steroidogenic action. **Endocrinology**, 1996, 137, p.1306. 88.

GIRSH, E.; WANG, W.; MAMLUCK, R. Regulation of endothelin-1 expression in the bovine corpus luteum, elevation by prostaglandin F 2α . **Endocrinology**, 1996, 137, p.5191-96.

GOSPODAROWICZ, D.; CHENG, J.; LUI, G. M. Corpus luteum angiogenic factor is related to fibroblast growth factor. v. 117, n. 6, p. 2383-2391, 1985.

GUPTA, R. A.; DUBOIS, R. N. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. **Nat Rev Cancer**, 1:11-21, 2001.

GUZELOGLU, A.; BINELLI, M.; BADINGA, L.; HANSEN, T.R.; THATCHER, W.W. Inhibition of phorbol ester-induced PGF 2α secretion by IFN- τ is not through regulation of protein kinase C. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v.74, p. 87–99, 2004.

GUZELOGLU, A.; SUBRAMANIAM, P.; MICHEL, F.; THATCHER, W. W. Interferon α induces degradation of prostaglandin H synthase-2 messenger RNA in bovine endometrial cells through a transcription-dependent mechanism. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 1, p. 170–176, 2004.

GRAZUL-BILSKA, A. T.; REDMER, D. A.; KILLILEA, S. D. Production of mitogenic factor(s) by ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. **Endocrinology**, v. 130, n. 6, p. 3625-3632, 1992.

GRIFFIN, J. E. & OJEDA S. R. Textbook of endocrine physiology. **Oxford University Press, New York**, p.66, 67, 149, 1992.

HAHNKE, K. E.; CHRISTENSON, S. P.; TAYLOR, M. Macrophage infiltration into the porcine corpus luteum during prostaglandin F $_{2\alpha}$ -induced luteolysis. **Biol. Reprod.**, v. 50, p.10-15, 1994.

HANSEL, H.; CONCANNON, P. W.; LUKASZEWSKA, J. H. Corpora lutea of large domestic animals. **Biology of Reproduction**, v. 8, p. 222, 1973.

HANUKOGLU, I. Steroidogenic Enzymes: Structure, Function, and Role in Regulation of Steroid Hormone Biosynthesis. **Steroid Biochem. Molec. Biol**, v. 43, n. 8, p. 779–804, 1992.

HEMLER M., LANDS, W. E. Purification of the cyclooxygenase that forms prostaglandins. Demonstration of two forms of iron in the holoenzyme. **J Biol Chem**. 251:5575-5579, 1976.

HIXON, J. E.; FLINT, A. P. Effects of a luteolytic dose of oestradiol benzoate on uterine oxytocin receptor concentrations, phosphoinositide turnover and prostaglandin F $_{2\alpha}$ secretion in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 79, n. 2, p. 457-567, 1987. HOOPER, S. B.; WATKINS, W. B.; THORBURN, G. D. Oxytocin, oxytocin-associated neurophysin, and prostaglandin F $_{2\alpha}$ concentrations in the utero-ovarian vein of pregnant and nonpregnant sheep. **Endocrinology**, v.119, p.2590–7, 1986.

HUGHES, T. L.; VILLA-GODOY, A.; KESNER, J. S.; FOGWELL, R. L. Destruction of bovine ovarian follicles: effects on the pulsatile release of luteinizing hormone and prostaglandin F $_{2\alpha}$ -induced luteal regression. **Biology of Reproduction**, v. 36, p. 523-529, 1987.

IBRAHIMI, O.A.; ZHANG, F.; HRSTKA, S.C.L.; MOHAMMADI, M.; LINHARDT, R. J. **Signal transduction complex assembly. Biochemistry**, v.43, p.4724-4730, 2004.

IVELL, R.; FUCHS, A. R.; BATHGATE, R.; TILLMANN, G.; KIMURA, T. Regulation of oxytocin receptor in bovine reproductive tissues and the role of steroids. **Reproduction of Domestic Animals**, v.35, p.134–41, 2000.

JEZ, J. M.; FLYNN, T. G.; PENNING, T.M. A new nomenclature for the aldo-keto reductase superfamily. **Biochemical Pharmacology**, 54:639-647, 1997.

JEZ, J. M.; PENNING, T.M. The aldo-keto reductase (AKR) superfamily: an update. **Biochemical Pharmacology Interactions**, 130-132: 499-525, 2001.

JORNVALL, H.; PERSSON, B.; KROOK, M.; ATRIAN, S.; GONZALEZ-DUARTE, R.; JEFFEREY, J.; GHOSH, D. Short-chain dehydrogenases/reductases (SDR). **Biochemistry**. 34:6003-6013, 1995.

KARSH, F. J.; NOVEROSKE, J. W.; ROCHE, J. F; NORTON, H. W.; NALBANDOV, A. V. Maintenance of ovarian corpora lutea in absence of ovarian follicles. **Endocrinology**, v. 87, p. 1228-1235, 1970.

KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. **Theriogenology**, v.33, p.1269-1278, 1990.

KINDAHL, H.; EDQVIST, L. E.; GRANSTRISM, E.; BANE, A. The release of prostaglandin F₂ α as reflected by 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers. **Prostaglandins**, v. 11, n. 5, 1976.

KINDHAL, H.; LINDELL, J. O.; EDQVIST, L. E. Release of prostaglandin F₂ α during oestrus cycle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.77, p.143–58, 1981.

KINI, R.M.; EVANS, H.J. A model to explain the pharmacological effects of snake venom phospholipases A₂. **Toxicon**, v. 27, n. 6, p. 613-635, 1989.

KNICKERBOCKER, J. J.; THATCHER, W. W.; FOSTER, D. B.; WOLFENSON, D.; BARTOL, F. F; CANTON, D. Uterine prostaglandin and blood flow responses to estradiol 17- β in cyclic cattle. **Prostaglandins**, v. 31, p. 757-767, 1986.

KOTWICA, J.; SKATZYNSKI, D.; BOGACKI, M.; MELIN, P.; STAROSTKAL, B. The use of an oxytocin antagonist to study the function ovarian during luteolysis in cattle. **Theriogenology**, n. 97, p. 1287–1299, 1997.

KOTWICA, J.; SKARZYNSKI, D.; JAROSZEWSKI, J.; WILLIAMS, G.L.; BOGACHI, M. Uterine secretion of PGF₂ α , stimulated by different doses of oxytocin and released spontaneously during luteolysis in cattle. **Reproduction Nutrition Development**, v.38, p.217–226, 1998

KUJUBU, D. A.; FLETCHER, B. S.; VARNUM, B. C. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. **J Biol Chem.**, 266:12866-12872, 1991.

KULICK, L. J., KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, 52:913–921, 1999.

LAMSA, J. C.; KOT, S. J.; ELDERING, J. A.; NAY, M. G.; MCCRACKEN, J. A. Prostaglandin F2 α stimulated release of ovarian oxytocin in the sheep in vivo: threshold and dose dependency. **Biology of Reproduction**, v.40, p.1215–23, 1989.

LAMBERT-LANGLAIS, S.; POINTUD, J. C.; LEFRANÇOIS-MARTINEZ, A. M.; VOLAT, F.; MANIN, M.; COUDORE, F.; VAL, P.; SAHUT-BARNOLA, I.; RAGAZZON, B.; LOUISET, E.; DELARUE, C.; LEFEBVRE, H.; URADE, Y.; MARTINEZ, A. Aldo keto reductase 1 B7 and prostaglandin F2a are regulators of adrenal endocrine functions. **PLoS one**, San Francisco, v. 4, n. 10, e. 7309, 2009.

LEE, J.; MCCRACKEN, J. A.; BANU, S. K.; RODRIGUEZ, R.; NITHY, T. K.; AROSH, J. A. Transport of prostaglandin F2 α pulses from the uterus to the ovary at the time of luteolysis in ruminants is regulated by prostaglandin transporter-mediated mechanisms. **Endocrinology**, v. 151, n. 7, p. 3326–3335, 2010.

LYIMO, Z. C.; NIELEN, M.; OUWELTJES, W.; KRUIP, T. A. M.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 53, n. 9, p. 1783–1795, 2000.

MACÊDO, J. K. A. Análise da peçonha de *Bothropoides marmoratus*, com ênfase na caracterização de proteínas com atividade antimicrobiana e/ou antitumoral. 104 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

MACKAY, H. J.; TWELVES, C. J. Targeting the protein kinase C family: are we there yet? **Nature**, v. 7, p. 554–567, 2007.

MADORE, E.; HARVEY, N.; PARENT, J.; CHAPDELAIN, P.; AROSH, J. A.; FORTIER, M. A. An Aldose reductase with 20-hydroxysteroid dehydrogenase activity is most likely the enzyme responsible for the production of prostaglandin F2 α in the bovine endometrium. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 278, p. 11205- 11212, 2003.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; FRAY, M. D. Plasma Estradiol and Progesterone during Early Pregnancy in the Cow and the Effects of Treatment with Buserelin. **Animal Reproduction Science**, v. 37, n. 2, p. 121–131, 1995.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The Influence of Progesterone During Early Pregnancy in Cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, p. 269–274, 1999.

MANN, G. E.; PAYNE, J. H.; LAMMING, G. E. Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin PGF₂ α secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. **Domestic Animal Endocrinology**, v.2, p.127–41, 2001.

MARTÍNEZ, S. P.; HERMOSO, M.; FARINA, M.; RIBEIRO, M. L.; RAPANELLI, M.; M. ESPINOSA; VILLALÓN, M.; FRANCHI, A. 17- β -estradiol upregulates COX-2 in the rat oviduct. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 80, p. 155–164, 2006.

MCCRACKEN, J. A.; CARLSON, J. C.; GLEW, M. E. Prostaglandin F₂ identified as a luteolytic hormone in sheep. **Nat New Biol.**, 1972, Aug, 2, 238 (83), p.12934.

MCCRACKEN, J. A.; BARCIKOWSKI, B.; CARLSON, J. C. The physiological role of prostaglandin F₂ α in corpus luteum regression. **Adv Biosci.**, 9, p.599-624, 1973.

MCCRACKEN, J. A.; SCHRAMM, W.; OKULICZ, W. C. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF₂ α from ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. **Anim Reprod Sci**, v.7, p.31-55, 1984.

MCCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological reviews**, v.79, p.263–323, 1999.

MEADE, E. A.; SMITH, W. L.; DEWITT, D. L. Differential inhibition of spinal nociceptive processing. **Pain**. 9-43, 1993.

MEIDAN, R. Intraovarian regulation of luteolysis. **J Reprod Fertil Suppl**, 54, p.217-28, 1999.

MELLOR, H.; PARKER, P. J. The extended protein kinase C superfamily. **The Biochemical Journal**, v. 332, n. 2, p. 281–92, 1998.

MEMBRIVE, C. M. B.; DA CUNHA, P.; MEIRELLES, F.; BINELLI, M. Calcium potentiates the effect of estradiol on PGF₂ α production in the bovine endometrium. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 25, 2014.

MEYER, H. D. D.; MITTERMEIER, T. H.; SCHAMS, D. Dynamics of oxytocin, estrogen and progestin receptors in the bovine endometrium during the estrous cycle. **Acta Endocrinologica** v.118, p.96–104, 1988.

MILVAE, R. A. Inter-relationships between endothelin and prostaglandin F₂ α in corpus Luteum function. **Rev. Reproduction**, v.5, p.1–5, 2000.

MIYAMOTO, A.; SHIRASUNA, K.; WIJAYAGUNAWARDANE, M. P. B.; WATANABE, S.; HAYASHI, M.; YAMAMOTO, D.; MATSUI, M.; ACOSTA, T. J. Blood flow: A key regulatory component of corpus luteum function in the cow. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, n. 2, p. 329–339, 2005.

MIYAMOTO, T.; OGINO, N.; YAMAMOTO, S.; HAYAISHI, O. Purification of prostaglandin endoperoxide synthetase from bovine vesicular gland microsomes. **J Biol Chem**. 251:2629-2636, 1976.

MOORE, L. G.; CHOY, V. J.; ELLIOT, R.L.; WATKINS, W. B. Evidence for the pulsatile release of PGF₂ α inducing the release of ovarian oxytocin during luteolysis in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.76, p.159–66, 1986.

MORISSET, S.; PATRY, C.; LORA, M. Regulation of cyclooxygenase-2 expression in bovine chondrocytes in culture by interleukin 1 α , tumor necrosis factor- α , glucocorticoids, and 17 β -estradiol. **J Rheumatol.**, 25:1146-1153, 1998.

NEWTON, A. C. Protein kinase C; structure, function, and regulation. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 270, p. 28495–28498, 1995.

MURAKAMI, M.; KUDO, I. Phospholipase A2. **Journal of Biochemistry**, v. 131, n. 3, p. 285–292, 2002.

NISHIZUKA, Y. Intracellular signalling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. **Science**, v. 258, p. 607–614, 1992.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; MCGUIRE, W. J.; BELFIORE, C. J.; WILTBANK, M. C. Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy. **Biology of reproduction**, v. 50, n. 2, p. 239–247, 1994.

NISWENDER, G. D. Molecular control of luteal secretion of progesterone. **Reproduction**. Mar, 123(3), p.333-9. Review, 2002.

OLIVEIRA, M. L. **Ação do 17 β -estradiol na síntese de PGF₂ α endometrial em vacas** [17 β -estradiol action on the synthesis of endometrial PGF₂ α in cows] 2017. 106 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

PAKRASI, P. L.; CHENG, H. C.; DEY, S. K. Prostaglandins in the uterus: modulation by steroid hormones. **Prostaglandins**, v. 26, n. 6, p. 991–1009, dez. 1983.

PESCADOR, N.; SOUMANO, K.; STOCCO, D. M.; PRICE, C. A; MURPHY, B. D. Steroidogenic acute regulatory protein in bovine corpora lutea. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 2, p. 485–491, 1996.

PUGLIESI, G.; BEG, M. A.; CARVALHO, G. R.; GINTHER, O. J. Effect of dose of estradiol-17 beta on prominence of an induced 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α (PGFM) pulse and relationship of prominence to progesterone, LH, and luteal blood flow in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 41, n. 2, p. 98–109, 2011.

POHLER, K. G.; PEREIRA, M. H. C.; LOPES, F. R.; LAWRENCE, J. C.; KEISLER, D. H.; SMITH, M. F.; VASCONCELOS, J. L. M. GREEN, J. A. Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. **J. Dairy Sci**, 99:1–11, 2016.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915–923, 1995.

PURSLEY, J. R.; KOSOROK, M. R.; WILTBANK, M. C. Reproductive Management of Lactating Dairy Cows Using Synchronization of Ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 2, p. 301–306, 1997.

REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P. Angiogenesis in the ovary. **Rev Reproduction**, v. 1, n. 3, p. 182-192, 1996.

ROCHE, J. F.; MIHM, M.; DISKIN, M. G.; IRELAND, J. J. A review of regulation of follicle growth in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 16-29, 1998.

SCHENK, P. W.; SNAAR-JAGALSKA, B. E. Signal perception and transduction: the role of protein kinases. **Biochemistry Biophysics Acta**, v. 1449, p. 1–24, 1999.

SALLES, M. G. F.; ARAÚJO, A. A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, p.185–94. 2010.

SALFEN, B. E.; CRESSWELL, J. R.; XU, Z. Z.; BAO, B.; GAVERICK, H. A. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous estradiol on the duration of the luteal phase of bovine estrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 115, p. 15-21, 1999.

SALFEN, B. E.; CRESSWELL, J. R.; XU, Z. Z.; BAO, B.; GARVERICK, H. A. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the duration of the luteal phase of the bovine oestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.115, p. 15-21, 1988.

SANTOS, R. M.; GOISSIS, M. D.; FANTINI, D. A.; BERTAN, C. M.; VASCONCELOS, J. L. M.; BINELLI, M. Elevated progesterone concentrations enhance prostaglandin F₂ α synthesis in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 114, n. 1–3, p. 62–71, 2009.

SAWYER, H. R.; NISWENDER, K. D.; BRADEN, T. D. Nuclear changes in ovine luteal cells in response to PGF₂ alpha. **Domest Anim Endocrinol.**, Apr, 7(2), p.229-37, Apr. 1990.

SCHAMS, D.; BERISHA, B. Regulation of corpus luteum function in cattle- - na overview. **Reproduction Domestic Animals**, v. 39, n. 4, p. 241-251, 2004.

SCHALOSKE, R.H.; DENNIS, E.A. The phospholipase A₂ superfamily and its group numbering system. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1761, n. 11, p. 1246-1259, 2006.

SCHWARTZ, Z.; SYLVIA, V. L.; GUINEE, T.; DEAN, D. D.; BOYAN, B. D. Tamoxifen elicits its anti-estrogen effects in growth plate chondrocytes by inhibiting protein kinase C. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 80, n. 4-5, p. 401-410, 2002.

SHIRAI, Y.; SAITO, N. Activation mechanisms of protein kinase c: maturation, catalytic activation, and targeting. **Journal of biochemistry**, v. 132, p. 663-668, 2002.

SHIRASUNA, K.; SHIMIZU, T.; HAYASHI, K-G.; NAGAI, K.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Positive association, in local release, of luteal oxytocin with endothelin 1 and prostaglandin f₂alpha during spontaneous luteolysis in the cow: a possible intermediary role for luteolytic cascade within the corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v.76, p.965- 70, 2007.

SILVIA, W. J.; HOMANICS, G. E. role of phospholipase c in mediating oxytocin - induced release of prostaglandin f 2 α from ovine endometrial tissue. **Journal of Animal Science**, v. 35, n. 4, 1988.

SILVIA, W. J.; LEWIS, G. S.; MCCRACKEN, J. A.; THATCHER, W. W.; WILSON, L. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F₂ α during luteolysis in ruminants. **Biology of Reproduction**, v.45, p.655-63, 1991.

SILVIA, W. J.; TAYLOR, M. E. Relationship between uterine secretion of prostaglandin F₂ α induced by oxytocin and endogenous concentrations of estradiol and progesterone at three stages of the bovine estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v.67, p.2347-53, 1989.

SILVIA, W. J.; RAW, R. E. Regulation of pulsatile secretion of prostaglandin F₂ α from the ovine uterus by ovarian steroids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 98, n. 2, p. 341-347, 1993.

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. **Pharmacological Reviews**. 56:387-437, 2004.

SIX, D.A.; DENNIS, E.A. The expanding superfamily of phospholipase A2 enzymes: classification and characterization. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1488, n. 2, p. 1-19, 2000.

SKARZYNSKI, D. J.; FERREIRA-DIAS, G.; OKUDA, K. Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: hormonal control, immune mechanisms and intercellular communication. **Reproduction of Domestic Animals**, v.43, p.57–65, 2008.

SMITH, W.L.; LANDS, W. E. Oxygenation of polyunsaturated fatty acids during prostaglandin biosynthesis by sheep vesicular gland. **Biochemistry**, 11:3276- 3285, 1972.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe. **Biology of reproduction**, v. 53, n. 6, p. 1527–1543, 1995.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W.; BURGHARDT, R. C.; PALMARINI, M. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: Roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n. 1, p. 65–78, 2007.

STOCCO, C.; TELLERIA, C.; GIBORI, G. The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. **Endocrine Reviews**, v.28, p.117–149, 2007.

SETÚBAL, S.S.; PONTES, A.S.; FURTADO, J.L.; XAVIER, C.V.; SILVA, F.L.; KAYANO, A.M.; IZIDORO, L.F.M.; SOARES, A.M.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; ZULIANI, J.P. Action of Two Phospholipases A2 Purified from Bothrops alternatus Snake Venom on Macrophages. **Biochemistry**, v. 78, n. 2, p. 194-203, 2013.

SUH, D. Y.; HUNT, T. K.; SPENCER, E. M. Insulin-like growth factor-I reverses the impairment of wound healing induced by corticosteroids in rats. **Endocrinology**, v. 131, n. 5, p. 2399-2403, 1992.

THATCHER, W.; TERQUI, M.; THIMONIER, J.; MAULEON, P. Effect of estradiol-17 β on peripheral plasma concentration of 15-keto-13,14-dihydro PGF2 α and luteolysis in cyclic cattle. **Prostaglandins**, v. 31, n. 4, p. 745–756, 1986.

TIAN, X. C.; BERNDTSON, a K.; FORTUNE, J. E. Changes in levels of messenger ribonucleic acid for cytochrome P450 side-chain cleavage and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase during prostaglandin F2 alpha-induced luteolysis in cattle. **Biology of reproduction**, v. 50, n. 2, p. 349–356, 1994.

TITHOF, P. K.; ROBERTS, M. P.; GUAN, W.; ELGAYYAR, M.; GODKIN, J. D. Distinct phospholipase A2 enzymes regulate prostaglandin E2 and F2 α production by

bovine endometrial epithelial cells. **Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E**, v. 5, p. 16, 2007.

TYSSELING, K. A.; THATCHER, W. W.; BAZER, F. W.; HANSEN, P. J.; MIRANDO, M. A. Mechanisms regulating prostaglandin F₂ α secretion from the bovine endometrium. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 382–389, 1997.

VALLET, J. L.; LAMMING, G. E.; BATTEN, M. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and oestradiol in the ewe. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 90, n. 2, p. 625–634, 1990.

VANE, J. R.; BAKHLE, Y. S.; BOTTING, R. M. Cyclooxygenases 1 and 2. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**. 38:97-120, 1998.

VIGHIO, G. H.; LIPTRAP, R. M. Plasma concentrations of oxytocin, prostaglandin and ovarian steroids during spontaneous luteolysis in the cow. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 3, n. 3, p. 209–215, 1986.

VILLA-GODOY, A.; IRELAND, J. J.; WORTMAN, J. A.; AMES, N. K.; FOGWEL, R. L. Luteal function in heifers following destruction of ovarian follicles. *Journal of Animal Science*, v. 53, p. 372, 1981.

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. **Journal of Animal Science**, v. 60, n. 2, p. 519–527, 1985.

WATHES, D. C.; HAMON, M. Localization of oestradiol, P₄ and oxytocin receptors in the uterus during the oestrus cycle and early pregnancy of the ewe. **Journal of Endocrinology**, v.138, p.479–91, 1993.

WALTERS, D. L.; SCHAMS, D.; SCHALLENBERGER, E. Pulsatile secretion of gonadotropins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the luteal phase of the oestrous cycle of the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.71, p.479–91, 1984.

WEBB, R.; MITCHELL, M. D.; FALCONER, J.; ROBINSON, J. S. Temporal relationships between peripheral plasma concentrations of oxytocin, progesterone and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F₂ α during the oestrus cycle and early pregnancy in the ewe. **Prostaglandins**, v.22; p.443–53; 1981.

WEBB, R.; WOAD, K. J.; ARMSTRONG, D. J. Corpus luteum function: local control mechanisms. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.277–285, 2002.

WEEMS, C. W.; WEEMS, Y. S.; RANDEL, R. D. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. **Vet J**, v.171, p.206–28, 2006.

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT JR, H. F.; LESCH, T. N. A Dairy Cow Body Condition Scoring System and Its Relationship to Selected Production Characteristics. 65(3): 495-501, 1982.

WOCLAWEK-POTOCA, I.; BOBER, A.; KORZEKWA, A.; OKUDA, K.; SKARZYNSKI, D. J. Equol and para-ethyl-phenol stimulate prostaglandin F(2alpha) secretion in bovine corpus luteum: intracellular mechanisms of action. **Prostaglandins & Other Lipides Mediators**, v. 79, n. 3-4, p. 287-297, 2006.

XIE, W.; CHIPMAN, J. G.; ROBERTSON, D. L. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. **Proc Natl Acad Sci**. 88: 2692-2696, 1991.

ZINGG, H. H.; GRAZZINI, E.; BRETON, C. ; LARCHER, A. ; ROZEN, F. ; RUSSO, C. ; GUILLON, G.; MOUILLAC, B. Review. Genomic and non-genomic mechanisms of oxytocin receptor regulation. **Adv Exp Med Biol**, v.449, p.287-95, 1998.