

Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária
Mestrado em Medicina Veterinária Tropical

**USO DE UM INIBIDOR DA SÍNTESE DE PROSTAGLANDINAS SOBRE A TAXA
DE PREENHEZ EM RECEPTORAS BOVINAS COM DIFERENTES GRAUS DE
MANIPULAÇÃO CERVICAL**

DANIELA SOUZA FREITAS

Salvador - Bahia

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DANIELA SOUZA FREITAS

**USO DE UM INIBIDOR DA SÍNTESE DE PROSTAGLANDINAS SOBRE A TAXA
DE PREENHEZ EM RECEPTORAS BOVINAS COM DIFERENTES GRAUS DE
MANIPULAÇÃO CERVICAL**

Dissertação apresentada à Escola de
Medicina Veterinária da
Universidade Federal da Bahia,
como requisito para a obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal
nos Trópicos, na área de
Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Lisboa Ribeiro Filho

**Salvador – Bahia
2007**

FICHA CATALOGRÁFICA:

FREITAS, Daniela Souza

Uso de um inibidor da síntese de prostaglandinas sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas com diferentes graus de manipulação cervical /Daniela Souza Freitas --Salvador: UFBA/Escola de Medicina Veterinária, 2007.

63 f: il.

Orientador: Antonio de Lisboa Ribeiro Filho

Dissertação (mestrado) – UFBA/ Escola de Medicina Veterinária/Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos, 2007.

1. Flunixin meglumine 2. PGF₂α
3. Prenhez 4. Receptoras 5. Transferência de embriões I. Ribeiro Filho, Antônio de Lisboa. II. Universidade Federal da Bahia/ Escola de Medicina Veterinária III Título.

**USO DE UM INIBIDOR DA SÍNTESE DE PROSTAGLANDINAS SOBRE A TAXA
DE PREENHEZ EM RECEPTORAS BOVINAS COM DIFERENTES GRAUS DE
MANIPULAÇÃO CERVICAL**

DANIELA SOUZA FREITAS

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Salvador, 05 de dezembro de 2007.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Antonio de Lisboa Ribeiro Filho
Orientador

Prof. Dr. Marcos Chalhoub Coelho Lima

Prof. Dr. José Vasconcelos

Aos meus pais Gercy Freitas (in memoriam) e Daniel Freitas;

À minha irmã Flávia Freitas;

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre ao meu lado me orientando;

A minha família, pelo incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida e
especialmente desta caminhada;

Ao Prof. Dr. Antônio de Lisboa Ribeiro Filho pela amizade, orientação, paciência e confiança
no meu potencial para a realização com sucesso deste trabalho.

Ao Setor de Pós-Graduação da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da
Bahia;

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro em
forma de bolsa de estudo indispensável para a realização deste estudo;

À Empresa Ouro Fino pela colaboração na doação do antiluteolítico utilizado neste trabalho;

À iniciativa privada por ceder os animais e locações, imprescindíveis para o andamento do
estudo;

Aos colegas da Pós-Graduação por compartilharem esse momento enriquecedor e desafiador
de nossas vidas;

Às amigas queridas, Ana Karine Almeida, Ana Paula Portela, Débora Barboza, Lídia Oliveira,
Sueli Santana, pela cumplicidade, carinho, companheirismo, atenção e amizade a mim
dispensados;

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!!!!

“O estudo da gramática não faz poetas. O estudo da harmonia não faz compositores. O estudo da psicologia não faz pessoas equilibradas. O estudo das ciências da educação não faz educadores. Educadores não podem ser produzidos. Educadores nascem. O que se pode fazer é ajudá-los a nascer. Para isso eu falo e escrevo: para que eles tenham coragem de nascer. Quero educar os educadores. E isso me dá grande prazer porque não existe coisa mais importante que educar. Pela educação o indivíduo se torna mais apto para viver: aprende a pensar e a resolver problemas práticos da vida. Pela educação ele se torna mais sensível e rico interiormente, o que faz dele uma pessoa mais bonita, mais feliz e mais capaz de conviver com os outros. A maioria dos problemas da sociedade se resolveria se os indivíduos tivessem aprendido a pensar.” (Rubem Alves)

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
RESUMO.....	vii
<i>SUMMARY.....</i>	viii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	06
2.1 Implantação e placentação.....	06
2.2 Reconhecimento materno da gestação.....	08
2.3 O corpo lúteo bovino.....	13
2.3.1 Mecanismo de estímulo de LH para síntese de progesterona.....	16
2.4 Prostaglandinas.....	17
2.4.1 Mecanismo de ação das prostaglandinas.....	20
2.4.2 Efeito luteolítico.....	22
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	27
1 Introdução.....	28
2 Material e Métodos.....	30
2.1 Os animais.....	30
2.2 Experimento.....	30
2.2.1 Tratamento superovulatório e inseminação artificial das doadoras.....	30
2.2.2 Colheita dos embriões.....	31
2.2.3 Preparação e inovulação das receptoras.....	32
2.2.4 Diagnóstico de gestação.....	32

2.3 Análise Estatística.....	33
3 Resultados e Discussão.....	33
4 Conclusão.....	39
5 Referências Bibliográficas.....	39
4 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	43
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Participação do Brasil no total de embriões transferidos no mundo.....	04
Tabela 2-	Média e desvio padrão da qualidade do corpo lúteo, estágio de desenvolvimento embrionário e qualidade dos embriões inovulados nas receptoras durante os tratamentos.....	34
Tabela 3-	Taxa de prenhez geral dos animais nos dois tratamentos.....	36
Tabela 4-	Taxa de prenhez das receptoras nos dois tratamentos.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Desenho esquemático representativo do início da prenhez em vacas.....	10
Figura 2-	Estrutura química do Flunixin Meglumine.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS

AINE	- Antiinflamatório não esteróide
AMPc	- Adenosina 3', 5'- monofosfato cíclico
BE	- Benzoato de estradiol
BNC	- Célula Binucleada Trofoblástica
Ca ⁺⁺	- Íon cálcio
CL	- Corpo Lúteo
CNA	- Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil
COX	- Enzima Cicloxigenase
DNA	- Ácido Desoxirribonucléico
ET-1	- Endotelina-1
FIV	- Fertilização <i>in vitro</i>
FM	- Flunixin Meglumine
FSH	- Hormônio Folículo Estimulante
GDP	- Guanosina Difosfata
GnRH	- Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
GTP	- Guanosina Trifosfata
IA	- Inseminação Artificial
IATF	- Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IETS	- International Embryo Transfer Society
IM	- Intra-muscular
INF-	- Interferon-
IVP	- Produção in vitro
LH	- Hormônio luteinizante
LLC	- Large luteum cell
mg	- miligrama
Mg ⁺⁺	- íon magnésio
mL	- mililitro
MOET	- Múltipla Ovulação e Transferência de Embriões
mRNA	- Ácido Ribonucléico mensageiro
ng	- nanograma
OPU	- Ovum Pick-Up

P ₄	- Progesterona
PGD ₂	- Prostaglandina D ₂ .
PGE ₂	- Prostaglandina E ₂ .
PGF ₂ α	- Prostaglandina F ₂ α
PGG	- Prostaglandina G ₂ .
PGI ₂	- Prostacilinas
PLA ₂	- Enzima fosfolipase A ₂
PPARs	- Peroxisome – Activated Receptors
SIV	- Via Submucosa-Intravulvar
SLC	- Pequena célula luteal
TE	- Transferência de Embriões
UI	- Unidades Internacionais
US	- Ultra-som ou ultra-sonografia
MHz	- Megahertz
µm	- micrometro
TNF-α	- Fator de necrose tumoral alfa

FREITAS, D. S. Uso de um inibidor da síntese de prostaglandinas sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas com diferentes graus de manipulação cervical. Salvador, Bahia, 2007. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2007.

RESUMO

A prenhez é estabelecida e mantida em resposta a uma série de interações entre o conceito e o trato reprodutivo materno. O bloqueio da luteólise depende da capacidade do conceito em enviar efetivos sinais antiluteolíticos e do endométrio materno de responder a estes sinais bloqueando assim a produção de Prostaglandina F₂ (PGF₂). Tal comunicação materno-fetal nem sempre obtém sucesso, resultando na ocorrência da luteólise e conseqüente perda embrionária. Durante o procedimento não cirúrgico de inovulação, a cérvix e o útero da receptora têm que ser manipulados pela via retal, a fim de que o embrião possa ser corretamente depositado no terço médio do corno uterino ipsilateral ao corpo lúteo. Essa manipulação provoca a liberação de PGF₂ a partir do endométrio, podendo comprometer a viabilidade da gestação, através da luteólise. Dentre as drogas antiinflamatórias não-esteróides, o flunixin meglumine (FM) é o mais potente inibidor da produção de prostaglandinas. Objetivou-se avaliar o efeito da administração do FM sobre as taxas de prenhez de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldade. Para a realização deste trabalho foram feitas 12 colheitas de embriões, onde as estruturas foram classificadas segundo a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) e somente aquelas de grau 1, 2 e 3 foram consideradas viáveis e posteriormente transferidas. Anteriormente às inovulações, os animais foram submetidos ao exame ginecológico, a fim de comprovar a capacidade reprodutiva. Trezentas e trinta e sete vacas mestiças foram divididas aleatoriamente em dois grupos. No momento da inovulação, foram aplicados 500 mg (10mL) de Flunixin Meglumine (Desflan, Ouro Fino, Brasil) por via intramuscular nos animais, enquanto que as fêmeas do G1 (n = 242) não receberam nenhuma aplicação. O diagnóstico de gestação foi realizado oito semanas após as inovulações dos embriões, por meio da ultrasonografia transretal. Para comparar a taxa de prenhez entre os grupos estudados, utilizou-se um estudo de dispersão de freqüências, empregando-se para isso o teste de qui-quadrado (χ^2). As taxas de prenhez das receptoras do G1 e G2 foram, respectivamente, 50,0 % (121/242) e 56,8 % (54/95) não havendo diferença entre os grupos ($p > 0,05$). Também foram investigadas dentro dos grupos, as receptoras que apresentaram algum grau de dificuldade para serem inovuladas. As cérvix receberam classificação como 1 e 2, sendo 1 cérvix de fácil passagem e 2 cérvix com algum grau de dificuldade de passagem. As taxas de prenhez encontradas para as receptoras com cérvix grau 1 nos grupos G1 e G2, respectivamente, foram de 54,30% e 50,00% e grau 2 de 36,20% e 61,40 %. Houve diferença estatística para cérvix grau 2 ($p < 0,05$). Sendo assim, neste trabalho, a utilização do FM como inibidor da produção de PGF₂ não alterou a taxa de prenhez geral das receptoras mestiças. Contudo, houve diferença estatística na taxa de prenhez em receptoras com algum grau de dificuldade para inovulação. Os resultados deste estudo demonstram que o uso do FM pode ser útil em receptoras que apresentam algum grau de dificuldade para passagem da cérvix no momento da inovulação.

Palavras - chave: flunixin meglumine, PGF₂ α , prenhez, receptoras, transferência de embriões

FREITAS, D.S. Use of the synthesis inhibitor of prostaglandins on the bovine embryos receiving pregnancy rates with differences degrees as manipulation of cervix. Salvador, Bahia, 2007. 63 p. Dissertation (Master of Animal Science in Tropical) - School of Veterinary Medicine, Federal University of Bahia, 2007.

SUMMARY

Pregnancy is established and maintained in response to a series of interactions between the conceptus and maternal reproductive tract. In cattle, CL lifespan is controlled by release of PGF₂ from the uterus. Blocking luteolysis is dependent on the ability of the conceptus to send effective antiluteolytic signals and on the capacity of the endometrium to respond to such signals, thus blocking PGF₂ production. Such communications between conceptus and maternal units are not always successful could cause luteolysis and a subsequent loss of pregnancy. During the non surgical embryo transfer, recipient cervix and uterus have to be manipulated per rectum, so the embryo can correctly be deposited in third part of the uterine horn ipsilateral to *corpus luteum*. This manipulation can cause endometrium F2 Prostaglandin (PGF₂) liberation and may compromise the gestation viability, through luteolysis. Among non esterooids anti-inflammatory drugs, Flunixin Meglumine (FM) is the most powerful inhibitor of prostaglandins production. The objective of this research was to study the effect of FM administration on bovine embryo recipients pregnancy rates. For this work, 12 embryos flushing were done. Embryos were classified according to International Society of Embryo Transfer. Only 1, 2 and 3 degrees embryos were considered viable and transferred. Previously embryo transfer, recipients were submitted to gynecological exam, in order to prove their reproductive viability. Three hundred and thirty-seven cows were divided in two experimental groups. At the transfer moment, G2 recipients (n = 95) received 500mg (10mL) of Flunixin Meglumine (Desflan, Fine Gold, Brazil) IM, while G1 females (n = 242) did not. The pregnancy diagnosis was carried out eight weeks after embryo transfer by transrectal ultrasonography. To compare pregnancy rates of experimental groups, the frequency dispersion study was used and data were analyzed by Chi-square test (χ^2). The pregnancy rates of G1 and G2 were respectively, 50, 00 % and 56, 80 %. It did not have difference between groups (p>0, 05). The recipients have been assessed and categorised inside from the groups, at the transfer moment, as to the degrees difficulty to embryo transfer. The cervix receive classification of 1 and 2, being 1 of easy passage and 2 with any degree of difficulty embryo transfer. Pregnancy rates of recipient with cervix degree 1 in groups G1 and G2 were respectively 54, 30% and 50, 00% and degree 2 of 36, 20% and 61, 40 %. It do have statistic difference to cervix degree 2 (p<0, 05). In this work, use of FM as PGF₂ inhibitor did not modify the crossbred recipient pregnancy rates general. However, there was statistic difference to recipients with cervix with some difficult degree to embryo transfer. These data suggest that the use of this anti-inflammatory in Embryo Transfer programs can be helpful in recipients with cervix some difficult degree to embryo transfer.

Key words: embryo transfer, flunixin meglumine, PGF₂ α , pregnancy, recipients

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil detém o maior rebanho bovino comercial do mundo, com aproximadamente 195 milhões de cabeças, sendo a maioria deste formada por animais zebuínos (IBGE, 2005). Apesar de ter o maior rebanho comercial de gado bovino do mundo e vasta extensão de pastagens, o Brasil ainda não apresenta índices zootécnicos satisfatórios (MALUF, 2002). No ano de 1996, estimou-se que do total do rebanho nacional, 2.16 milhões eram touros e 46.2 milhões eram vacas, revelando uma relação de 21.3 vacas para cada touro, o que significa uma boa quantidade de touros no rebanho. Entretanto, 90% dos touros usados na pecuária de corte não são animais selecionados e testados quanto à libido, capacidade de serviço em exame andrológico e ganho de peso (TAMASSIA & HADDAD, 2000).

Com preços competitivos, investimentos em tecnologia e melhoramento genético, o Brasil afetará significativamente a competição internacional no mercado de carne bovina (USDA, 2003). O Brasil hoje assume a posição de líder mundial nas exportações de carne e a previsão da CNA (Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil) é de que a receita cambial obtida com as exportações de carnes deve superar a casa dos US\$ 10 bilhões em 2007 (SALVADOR, 2007). Devido ao contexto atual e às perspectivas mundiais em que o Brasil se enquadra é que cada vez mais a eficiência reprodutiva se torna essencial na prática da bovinocultura. Por isso, técnicas reprodutivas têm sido desenvolvidas, aperfeiçoadas e utilizadas com a finalidade de melhorar a eficiência reprodutiva em prol de se alcançar alta produtividade e retorno econômico (GARCIA, 2003).

Com valorização e demanda crescente para a produção de grãos, cana e outros, é inevitável a perda de áreas de pastagens para a agricultura. Estima-se que nos próximos cinco anos, mais de 15 milhões de hectares de áreas de pastagens se tornarão áreas de cultivo de soja, milho, algodão, cana e outros. Em resumo: o Brasil terá que produzir mais carne numa área menor. Estas forças aparentemente opostas apontam para uma mesma direção: aumento de produtividade. A eficiência reprodutiva tem um papel primordial neste contexto (FERNANDES & FIGUEIREDO, 2007).

Em face das prementes demandas da produção de proteína animal, pesquisadores buscam o aprimoramento e a exploração de animais dotados de elevada capacidade genética no ganho de peso e na produção de leite. Nesse contexto, na atual década, a medicina veterinária empenhou-se profundamente no sentido da melhora e aplicabilidade das biotécnicas da reprodução. Nesse particular, a transferência de embrião (TE) nos bovinos obteve consideráveis avanços nos últimos anos (DEMCZUK et al. 1998).

Na criação de bovinos de corte a produtividade está diretamente ligada à eficiência reprodutiva das fêmeas, que deve apresentar um adequado intervalo entre partos, ao redor de 12 meses (BERTAN, 2004). No Brasil, infelizmente, há baixa taxa de natalidade e alta taxa de mortalidade que, associadas, caracterizam longos intervalos entre partos, e em propriedades especializadas na produção de novilhos para o abate, estas taxas certamente representam os principais fatores na composição dos custos. Certamente, mudanças nesta situação representam um grande desafio para a pecuária brasileira nos próximos anos. Para a cadeia produtiva de carne bovina brasileira, torna-se necessário conceber um conjunto de medidas que viabilizem ao máximo tal atividade, pois as oportunidades de crescimento deste setor são ímpares no momento presente.

De acordo com Ferraz & Eller (2001) o uso das biotecnologias aplicadas à reprodução animal têm sido de enorme importância e produzido grande efeito nos programas de melhoramento animal. Inicialmente a inseminação artificial (IA) e o congelamento de sêmen possibilitaram o uso intensivo de material genético masculino, com importantes alterações nas frequências gênicas das populações.

Mais recentemente as biotécnicas de superovulação, transferência e sexagem de embriões, a colheita de oócitos (ovum pick-up - OPU), a produção de embriões em laboratório (PIV) e a fertilização in vitro (FIV) diminuiram as intensas limitações da disseminação de material genético feminino (LAND & HILL, 1975).

Os efeitos dessas tecnologias são evidentes, levando a ganhos genéticos muito superiores aos obtidos na reprodução natural. Isso é muito importante em espécies de baixa intensidade reprodutiva e longo intervalo de gerações, como os bovinos (leiteiros e de corte) e em menor grau em ovinos e caprinos.

Pereira, Sohnrey & Holtz (1998) destacaram como principais vantagens da transferência de embriões o aumento das taxas reprodutivas, principalmente de espécies uníparas, maior intensidade de seleção dentre as fêmeas, rápida expansão de estoques raros, a condução de experimentos genéticos com utilização de material geneticamente semelhante em ambientes diferentes e o estudo de exigências necessárias para boa fertilidade e desenvolvimento normal dos embriões. Estes mesmos autores relatam as desvantagens, que não são desprezíveis, podendo ser citadas dentre elas, o custo da técnica, o aumento da incidência de gêmeos com conseqüente aumento de mortalidade e distocias, o aumento da endogamia do rebanho, a propagação de problemas genéticos e dificuldades da técnica.

A TE foi realizada pela primeira vez em 1891 em embriões de coelhos e, inicialmente, não despertou muita atenção. Em bovinos essa técnica foi realizada com sucesso em 1951, porém somente tornou-se comercialmente viável a partir de 1970 (VIANNA, 1990). Desde então, milhões de embriões bovinos são transferidos em todo o mundo. De acordo com dados do comitê da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS), anualmente são transferidos cerca de 500.000 embriões bovinos (THIBIER, 2004).

O Brasil é um dos países do mundo onde a técnica de TE em bovinos mais evoluiu nos últimos 10 anos. Nas estatísticas de 2002 da IETS, o Brasil já figura como o 2º colocado em aplicação da técnica. Cerca de 70.000 embriões bovinos são transferidos anualmente no Brasil, quantidade inferior apenas aos 176.000 embriões transferidos dos EUA (THIBIER, 2001). Embora experimentando crescimento, a utilização da tecnologia de embriões, visando à multiplicação de genótipos superiores é pequena, ao considerar-se que o país possui o maior rebanho comercial bovino do mundo.

O aumento da produção *in vitro* e *in vivo* no Brasil contrasta com o cenário mundial atual, no qual países ou regiões que tinham participação expressiva no mercado apresentaram estagnação ou retração na atividade. Os números divulgados pela IETS mostram que a única região em que a TE apresentou evolução semelhante a do Brasil foi a Ásia, particularmente na República Popular da China (THIBIER, 2006). Nesta, contudo, o panorama é muito diferente do Brasil, com uso predominante de embriões congelados e importados e, no caso da FIV, de oócitos provenientes de ovários recuperados em matadouros. Na Europa e nos EUA a produção *in vitro* de embriões bovinos correspondeu, em 2005, a apenas 2,18 e 0,5% do total mundial, respectivamente. Com isso o Brasil foi responsável, nos últimos quatro anos, por aproximadamente 25% da produção total e 50% da produção por FIV de embriões bovinos no mundo (Tabela 1). A retração da FIV na Europa e EUA parece ser resultante de uma combinação de fatores, que incluem os resultados limitados da técnica em raças taurinas, problemas sanitários como os surtos de Febre Aftosa e Encefalomielite Espongiforme Bovina (BSE), redução na exportação de germoplasma bovino e, particularmente na Europa, do menor interesse em aumentos de produtividade dos rebanhos.

Tabela 1: Participação do Brasil no total de embriões transferidos no mundo

Ano base	<i>In vivo</i> (TE)		<i>In vitro</i> (FIV)		Total	
	Brasil	% mundo	Brasil	% mundo	Brasil	% mundo
2005	107.717	17,60 %	128.914	48,46 %	236.631	26,90 %
2004	102.100	18,60 %	80.833	33,70 %	182.933	23,20 %
2003	87.732	16,22 %	63.164	59,50 %	150.896	23,30 %
2002	110.376	20,50 %	48.670	58,40 %	159.046	25,60 %
2001	43,301	10,20 %	401	1,30 %	46.702	9,70 %

Fonte: Fernandes & Oba (2007)

Apesar das vantagens, a TE ainda tem limitações que restringem consideravelmente a difusão desta tecnologia como a variabilidade nas respostas aos tratamentos hormonais e os esforços necessários para a realização destes. Além disto, a seleção e o manejo adequado das

receptoras de embrião são imprescindíveis para o sucesso dos programas de TE, uma vez que a mortalidade embrionária após a inovulação é ainda expressiva e limita sobremaneira a eficiência desta técnica (BÓ et al., 2002).

A mortalidade embrionária associada à falha na manutenção do corpo lúteo aumenta o intervalo entre partos. Para manutenção da gestação, considerando-se desde o momento da fecundação, alguns requisitos são necessários como competência da unidade uterina e da unidade embrionária e sincronia entre estas unidades. É sabido que uma grande porcentagem de embriões é perdida entre os dias oito e 16 da gestação, caracterizado pelo período de alongação do concepto e reconhecimento materno da gestação, associado à manutenção do corpo lúteo (CL) (DISKIN & SREENAN, 1980; BERTAN, 2004).

Uma estratégia que vem sendo estudada atualmente para prevenir a perda embrionária é a utilização de um inibidor da síntese de Prostaglandina F₂ (PGF₂). Alguns estudos demonstram que o Flunixin Meglumine (FM) é uma droga eficiente na inibição da produção de PGF₂ pelo lume uterino. Estes estudos estão mais avançados na espécie caprina. Em bovinos, ainda existem poucos estudos registrados na literatura mundial a respeito da utilização de uma droga inibidora da síntese de PGF₂ sendo utilizada na transferência de embriões com o intuito da redução das taxas de perda embrionária e consecutivo aumento das taxas de prenhez alcançadas com esta biotécnica. No Brasil, até este momento, existem poucos relatos de estudos a respeito deste tema que é relevante para o avanço e aperfeiçoamento da pecuária brasileira.

Devido à carência de estudos acerca dos efeitos de um inibidor da síntese de PGF₂ sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas, o objetivo deste estudo é determinar os efeitos da administração do FM no momento da TE sobre as taxas de prenhez de receptoras bovinas com diferentes graus de dificuldade de passagem pela cérvix no momento da inovulação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Implantação e Placentação

A implantação do blastocisto junto ao útero materno é uma adaptação embrionária associada com a viviparidade requerida para sustentar a nutrição e a proteção do conceito durante a gestação. Nas espécies mamíferas diferentes estratégias estão envolvidas no processo de implantação. Nos ruminantes domésticos o blastocisto passa de forma esférica para tubular, alonga-se rapidamente e são formadas as membranas embrionárias antes da implantação (SPENCER & BANZER, 2004).

Durante o período inicial da gestação, a comunicação materno-embrionária é mediada pelo trofoblasto. A janela de adesão representa o período de máxima receptividade uterina para fixação do embrião no útero. Em resposta aos sinais do embrião, proteínas específicas da gestação são liberadas no sangue materno e uma série de alterações morfológicas, bioquímicas e imunológicas ocorre no ambiente uterino para receptividade do embrião (DUCGOIRAN et al.,1999).

O momento da implantação pode ser regulado pelo tempo que o endométrio fica exposto à estimulação da progesterona. Nesta fase, o blastocisto assume uma posição fixa e inicia um relacionamento de alterações fisiológicas com o útero. A concentração de progesterona sérica aumenta rapidamente após a formação do corpo lúteo. O processo de aderência do conceito nos ruminantes envolve as áreas caruncular e intercaruncular do endométrio. Os conceitos bovinos desenvolvem vilosidades (papilas), que se projetam para o lúmen das glândulas uterinas. A aderência placentária em ruminantes é caracterizada pelo aparecimento de células binucleadas, que crescem a partir de células mononucleadas dos trofoblastos. Estas células binucleadas aparecem por volta do dia 17 e permanecem durante toda a gestação (SCHLAFKE & ENDERS, 1975; HAFEZ, 1992).

O termo implantação se usa habitualmente para indicar a união do trofoblasto com a parede uterina, formando-se a placenta, mas este grau de união varia notadamente entre as espécies. Em bovinos, a implantação inicia-se entre os dias 28-32 e finaliza-se entre os dias 40-45 após a ovulação (BOWEN & BURGHARDT, 2000; NODEN & DE LAHUNTA, 1985).

A evolução no tipo de placentação nas espécies mamíferas tem sido determinante no estabelecimento do caminho pelo qual o concepto deve sinalizar sua presença à mãe (ROBERTS et al., 1997). Entende-se como placentação a forma com que as membranas associadas ao feto se desenvolvem e se associam ao endométrio (BJÖRKMAN, 1976).

O período de pré-implantação compreende interações materno-fetais espécie-específicas que estão ligadas ao reconhecimento materno e a manutenção da prenhez. O concepto sintetiza e secreta citocinas (interferons, interleucinas 1, 2, 4, 6, 10 e outras), enzimas (proteínases), prostaglandinas (F e E), hormônios (estrógenos) e outros fatores ainda desconhecidos. Durante este período, os interferons trofoblásticos na maioria das espécies exercem papel de considerável importância (SCHÄFER-SOMI, 2003).

A função das citocinas durante o estabelecimento da prenhez nos mamíferos é atualmente um assunto de intensos estudos que está crescendo rapidamente. Essa proteína de baixo peso molecular participa da manutenção do corpo lúteo cíclico, adesão fetal, implantação, diferenciação no crescimento fetal e placentário e diversos mecanismos imunomodulatórios. A sua presença em quantidades suficientes parece em alguns casos ser decisiva para a sobrevivência embrionária (NASU et al., 1999; SCHÄFER-SOMI, 2003).

A perda embrionária após o diagnóstico é um dos fatores que reduzem a eficiência reprodutiva em bovinos. Estudos recentes revelam que 7 a 33% das prenhez em vacas de leite são perdidas entre o 28º e 98º dia da gestação (SMITH & STEVENSON, 1995; WARNICK, 1999; INSKEEP, 2002; SILKE et al., 2002; NATION et al., 2003). Dailey et al.

(2002) relataram em seus estudos que a maioria das perdas ocorre nos primeiros 45 dias da gestação.

Melanie et al. (2004) relatam que alguns fatores primários estão associados com a mortalidade embrionária, como a concentração de progesterona na quinta semana de gestação, a ovulação, a condição corporal, a idade e o tempo de serviço. Em seu estudo, eles constataram que a progesterona tem um papel importante no processo da placentação e na manutenção do embrião durante a adesão placentária. Embora a morte embrionária neste estudo tenha ocorrido antes da regressão luteal, poucas gestações foram mantidas com baixas concentrações de P4.

De acordo com Hafez & Hafez (2004), durante e logo após o processo de implantação em animais domésticos, o crescimento externo do mesoderma extra-embriônico ocorre a partir do trofoblasto e migra entre o trofoectoderma e o endoderma. O mesoderma divide-se e combina-se com o trofoectoderma para juntos formarem o saco vitelino. Além disso, o mesoderma contribui para a formação do âmnio e do alantóide, o qual é formado a partir de um brotamento do intestino caudal do embrião. O âmnio é formado sobre o embrião à medida que cai em direção à vesícula e o córion dobra-se e funde-se por cima. Ainda segundo Hafez & Hafez (2004), o saco vitelino regride entre a segunda ou terceira semana de gestação à medida que o alantóide se expande para se fundir com o córion.

2.2 Reconhecimento Materno da Gestação

Entende-se por reconhecimento materno da gestação a interação endócrina, bioquímica e molecular entre o conceito e o tecido uterino levando à manutenção do CL, garantindo concentrações ótimas de progesterona na circulação sanguínea para manutenção da gestação. São mecanismos que inibem a luteólise para garantia das concentrações plasmáticas de progesterona até a complementação da placenta como fonte produtora adicional deste hormônio (HANSEN, 1991).

O denominado “período crítico” no ciclo reprodutivo da vaca pode ser definido como o período em que há o bloqueio do processo luteolítico no momento em que a prenhez é estabelecida. Este processo importantíssimo para a manutenção da prenhez ocorre em torno dos dias 15 e 17 após o estro. O bloqueio da luteólise depende da capacidade do concepto em enviar efetivos sinais antiluteolíticos e do endométrio materno de responder a estes sinais bloqueando assim a produção de PGF2 . Tal comunicação materno-fetal nem sempre obtém sucesso, resultando na ocorrência da luteólise e conseqüente perda embrionária (BINELLI et al., 2001; SPENCER & BANZER, 2004).

É bem estabelecido que a incidência de falhas na gestação, em populações bovinas, é maior durante o período embrionário (entre os dias 1 e 42 da prenhez) do que no período fetal (42 a 280 dias) ou neonatal (até 28 dias após o parto). A perda embrionária, associada à falha no reconhecimento materno anterior ao 18º dia da gestação, representa aproximadamente 40% de todas as perdas em bovinos (FARIN et al., 2004).

Excluindo a falha na fertilização e perdas embrionárias antes de seis a oito dias, os fatores que determinam a perda ou a sobrevivência embrionária após a inseminação são similares àqueles que operam após a TE para as receptoras (SREENAN & DISKIN, 1987). De acordo com alguns autores, a taxa de sobrevivência embrionária após a TE pode ser influenciada por fatores como anormalidades cromossômicas, idade e qualidade dos embriões transferidos, método e local da transferência, sincronia doadora-receptora, estado nutricional e níveis séricos de progesterona na receptora, bem como o estresse calórico (HANSEN & EALY, 1991; FARIN et al., 2004).

A prenhez é estabelecida e mantida em resposta a uma série de interações entre o concepto e o trato reprodutivo materno. Nos bovinos a meia vida do CL é controlada pela liberação da PGF2 do útero. Sinais para o reconhecimento da prenhez são oriundos da ação dos trofoblástos, que agem de forma parácrina interrompendo a produção de PGF2 endometrial. O interferon foi identificado como sendo a molécula antiluteolítica nos bovinos e é produzida pelos trofoblástos do concepto (THATCHER et al., 1997). Esta molécula foi inicialmente

denominada de proteína trofoblástica bovina I. Devido a suas propriedades únicas e para distingui-la de outros interferons se tem a denominado de interferon- τ ou τ (IFN- τ) (Figura 1) (HAUPTMANN & SWETLY, 1985).

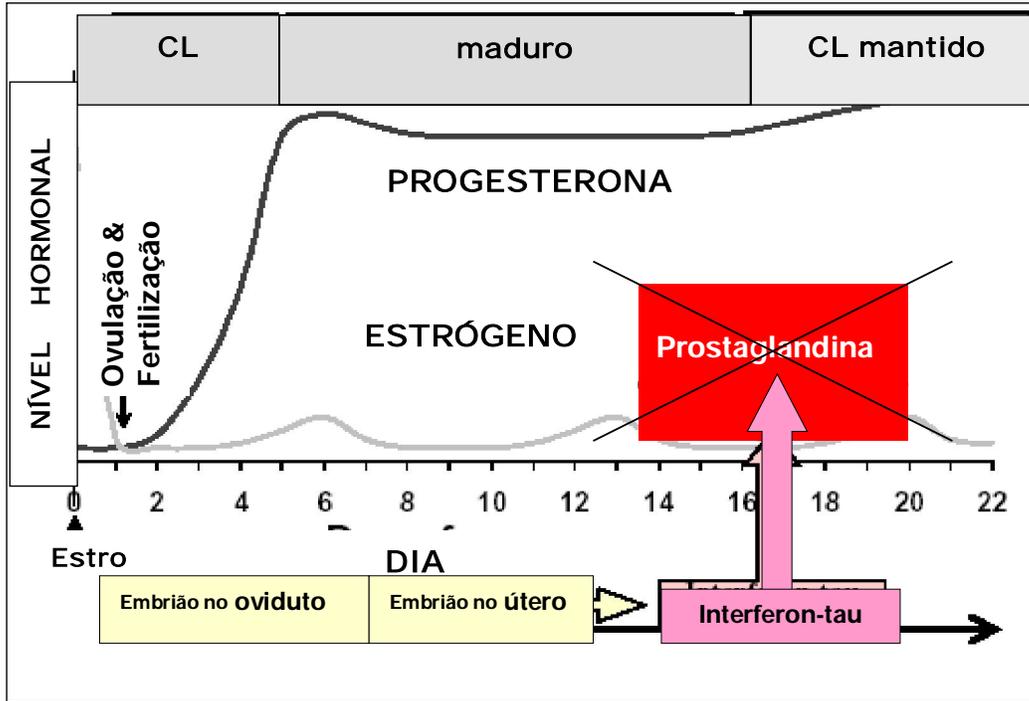


Figura 1. Desenho esquemático representativo do início da prenhez em vacas. Fonte: Geary modificado (2005).

Isachenko et al. (1994) relatam em seus estudos, que a TE associada à transferência de fragmentos trofoblásticos, produzidos por embriões em cultivo aos dias 16-17, elevou significativamente a taxa de gestação de embriões bovinos criopreservados ou transferidos a fresco.

A partir do conceito sobre diálogo materno-fetal, as células trofoblásticas representam a principal unidade de interação com o organismo materno. Dentre as linhagens de células trofoblásticas, destaca-se em ruminantes a Célula Binucleada Trofoblástica (BNC) que se origina a partir de uma célula uninucleada pelo mecanismo de endoduplicação, ou seja, realiza uma cariocinese, sem a ocorrência de uma citocinese (KLISCH et al., 1999; KLISCH et al., 2000). A BNC, que pode ser observada a partir do 17º dia da gestação, migra em direção ao

epitélio uterino (endométrio) e se funde formando células trinucleadas, conferindo à placenta dos ruminantes a classificação de cotiledonária, epiteliocorial ou sinepteliocorial (WOODING, 1992).

Para a prenhez ser estabelecida, o embrião tem que inibir o mecanismo luteolítico e manter a produção de progesterona pelo CL. Este fato ocorre acompanhado pela secreção de interferon- γ em quantidade significativa entre os dias 16 e 26 (MANN et al., 1999; CHAGAS & SILVA et al., 2002). A respeito da importância da progesterona para a sobrevivência embrionária, ainda não há consenso entre as concentrações sistêmicas e no leite deste hormônio e a taxa de prenhez (LARSON et al., 1997; MANN et al., 1999).

O estabelecimento da gestação em vacas envolve complexa integração entre o embrião, ambiente uterino e o CL (SREENAN & DISKIN, 1987; MANN et al., 1995; ROBERTS et al., 1996). Segundo Mann et al. (1995), o estabelecimento da gestação depende da produção do antiluteolítico interferon trofoblástico pelo concepto em tempo hábil. A morte embrionária no início da gestação contribui para redução na taxa de gestação de bovinos (SREENAN & DISKIN, 1987; MANN et al., 1995 e MANN & LAMMING, 1995).

O interferon- γ atua principalmente sobre as células epiteliais como sinal parácrino antiluteolítico, evitando a liberação de prostaglandina F₂ e assegurando a manutenção de um CL funcional. Os mecanismos potenciais pelo qual o interferon- γ atua, incluem dentre outros, a estabilização ou re-regulação dos receptores endometriais da progesterona para manter o bloqueio da progesterona e evitar assim, a expressão de receptores endometriais de estrógenos e ocitocina; a inibição dos receptores endometriais de estrógenos para atenuar a liberação pulsátil de PGF₂ e a inibição da expressão endometrial de receptores para a ocitocina (BARROS, et al., 1995; BAZER, et al., 1994).

Além do bloqueio da PGF₂, o interferon- γ também regula a atividade do sistema imune a fim de evitar o ataque ao embrião. Foram isoladas outras substâncias envolvidas na regulação da resposta imune durante a gestação, como a dipeptidil peptidase-IV, cuja síntese é estimulada

pela progesterona e proteína secretora endometrial, em conjunto denominadas *Serpin Like Proteins*, cuja síntese é estimulada pela progesterona. Outra proteína reguladora da função do sistema imune é a megasupressina, todas elas isoladas no endométrio ovino (SKOPETS, et al., 1992; WEN-JUN & HANSEN, 1995). Skopets et al. (1992) relatam que o interferon bovino inibe a proliferação de sub-populações de linfócitos no endométrio.

A progesterona provoca modificações no ambiente uterino, influenciando o crescimento e desenvolvimento do concepto (GEISERT et al., 1992), mas, de acordo com Mann et al. (1995), o embrião pode não receber suficiente estímulo, mediado pela progesterona, para produção do interferon trofoblástico, necessário para bloquear o desenvolvimento do mecanismo luteolítico e manter a gestação.

O estado fisiológico do útero pode ser modificado pela administração exógena de progesterona (LAWSON & CAHILL, 1983), haja vista o constante uso, por muitos pesquisadores, deste hormônio e/ou de substâncias luteotrópicas ou antiluteolíticas, na tentativa de aumentar a taxa de sobrevivência embrionária (LEWIS et al., 1990; STEVENSON et al., 1993; RYAN et al., 1994).

O hormônio luteinizante (LH) apresenta capacidade de estimular a produção de progesterona pelo corpo lúteo (HOYER & NISWENDER, 1986; NISWENDER & NETT, 1988). A secreção de progesterona é mantida durante o início da gestação, principalmente pela ação dos fatores antiluteolíticos que protegem o corpo lúteo do processo normal de luteólise (HAFEZ, 1992). A progesterona é importante no controle do mecanismo de luteólise, por inibir o desenvolvimento de receptores endometriais para a ocitocina (VALLET & LAMMING, 1991; LAU et al., 1992).

Em vacas com baixa concentração de progesterona, esta inibição é menos efetiva (LAMMING & MANN, 1993) e o mecanismo luteolítico desenvolve-se antecipadamente, proporcionando menor tempo para o embrião produzir suficiente quantidade de interferon trofoblástico capaz de bloquear a luteólise. Remsem et al. (1982) encontraram correlação

positiva entre a concentração de progesterona no dia da inovulação e a subsequente taxa de gestação, em um estudo com 223 receptoras de embriões bovinos.

Chagas & Silva et al., (2002) em um estudo para verificar a relação dos níveis plasmáticos de progesterona e a sobrevivência embrionária em receptoras após a transferência e para comparar os perfis plasmáticos entre vacas em lactação e novilhas constataram que os baixos níveis de P4 plasmáticas no dia sete em vacas lactantes pode afetar negativamente a sobrevivência embrionária, enquanto que em novilhas esse efeito é menos notório. Vacas lactantes, nestas condições, têm maior possibilidade de sofrer morte embrionária do que novilhas, principalmente no caso de embriões congelados. Isto estaria associado à baixa competência do CL no dia sete.

2.3 O corpo lúteo bovino

O corpo lúteo participa da maioria dos processos reprodutivos. Ele é um órgão endócrino transiente, formado da ruptura do folículo ovulatório e sua função primária é chave importante em muitos processos reprodutivos como a ovulação, ciclo estral, reconhecimento materno da gestação e sobrevivência embrionária. A principal função do CL é a produção de progesterona, a qual prepara o endométrio para implantação e manutenção da gestação (WILTBANK, 1994; SAKAMOTO et al., 1995; MILVAE et al., 1996; MILVAE, 2000; WEBB et al., 2002).

Na ausência da prenhez, o CL sofre mudanças funcionais e morfológicas. A regressão do CL nos ruminantes não é atribuída à queda do estímulo luteotrófico, mas sim à presença de pulsos luteolíticos de $PGF2\alpha$. A $PGF2\alpha$ é sintetizada pelas células endometriais uterinas. Ela é produzida sob influência do estradiol e progesterona. O estradiol age estimulando a síntese de receptores de ocitocina no endométrio. Sob estímulo da ocitocina produzida pelo próprio CL ou oriunda da neurohipófise, estabelece-se um *feedback* positivo com as células do

endométrio uterino para a síntese de $PGF2\alpha$, culminando assim com a destruição do CL (THATCHER et al., 1990; HANSEL et al., 1991; BAIRD, 1992; MILVAE et al., 1996).

O CL é desenvolvido a partir do folículo ovariano, após o processo de ovulação e é controlado por hormônios. Literalmente significa “corpo amarelo”. Na vaca a cor amarela é causada pelos altos níveis de β -caroteno, um precursor da vitamina A que é antioxidante (HURLEY & DOANNE, 1969; GRAVES - HOAGLAND et al., 1989).

O processo de luteinização resulta em mudanças estruturais e funcionais através da ruptura da membrana basal, que no folículo separa a camada da teca da camada da granulosa, levando a mudanças bioquímicas que torna uma estrutura que secreta predominantemente andrógenos e estrógenos em uma que secreta progesterona (MILVAE et al., 1996). O processo ovulatório é parte integrante dos estágios iniciais da luteinização, embora o processo de luteinização não necessite do evento da ovulação para ocorrer. À medida que o processo ovulatório prossegue, as camadas da teca e da granulosa se rompem, devido a um aumento na pressão intrafolicular, e o oócito então é liberado para ser captado pelo oviduto através da pressão negativa gerada pelos movimentos ciliares (SOUZA & MORAIS, 1998).

O CL contém populações de células heterólogas que incluem as grandes células esteroidogênicas luteais (LLC) e as pequenas células esteroidogênicas (SLC) que são células luteinizadas da granulosa e teca folicular, respectivamente (FIELDS & FIELDS, 1996). Estes dois tipos celulares perfazem aproximadamente 70% do volume do CL (O'SHEA et al., 1989). As SLC compreendem 26% (em número) das células luteais; perfazem aproximadamente 28% do volume do CL e são conhecidas pela produção de progesterona quando estimuladas pelo LH. Caracterizam-se por medirem menos que 20 μ m e produzem poucas quantidades de P4. Já as LLCs compreendem apenas 3% (em número) das células luteais, mas perfazem aproximadamente 40% do volume e não são dependentes do LH para secretar progesterona, embora apresentem receptores para tal (FIELDS & FIELDS, 1996). Medem de 20-30 μ m e produzem altas quantidades de P4 (CHEGINI et al., 1991).

O desenvolvimento normal de um CL e sua capacidade de produção de progesterona, fatores de crescimento, fatores angiogênicos e substâncias vasoativas dependem de sua vascularização (ACOSTA & MIYAMOTO, 2004). Durante desenvolvimento de um CL recente, o crescimento da produção hormonal ocorre afetando principalmente a secreção de progesterona do CL *in vivo* (MIYAMOTO et al., 1998) e *in vitro* (KOBAYASHI et al., 2001a).

O ambiente uterino deve estar previamente preparado pela progesterona, fornecendo as condições mais favoráveis para o desenvolvimento do conceito (BINELLI, 2000). A ação da progesterona tem sua importância não apenas durante a gestação, mas também nos momentos que precedem a fecundação, preparando o ambiente uterino para o conceito.

A progesterona é responsável por regular o crescimento e desenvolvimento do embrião (alongamento do blastocisto) e conseqüentemente pela secreção do interferon- β , modulando o desenvolvimento do embrião no útero sincronicamente com o envio do sinal luteolítico (MANN & LAMMING, 2001; CHAGAS & SILVA, 2005; CHAGAS & SILVA, 2007).

No endométrio, a P4 induz a diferenciação das células do estroma, estimula a secreção glandular, promove o acúmulo de vacúolos basais no epitélio glandular (MASLAR & POWERS-CRADDOCK et al., 1986), altera o padrão de secreção de proteínas das células endometriais e induz ao relaxamento do miométrio (NISWENDER et al., 2000).

Nos bovinos as concentrações plasmáticas de progesterona apresentam variações cíclicas durante o ciclo estral normal, desde valores abaixo de 1 ng/mL até 2,3 ng/mL no estro para vacas de raças zebuínas (AGARWAL et al., 1977). Estas concentrações são mantidas elevadas até o início da regressão do corpo lúteo caso não ocorra a gestação. Em animais superovulados, estas concentrações podem ser superiores a 56,7 ng/mL (MORRIS et al., 1988).

O relaxamento induzido no miométrio pela P4 é determinado por um decréscimo na captação do cálcio extracelular, íon requerido para contração das células miométriais (BATRA, 1986). A P4 ainda promove uma baixa regulação na expressão dos genes que regulam os canais dependentes de cálcio, dificultando a entrada de cálcio na célula (TESUKA et al., 1995). A ausência na contratilidade do miométrio e o desenvolvimento glandular do endométrio, promovidos pela P4, são condições essenciais para o desenvolvimento do concepto (embrião e membranas extra-embrionárias).

Morris et al., (1988) encontraram níveis plasmáticos de progesterona em novilhas mestiças holandês-zebu, durante um ciclo normal entre 5 e 6 ng/mL e após o tratamento superovulatório níveis superiores a 60 ng/mL. Estas concentrações elevadas, segundo esses autores, são função direta da massa do tecido luteínico e do número de corpos lúteos funcionais presentes nos ovários

2.3.1 Mecanismo de estímulo de LH para síntese de Progesterona

A secreção de LH é imediatamente regulada pela liberação pulsátil do GnRH hipotalâmico na circulação, que resulta em um pulso de LH correspondente liberado pela hipófise anterior. O pico de LH que inicia sincronicamente com o começo do estro resulta em dois fenômenos simultâneos, porém independentes, que é o da luteinização e o da ovulação. A ovulação dos mamíferos é similar ao processo inflamatório e ocorre durante os primeiros estágios de luteinização que é iniciado pelo pico de gonadotrofinas originário da hipófise. A funcionalidade do CL dos ruminantes, medida pela secreção de progesterona, é regulada pelo LH proveniente da hipófise anterior (SOUZA & MORAIS, 1998).

O LH estimula a secreção de progesterona ligando-se a seus receptores e ativando a adenil ciclase, enzima que sintetiza a adenosina 3', 5'- monofosfato cíclico (AMPC), um mensageiro intracelular da adenil, que é responsável por ativar as enzimas envolvidas na síntese da progesterona. Quando o receptor do LH está desocupado, a guanosina difosfato (GDP) está limitada ao nucleotídeo da proteína guanidil (proteína G) que está inativa. A ligação ao

receptor do LH causa mudanças estruturais na proteína G (ativação), GDP é convertida em guanosina trifosfato (GTP), a hidrólise de GTP é inibida e os pares de proteína G juntamente com o complexo LH-receptor com a adenil ciclase são ativados (BIRNBAUMER et al., 1985).

Em estudos em células luteais de ovelha, demonstram que a estimulação experimental da proteína kinase A ativou a hidrólise do ester do colesterol (WILTBANK et al., 1993) liberando o colesterol para o transporte até a mitocôndria onde se submete a clivagem da cadeia lateral. Além disso, a proteína kinase A pode aumentar o transporte do colesterol nas mitocôndrias para a conversão em pregnenolona (NISWENDER et al., 1994).

A progesterona exerce o efeito de *feedback* negativo na liberação de LH, aparentemente por reduzir a frequência de pulsos de LH. A progesterona tem efeito progestacional inibindo a atividade uterina e estimulando o desenvolvimento glandular uterino (PETERS, 1985). Durante o ciclo estral bovino, o LH é produzido em baixos níveis exceto no momento pré-ovulatório.

2.4 Prostaglandinas

As prostaglandinas são substâncias orgânicas extremamente potentes que aparecem numa grande variedade de tecidos e situações biológicas. Por terem sido primeiramente descobertas e isoladas de líquido seminal, como secreção da próstata, foram assim denominadas, sendo o sufixo “glandinas” associado à glândula (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Alguns anos mais tarde Eliasson (1959) provou que quase todas as prostaglandinas seminais eram originadas nas vesículas seminais e não na próstata, mas o nome permaneceu. Atualmente sabe-se que as prostaglandinas estão presentes em todos os tecidos animais, exercendo várias funções. Quimicamente, são parte de um grupo chamado eicosanóides, derivado do ácido araquidônico (C 20:4), que sofre ciclização por ação da enzima

ciclooxigenase (COX), forma um anel pentano e recebe várias insaturações. São divididas de acordo com sua estrutura e função, produzindo efeitos biológicos diferentes. Possuem quatro grandes grupos: A, B, E, F (MARQUES, 2006).

As prostaglandinas, assim como os leucotrienos, têm sua síntese desencadeada por estímulos nas membranas celulares, que podem ser de natureza fisiológica, farmacológica ou patológica. Por ação da fosfolipase A, o ácido araquidônico, constituinte normal dos fosfolipídios das membranas, é então convertido. Tais estímulos ativam receptores de membrana, acoplados a uma proteína regulatória ligada a um nucleotídeo guanínico (proteína “G”). A partir desta ligação, ativa-se a fosfolipase A específica. Faz parte deste complexo ainda, uma elevação da concentração de cálcio (Ca^{++}) no meio intracelular. A fosfolipase A hidrolisa fosfolipídios da membrana, particularmente fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina, “liberando” assim o ácido araquidônico. Este ácido liberado é então substrato para duas vias enzimáticas, a das ciclooxigenases (COX), que desencadeiam a síntese das prostaglandinas e dos tromboxanos, e a via das lipoxigenases, responsável pela síntese dos leucotrienos (SCHUSTER, 1998; SCHUSTER, 2002; BAO et al., 2002; NOMURA et al., 2004; MARQUES, 2006).

O local de atividade das COX é um canal hidrofóbico que se encontra numa estrutura entre hélices associadas à membrana. Desta maneira, o ácido araquidônico não precisa abandonar a membrana para servir como substrato. A síntese das prostaglandinas inicia-se com as COX catalisando a adição de oxigênio molecular ao ácido araquidônico, formando-se um produto intermediário, o PGG ou prostaglandina G_2 . No outro lado da membrana, as COX cumprem sua função como peroxidases, reduzindo a PG_2 a PGH_2 . Estas prostaglandinas primárias, por assim dizer, têm pouca atividade, mas são substrato para formação das diversas prostaglandinas com atividade, como PGD_2 , PGE_2 , PGF_2 , prostaciclina (PGI_2) e também dos (COHN et al., 1997; OKUDA et al., 2002).

As prostaglandinas endógenas possuem atividades bastante amplas, mas seu efeito fisiológico predominante é provocar contrações ou relaxamento das células musculares lisas em diversos órgãos. Para a medicina veterinária a propriedade terapêutica mais antiga é a capacidade de

algumas da série F provocar a luteólise (TSAI & WILTBANK, 1997). Portanto, pode-se dizer que a PGF₂ é responsável pelo tempo de vida do CL, causando sua regressão morfológica e funcional (KOTWICA et al., 1997), sendo que a regressão funcional precede a regressão morfológica (VIANA et al., 1990). Recentemente outras aplicações terapêuticas tem sido propostas como aceleração da involução uterina (FERNANDES et al., 2002 a,b) e modulação da defesa uterina (LEWIS, 2004). Na vaca, a principal causa dos episódios luteolíticos é a liberação de prostaglandina uterina (MCCRACKEN et al., 1984; SILVIA et al., 1991).

Em fêmeas bovinas, a PGF₂ é o principal agente luteolítico e tem como principal função promover a luteólise (MEIDAN et al., 1999; CARAMBULA et al., 2002) determinando o final da fase luteínica (DAVIS et al., 1988; CHEN et al., 1998). O bloqueio da síntese de P₄ resulta da interação da PGF₂ com os receptores localizados nas células luteais esteroidogênicas (ANDERSON et al., 2001)

As prostaglandinas também exercem um importante papel no processo da ovulação e este tem sido objeto de estudo há algum tempo. Tsafirif et al. (1972) conseguiram provocar a ovulação mediante a PGE₂ em ratas, nas quais se havia bloqueado a liberação da onda pré-ovulatória de LH. Shelton et al. (1990) marcam a PGE₂ como um potente fator luteotrófico, concluindo em seu trabalho que a indometacina (Antiinflamatório não esteróide -AINE) não bloqueia a liberação de LH, mas exerce sua ação anti-ovulatória sobre o folículo, bloqueia a ruptura folicular, mas não sua maturação; as prostaglandinas exercem um papel essencial no mecanismo pelo qual o LH provoca a ruptura folicular e que as prostaglandinas não são necessárias na maturação folicular, ação na qual o LH está envolvido.

Segundo Poyser (1981), o ativador do plasminogênio converte o plasminogênio em plasmina, que é capaz de debilitar a parede do folículo. Portanto, é possível que as prostaglandinas iniciem a síntese de enzimas envolvidas no debilitamento da parede folicular, e que também provoquem o aumento da pressão intrafolicular, através do qual se produz a expulsão do oócito através de uma ruptura na parede do folículo.

Em bovinos ocorre um marcado aumento das concentrações de prostaglandinas no líquido folicular, no período pré-ovulatório, particularmente da prostaglandina F₂, sendo o lugar de sua síntese as células da granulosa do folículo maduro, que parece estimular a síntese de enzimas colagenolíticas, como a colagenase e a elastase, que degradam os tecidos conjuntivos da parede do folículo (KAWAKAMI & KOHMOTO, 1992).

2.4.1 Mecanismo de ação das prostaglandinas

A maior parte dos receptores para prostaglandinas é de superfície de membrana celular, ligadas à proteína “G”, mas há também receptores localizados em membrana de núcleo, cujos ligantes atuam na transcrição, alterando a expressão gênica celular. Recentemente, foi demonstrado que eicosanóides como a PGI₂ (e outras da série J) e leucotrieno B₄ são ligantes endógenos de uma família de receptores ativadores de proliferação do peroxissomo PPARs - *Peroxisome - Activated Receptors*, que regulam o metabolismo lipídico e a diferenciação e proliferação celular. Atualmente, se conhecem 3 isoformas destes receptores, denominados α , β e γ (DANET- DESNOYERS et al., 1994)

Dois sistemas efetores que atuam a partir da liberação de segundos mensageiros são associados à ação de prostaglandinas. Um é o da adenilato ciclase, cuja ativação estimula a síntese do AMPc. As PGI₂, PGD₂, PGE₂, ativam a adenilato ciclase, aumentando a concentração do AMPc. Outro sistema efetor é o da fosfolipase C, que por ação das prostaglandinas, aumenta a formação de diacilglicerol e 1,4 5 trifosfato de inositol, resultando na ativação em cascata de proteína – quinases, e elevação de cálcio intracelular (DANET- DESNOYERS et al., 1994; OKUDA et al., 2002).

Sabe-se que as prostaglandinas participam de diversas ações metabólicas, processos fisiológicos e patológicos, vasodilatação ou vasoconstrição; hiperalgesia; contração ou relaxamento da musculatura brônquica e uterina; hipotensão; ovulação; aumento do fluxo sanguíneo renal; proteção da mucosa gástrica e inibição da secreção ácida também no

estômago; resposta imunológica (ex: inibição da agregação plaquetária); regulação de atividade quimiotática; progressão metastática; função endócrina, entre outras. Desta forma, as prostaglandinas poderão ser produzidas a partir do ácido araquidônico em praticamente todos os tecidos do organismo, sempre que necessário (DANET- DESNOYERS et al.,1994; COHN et al.,1997; OKUDA et al., 2002).

Os níveis sanguíneos da maioria das prostaglandinas geralmente são muito baixos, embora pareçam ser elevados sob certas condições, como no parto. As prostaglandinas são rapidamente metabolizadas e degradadas, o que provavelmente seja responsável pela sua transitória atividade farmacológica e baixos níveis sanguíneos. Estão envolvidas também na liberação de gonadotrofinas (DOMINGUEZ et al., 1996).

A PGF₂ é considerada a substância que inicia a regressão do corpo lúteo. Este conceito surgiu a partir de inúmeras investigações que demonstraram que concentrações elevadas de PGF₂ no sangue devido à administração exógena ou síntese e liberação fisiológicas foram concomitantes com a regressão do corpo lúteo (LEI et al.,1991). Ela é liberada de maneira episódica, aproximadamente 14 dias após a ovulação nas grandes espécies domésticas. Na vaca, por exemplo, as ondas têm em média cinco a seis horas de duração com aproximadamente o mesmo intervalo entre elas (STABENFELDT & EDQVIST, 1988). No entanto, ainda não está totalmente esclarecida a maneira como se dá o controle da secreção de PGF₂ no início da luteólise, a hipótese mais provável é de que a progesterona seja o principal estímulo para o aumento da secreção de PGF₂, sendo assim, os níveis de progesterona nos primeiros dias do ciclo "programariam" o útero para liberar PGF₂ sete a oito dias depois. (GONZÁLEZ, 2001).

A progesterona exerce o papel de agente luteotrófico de maneira parácrina e/ou autócrina e sua ação estimuladora da prostaglandina é mediada pela enzima quinase C no corpo lúteo bovino (OKUDA et al.,1998).

Um dos efeitos da prostaglandina F₂ relacionados ao ovário é a diminuição do fluxo sanguíneo para o corpo lúteo, sendo esta diminuição devido à degeneração dos capilares luteais e não à vasoconstrição que as prostaglandinas podem causar (PATE, 1994).

2.4.2 Efeito luteolítico

O primeiro relato sugerindo que a prostaglandina seria a substância secretada pelo útero e que provocaria a luteólise ocorreu em 1966. Mais tarde se comprovou que a injeção de PGF₂, em ratas, provocava uma marcada diminuição na progesterona e que a PGF₂ seria um fator luteolítico na ovelha. Também foi comprovado que a PGF₂ é o fator envolvido na luteólise em bovinos (PATE & TOWNSON, 1994).

A sincronização do estro, através da aplicação de agentes luteolíticos, com o a PGF₂, ou seus análogos, tem sido amplamente utilizada, em regimes de inseminação artificial, como na técnica de transferência de embriões, para qual é imprescindível. Trata-se de um método prático e que induz um estro de fertilidade comparada ao natural (FERNANDES, 1994). Recentemente, com a implementação dos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), aumentou-se a demanda para a utilização destas substâncias.

Em rum inantes domésticos, somente uma pequena quantidade da PGF₂ uterina alcança o ovário, por difusão da veia uterina para a artéria ovariana (mecanismo denominado de contra corrente), com mais de 95% da PGF₂ sendo metabolizada a componentes inativados com o a 15-ceto-13, 14-didroprostaglandina F₂, por uma única passagem pelos pulmões (FERREIRA & VANE, 1967). Um pulso inicial de prostaglandina, mesmo sendo de baixa magnitude, pode iniciar os mecanismos para que as grandes células luteínicas produzam localmente PGF₂ (TSAI & WILT BANK, 1997). Isto pode explicar porque uma pequena quantidade de PGF₂ uterina é capaz de iniciar a regressão luteal. Ao alcançar o CL, o efeito luteolítico da PGF₂ resultará na associação com os receptores presentes na membrana plasmática das LLCs, iniciando a cascata de rotas intracelulares que resultam na luteólise e conseqüentemente levando a inibição da síntese de progesterona (ANDERSON et al. 2001).

O decréscimo da concentração de progesterona é mais comumente devido à diminuição da capacidade esteroideogênica das células luteais individuais e do fluxo sanguíneo luteal de acordo com Milvae et al., (1996). Embora a PGF2 possa iniciar a luteólise funcional, mecanismos adicionais parecem ser necessários para a luteólise completa. A luteólise é um evento contínuo, e a distinção entre mudanças funcionais e estruturais faz-se necessário para entender o processo como um todo. As grandes células luteínicas provavelmente respondem inicialmente ao sinal luteolítico, mas as comunicações entre grandes e pequenas células, bem como entre células luteais e não luteais parecem ser requeridas para a regressão completa se proceder (PATE, 1994).

Recentes estudos têm demonstrado que as células endoteliais e seus produtos, como a Endotelina-1 (ET-1), são requeridos para a manifestação dos efeitos luteolíticos da PGF2 (MILVAE, 2000; PATE & KEYES, 2001). Esta proteína atua como um potente vasoconstritor, inibe a atividade esteroideogênica, reduz o fluxo sanguíneo durante a luteólise inicial pela constrição arteriolar, leva à hipóxia, e, por conseguinte a apoptose das células (MILVAE et al., 1996; MILVAE, 2000; PATE & KEYES, 2001). A ET-1, que é produzida pelas células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos, apresenta receptores específicos nas LLCs e SLCs (MILVAE, 2000) e desempenha um papel crucial durante a luteólise induzida pela PGF2 (LEVY et al., 2000), agindo como um mediador/promotor luteolítico local na regressão do CL. Estas condições sugerem que a PGF2 e a ET-1 são importantes na rápida cascata funcional da luteólise "in vivo" com uma possível interação entre as células endoteliais e luteais durante a luteólise (MILVAE, 2000; MEDAN & LEVY, 2002).

A regressão luteal causada pela PGF2 apresenta primariamente sua ação através dos receptores específicos presentes na membrana plasmática das grandes células luteínicas (SAKAMOTO et al., 1995) onde o mRNA destes receptores de PGF2 é altamente expressado e acumulado nas grandes células em estágios não específicos do ciclo estral (SAKAMOTO et al., 1994, SAKAMOTO et al., 1995; WILT BANK et al., 1995 e TSAI & WILT BANK, 1998), mas a responsividade do CL à PGF2 aumenta com o tempo, sendo que a afinidade de adesão da prostaglandina aos receptores aumenta 203 vezes dos dias 13 ao 20

do ciclo estral (HUSSAIN & DANIEL, 1991; RAO et al., 1979) apresentando sensibilidade máxima no final da fase luteal (COLAZO et al., 2002). Portanto, a PGF2 não irá induzir a luteólise nos primeiros cinco dias do ciclo estral, quando o CL está em fase inicial de desenvolvimento, embora apresentem mRNA dos receptores para tal. Em adição, a inabilidade de resposta nesta fase também parece ser devido a uma carência de expressão de outros mediadores que levam a esta luteólise (TSAI & WILT BANK, 1998; LEVY et al., 2000).

Portanto, a carência de responsividade do CL inicial não é atribuída a uma deficiência de receptores de alta afinidade à PGF2 (WILT BANK et al., 1995) e uma possível explicação para a ausência da regressão de CLs iniciais após a injeção de PGF2, e sim seria a incompleta vascularização do CL ou incompleta diferenciação dos mecanismos degenerativos nas células luteais. Pode-se sugerir que o tipo de célula que media as ações luteolíticas da PGF2, possivelmente o endotélio, pode ser não responsivo durante a fase luteal inicial (LEVY et al., 2000).

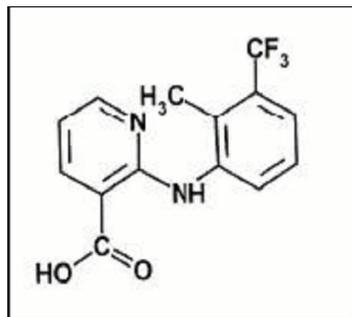
Concordando com tais afirmações, Meidan & Levy (2002) comentam em sua revisão que a administração da PGF2 no dia 4 do ciclo estral não é capaz de provocar a luteólise, pois o CL inicial apresenta falha em aumentar a expressão do gene da ET-1 e seus receptores. Em contraste, ambos os genes são induzidos em CLs mais velhos, quando expostos à PGF2. Fernandes et al. (2006) mostram os efeitos de diferentes doses de um análogo da prostaglandina (Cloprosteno) em animais selecionados para luteólise de acordo com o dia do ciclo estral. Estes autores concluíram que o corpo lúteo apresenta diferença de sensibilidade aos análogos da prostaglandina, de acordo com o dia do ciclo estral em que estes produtos são aplicados.

Uma hipótese sobre a luteólise está relacionada com a morte celular programada. A apoptose é um processo ativo que requer energia e implica em trocas bioquímicas e morfológicas nas células. Provoca um aumento na concentração intracelular de Ca^{++} e a ativação de endonucleases Ca^{++} - Mg^{++} dependentes. Neste processo ocorre a saída de íons e água da célula, o que provoca a contração da mesma. Um fato que se considera indicativo de apoptose

é a ruptura do DNA com formação de oligonucleossomas, estas estruturas têm sido identificadas durante a luteólise induzida pela PGF₂ na ovelha e na vaca (PATE & THOWNSON, 1994; PATE, 1994).

Diferentes métodos farmacológicos têm sido usados para prolongar a fase luteal. As razões para isto têm sido, por exemplo, diminuir o processo inflamatório causado por endotoxinas de bactérias gram+ ou para aumentar a taxa de prenhez após a transferência de embriões. O flunixin meglumine (FM) é um potente antiinflamatório não esteróide (AINE) que inibe a enzima ciclooxigenase e a cascata do ácido aracodônico (Figura 2). Essa inibição resulta na redução na biossíntese de prostaglandina e outras substâncias (ODENSVIK et al., 1989). Estudos anteriores mostraram que a intensa administração parenteral de FM é capaz de adiar a luteólise e prolongar o ciclo estral em novilhas (ALUMLAMA I et al., 1990; ODENSVIK & GUSTAFSSON, 1994).

A absorção por via M do FM é muito rápida, consegue-se atingir concentrações plasmáticas máximas em 30 minutos. A sua biodisponibilidade é de 76%. Alguns estudos mostram que o flunixin meglumine tem meia-vida de eliminação de 4 a 8 horas (PELLEGRINIMASNI et al., 2004).



**Figura 2: Estrutura química do Flunixin Meglumine.
Fonte: Purcell, 2004.**

Merril et al., (2007) realizaram um estudo para determinar os efeitos do FM e do transporte nas taxas de prenhez após IA em vacas de corte. Eles utilizaram a dosagem de 1,1 mg/kg de FM

M e constataram que o FM elevou as taxas de prenhez nos animais tratados, obtendo uma taxa de 71% para os animais tratados contra 61% para os animais não tratados com FM .

Apesar das conseqüências antiprostaglandínicas do FM terem sido demonstradas, o seu uso para prevenção da lise do CL para dar tempo de haver o reconhecimento materno da gestação é limitado. Portanto, são importantes os estudos para investigar se o atraso na lise do CL pode dar mais tempo para o embrião enviar uma mensagem de reconhecimento para o útero materno e desta forma diminuir a perda embrionária (AK E-L OPEZ et al., 2005).

3 ARTIGO CIENTÍFICO:

Uso de um inibidor da síntese de prostaglandinas sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas com diferentes graus de manipulação cervical

Use of the synthesis inhibitor of prostaglandins on the bovine embryos receiving pregnancy rates with differences degrees as manipulation of cervix.

FREITAS, Daniela Souza¹, CHALHOUB², Marcos, PORTELA, Ana Paula Motá³, SILVA, Alexandre Augusto Barbosa¹, SANTANA, Raul Costa Mascarenhas⁴, RIBEIRO FILHO, Antonio de Lisboa²

¹ Médico (a) Veterinário (a) Mestrando (a) em Ciência Animal nos Trópicos - EMEV /UFBA

² Médico Veterinário - Prof. Adjunto do Departamento de Patologia e Clínicas – EMEV /UFBA

³ Médica Veterinária Mestre em Ciência Animal nos Trópicos - EMEV /UFBA

⁴ Médico Veterinário - EMBRAPA / Pecuária Sudeste

E-mail para correspondência: danielafreitas@ufba.br

RESUMO

O propósito deste estudo foi avaliar o efeito do Flunixin Meglumine (FM) sobre as taxas de prenhez de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldade de passagem pela cérvix no momento da inseminação. Utilizou-se 337 vacas que foram divididas aleatoriamente em dois grupos, G1 (n = 242) e G2 (n=95). Após a inseminação, foram aplicados 500 mg de FM por via intramuscular no G2, enquanto o G1 não recebeu esta aplicação. O diagnóstico de gestação foi realizado pela ultrasonografia transretal. A prenhez foi calculada pelo teste qui-quadrado (χ^2). As taxas de prenhez das receptoras do G1 e G2 foram, respectivamente, 50,00% e 56,80% não revelando diferença estatística ($p > 0,05$). Dentro dos grupos, as receptoras foram avaliadas e classificadas, no momento da inseminação, quanto ao grau de dificuldade para inseminação. As cérvix receberam classificação 1, quando de fácil passagem e 2, com algum grau de dificuldade de passagem. As taxas de prenhez para as receptoras com cérvix grau 1 nos grupos G1 e G2, respectivamente, foram de 54,30% e 50,00% e grau 2 de 36,20% e 61,40%. Houve diferença estatística para cérvix grau 2 ($p < 0,05$). Neste trabalho, a utilização do FM não alterou as taxas de prenhez geral das receptoras. Contudo, o seu uso pode ser útil em receptoras com algum grau de dificuldade para inseminação.

Palavras-chave: transferência de embriões, flunixin meglumine, PGF α , receptoras

SUMMARY

The purpose of this research was to study the effect of Flunixin Meglumine (FM) on bovine embryo recipients pregnancy rates with differences degrees as manipulation of cervix. Three hundred and thirty-seven cows were randomly divided in two groups, G1 (n = 242) and G2 (n=95). After the transfer, the G2 received 500 mg of FM intramuscularly, while G1 did not. The pregnancy diagnosis was carried by transrectal ultrasonography. To compare pregnancy rates of groups was used Chi-square test (χ^2). The pregnancy rates of G1 and G2 were respectively, 50,00% and 56,80%. It did not have difference between groups ($p > 0,05$). The recipients have been assessed and categorised inside from the groups, at the transfer moment, as to the degrees difficulty to embryo transfer. The cervix receive classification of 1 and 2, being 1 of easy passage and 2 with any degree of difficulty embryo transfer. Pregnancy rates of recipient with cervix degree 1 in groups G1 and G2 were respectively 54,30% and 50,00% and degree 2 of 36,20% and 61,40%. It do have statistic difference to cervix degree 2 ($p < 0,05$). In this work, use of FM did not modify the crossbred recipient pregnancy rates general. However, its use can be helpful in recipients with cervix some difficult degree to embryo transfer.

Key words: embryo transfer, flunixin meglumine, PGF α , recipients

3.1 INTRODUÇÃO

Atualmente, mais de 500.000 embriões bovinos são transferidos a cada ano (HASLER, 2003). Em um programa de transferência de embriões (TE) não cirúrgica, o útero da receptora é palpado por via transretal para a correta identificação e localização de um corpo lúteo (CL). O embrião é então depositado no corno uterino ipsilateral àquele com o CL. Toda esta manipulação uterina pode desencadear a liberação de Prostaglandina F₂ (PGF₂) pelo endométrio uterino (FERGUSSON, 1941; WANN & RANDEL, 1990). As taxas de prenhez de receptoras têm sido relatadas com o sendo inversamente proporcionais ao tempo requerido para o depósito do embrião no útero (ROWE et al, 1980). A liberação da PGF₂ pode ter efeito direto sobre a sobrevivência e desenvolvimento do embrião (SCHRICK et al., 2003).

O sucesso do processo reprodutivo depende de vários fatores inerentes aos animais bem como de fatores externos. Dentre as condições que podem influenciar esse sistema há um

mecanismo que representa uma das maiores limitações biológicas para serem atingidos índices reprodutivos satisfatórios. Trata-se do evento conhecido como reconhecimento materno da gestação que ocorre no período de perimplantação e pode representar de 30 a 40% das perdas embrionárias nas fêmeas bovinas (DISKIN & SREENAN, 1980; HUMBLLOT, 2001; SANTOS et al., 2004).

A mortalidade embrionária associada à falha na manutenção do corpo lúteo aumenta o intervalo entre partos. Para manutenção da gestação, considerando-se desde o momento da fecundação, alguns requisitos são necessários como competência das unidades uterina, embrionária e a sincronia entre elas. É sabido que uma grande porcentagem de embriões é perdida entre os dias oito e 16 da gestação, representado pelo período de elongação do concepto e reconhecimento materno da gestação, associado à manutenção do CL (DISKIN & SREENAN, 1980; BERTAN, 2004). O mecanismo luteolítico necessita ser bloqueado para proporcionar o estabelecimento da gestação (MARQUES, 2006).

Uma estratégia que vem sendo estudada atualmente para prevenir a perda embrionária é a utilização de um inibidor da síntese de PGF₂. Alguns estudos mostram que o flunixin meglumine é uma droga eficiente na inibição da produção de PGF₂ pelo lúmen uterino. Em bovinos, ainda existem poucos estudos registrados na literatura mundial a respeito da utilização de uma droga inibidora da síntese de PGF₂ sendo utilizada na transferência de embriões com o intuito da redução das taxas de perda embrionária e consecutivo aumento das taxas de prenhez alcançadas com esta biotécnica.

No Brasil, também são poucos os estudos realizados acerca dos efeitos deste inibidor sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas. Logo, o objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da administração do flunixin meglumine no momento da transferência de embriões sobre as taxas de prenhez de receptoras bovinas com diferentes graus de dificuldade de passagem pela cérvix no momento da inseminação..

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Os animais

Este experimento foi desenvolvido no período que compreende o 1º semestre de 2006 e 1º semestre de 2007 e foi realizado em conjunto com a iniciativa privada. Neste estudo foram realizadas 12 colheitas de embriões e foram utilizadas 337 mestiças como receptoras. As receptoras foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos denominados de G1 e G2. O grupo G1 foi composto por 242 receptoras e foi o grupo que não recebeu aplicação do FM. O grupo G2 foi formado por 95 receptoras e foi aquele que recebeu a aplicação do FM.

3.2.2 Experimento

3.2.2.1 Tratamento superovulatório e inseminação artificial das doadoras

O tratamento hormonal das doadoras foi realizado segundo Ribeiro Filho et al. (2004), modificado pela utilização de um indutor da ovulação: os animais tiveram a onda folicular sincronizada com um implante vaginal contendo 1,9g de progesterona (CIDR, Pfizer, Brasil) no Dia 0 e aplicação de 3 mg de benzoato de estradiol (Estrogin, Farnvet, Brasil) por via intramuscular (M) no Dia 1. O tratamento superovulatório teve início no Dia 5 e foi constituído de uma quantidade total de 250 UI de gonadotrofina hipofisária suína (Pluset, Calier, Brasil) divididos em oito doses decrescentes (50 UI BD; 37,5 UI BD; 25 UI BD e 12,50 UI BD). Com a quinta aplicação de FSH, foram administrados 150 mg de D+Cloprostenol Sódico (Prostaglandina Tortuga® Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, SP) M e com a sexta dose de FSH, as vacas receberam mais 75 mg de D+Cloprostenol M. No Dia 8 pela manhã, foi retirado o implante de progesterona. Por fim, no dia 9 pela manhã foram administrados 2 mL de um análogo de GnRH M, a Lecirelina (Gestran Plus, Tecnopec, Brasil), para indução da ovulação. Todas as doadoras utilizadas neste trabalho foram submetidas ao mesmo protocolo de superovulação.

As inseminações das doadoras foram realizadas em tempo fixo (IATF), nos dias 9 de tarde e 10 pela manhã. Para tal, foram utilizadas doses comerciais de sêmen criopreservado, oriundas de animais com fertilidade comprovada. As fêmeas foram inseminadas por via transcervical. O manuseio e estocagem do sêmen destinado às inseminações seguiram a metodologia descrita por Senger (1986). Para a descongelação das amostras de sêmen foi empregado um recipiente térmico destinado especificamente a este propósito. As palhetas de 0,50 mL foram descongeladas a 37°C e o tempo de descongelação não foi menor que 30 segundos ou maior que um minuto (SENGER, 1986). As partidas de sêmen foram avaliadas segundo Henry e Neves, 1998.

3.2.2.2 Coleta dos Embriões

Antes de cada coleta, foram efetuadas a limpeza e assepsia da região perineal das doadoras com água e álcool a 70%, respectivamente. Também foram realizadas a anestesia epidural, utilizando 4 a 7 mL de lidocaína a 2% (Anestésico L, Pearson, Brasil) e a tranquilização, utilizando 0,50 mL de acepromazina a 1% (Acepran, Vethil, Brasil), a fim de diminuir o peristaltismo e desconforto dos animais durante o procedimento. Os embriões foram colhidos não cirurgicamente no sétimo dia após a primeira IA, em meio de lavagem uterina com solução de PBS (Solução Salina Tamponada com fosfato/citrato, Canoga USA). O conteúdo uterino foi filtrado em filtros especiais para embriões, colocado em placas de petri descartáveis e observado ao estereomicroscópio, a fim de se identificar e selecionar os embriões. Após identificação, os embriões foram colocados em solução de manutenção, quando então foram avaliados quanto à qualidade e ao estágio de desenvolvimento. Para tanto foram considerados, o número de células, a compactação dos blastômeros, a forma, cor e tamanho das células, presença ou não de extrusão celular, diferenciação visual entre trofoblasto e massa celular interna, além da presença do blastocelo. A partir da coleta dos embriões avaliou-se o número de estruturas colhidas, fertilizadas e o número de embriões viáveis em cada grupo. As estruturas foram classificadas quanto à qualidade e estágio de desenvolvimento segundo as orientações da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) que compreende oito estágios de desenvolvimento (1 = não fecundado, morto/degenerado, 2 = 2 a 12 células, 3 = mórula inicial, 4 = mórula, 5 = blastocisto inicial, 6 = blastocisto, 7 = blastocisto expandido e 8 = blastocisto eclodido) e quatro de qualidade embrionária (1 = excelente/bom,

2 = regular, 3 = pobre e 4 = morto/degenerado). Somente aquelas com grau de qualidade 1, 2 e 3 foram consideradas viáveis e posteriormente transferidas. Os embriões foram envasados em palhetas devidamente identificadas.

3.2.2.3 Preparação e inovação das receptoras

Todas as receptoras receberam duas injeções, intervaladas por 14 dias, contendo 0,15 mg de D(+) Cloprostenol Sódico, um análogo da $PGF_{2\alpha}$ (Prostaglandina Tortuga[®] Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, SP). As que manifestaram características comportamentais de estro foram submetidas à inovação sete dias depois. Foi realizada a técnica de transferência não cirúrgica, que consistiu na aplicação de anestesia epidural, palpação uterina, identificação e classificação de um CL, inovação através da cérvix, e deposição do embrião no terço final do corno uterino ipsilateral ao CL previamente identificado. O CL das receptoras foi classificado de acordo com sua qualidade em uma escala de 1 a 4, onde 1 (regular), 2 (bom), 3 (excelente) e 4 (incluso). Apenas um embrião foi inovado em cada receptora. Neste momento as receptoras foram avaliadas quanto ao grau de dificuldade de passagem pela cérvix durante a inovação. Elas receberam classificação de 1 ou 2, sendo 1 aquela com cérvix de fácil passagem e 2 aquela com cérvix apresentando algum grau de dificuldade para passagem da pipeta de inovação. Logo após a inovação, as receptoras do G2 receberam uma injeção de Flunixin Meglumine (Desflan, Ouro Fino, Brasil) na dose de 500 mg (10 mL) por via intramuscular.

3.2.2.4 Diagnóstico de Gestação

O diagnóstico de gestação das vacas receptoras foi realizado por ultra-sonografia transretal oito semanas após as respectivas inovações. Utilizou-se um equipamento de ultra-som (ALOKA SSD-500, Aloka, Tokio, Japão) modo B, com um transdutor rígido de 5.0 MHz, do tipo transretal. O desempenho reprodutivo foi avaliado por meio da taxa de prenhez, ou seja, quantidade de vacas prenhes em relação ao número de vacas inovadas.

3.2.3 Análise Estatística

Para as análises estatísticas das características avaliadas, foi empregado o pacote estatístico Statistical Analysis System (SAS) - versão 6 (1996). Para tanto, a taxa de prenhez teve suas tabelas de distribuição e estudo de dispersão de freqüências elaboradas pelo PROC FREQ, utilizando-se o teste de Qui-quadrado (χ^2). As variáveis qualidade do corpo lúteo, estágio embrionário e qualidade embrionária foram comparadas por meio do PROC GLM, utilizando-se o teste de *Student-Newman-Keuls* (SNK).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Schrick et al. (2001) relatam em seus estudos um efeito significativo do FM correlacionado a algumas características embrionárias sobre a taxa de prenhez das receptoras. Eles constatam que o efeito do FM na taxa de prenhez depende e pode variar de acordo com a qualidade embrionária, estágio de desenvolvimento do embrião transferido e tipo de embrião transferido (fresco ou congelado). Este efeito-dependente do FM sobre a taxa de prenhez também foi relatado por Purcell et al. (2005).

Com a finalidade de se estudar a homogeneidade dos grupos, algumas variáveis como qualidade do corpo lúteo (QLCL), estágio embrionário (EEMB) e qualidade embrionária (QEMB) foram analisadas. Os dados concernentes a estas características utilizadas como parâmetro de controle entre os grupos experimentais encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Média e desvio padrão da qualidade do corpo lúteo, estágio de desenvolvimento embrionário e qualidade dos embriões inovulados nas receptoras durante os tratamentos

<u>Tratamentos</u> (N)	<u>QLCL</u> Média ± Desvio Padrão (N)	<u>EEMB</u> Média ± Desvio Padrão (N)	<u>QEMB</u> Média ± Desvio Padrão (N)
G1: Sem FM (242)	2,42 ± 1,02 (241)	4,49 ± 0,84 (240)	1,60 ± 0,79 (240)
G2: FM (95)	2,40 ± 1,01 (95)	4,47 ± 0,83 (95)	1,49 ± 0,75 (95)

Não houve diferença estatística significativa para as variáveis QLCL, EEMB e QEMB entre o grupo sem FM (G1) e o grupo de receptoras tratadas com FM (G2) ($p > 0,05$). Desta forma, pode-se verificar homogeneidade entre os grupos em relação a essas características, antes do início da fase experimental.

Para a qualidade do corpo lúteo (QLCL), foram encontradas médias de 2,40 e 2,42 entre os grupos experimentais. Isto significa que, em média, os CL das receptoras nos dois grupos tinham qualidade entre 2 e 3, ou seja, de excelente e boa qualidade, não interferindo assim nos resultados do experimento. Neste estudo, as médias encontradas para estágio de desenvolvimento embrionário (EEMB) foram de 4,49 e 4,47 para o G1 e G2 respectivamente. Esta média na faixa entre 4 e 5 representa os estágios de mórula e blastocisto inicial. Na transferência de embriões comercial, a colheita dos embriões na doadora ocorre entre os dias 6 a 8, época em que os embriões geralmente estão em estágio de mórula a blastocisto, sendo estes estágios os mais indicados para transferência (STRONGFELLOW & SEIDEL, 1998). Em relação à qualidade embrionária (QEMB), esta foi atribuída de acordo com um código que varia de 1 a 4 preconizado pela IETS. As médias foram de 1,60 para o G1 e 1,49 para o G2, ou seja, na faixa entre 1 e 2, o que significa que a qualidade dos embriões transferidos, tanto para as receptoras do G1 quanto para as receptoras do G2, foi de excelente/boa e regular.

qualidade. Esta análise permitiu concluir que as variáveis QLCL, EEMB e QEMB não interferiram nos resultados deste experimento.

No presente estudo foi utilizada a dose de 500 mg de flunixin meglumine por animal, que equivale a aproximadamente 1,1mg/kg, dosagem esta usada também por Schrick et al. (2001), Purcell et al. (2005) e Scenna et al. (2005). Na literatura, como anti-inflamatório, analgésico e antipirético, a dose indicada varia de 1,1 a 2,2 mg/kg a depender do quadro clínico a ser tratado. No seu uso na reprodução como ferramenta auxiliar no estabelecimento da prenhez, em bovinos, na maioria dos trabalhos o FM vem sendo utilizado na dosagem de 1,1 mg/kg quando aplicado pela via intramuscular (SCHRICK et al. 2001) e de 2,2 mg/kg quando utilizado por via oral (ODENSVIK et al., 1994).

As taxas de prenhez das receptoras do G1 e G2 foram, respectivamente, 50,00% e 56,84% não havendo diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$), como mostra a Tabela 3. Estes resultados discordam dos obtidos por Scenna et al. (2005). Estes autores, assim como no presente estudo, utilizaram 10 mL de FM no momento da inseminação. Eles alcançaram no estudo taxas de prenhez de 65,00% para o grupo de receptoras que receberam FM e de 60,00% para o grupo controle. Em nosso estudo, apesar de uma diferença percentual de aproximadamente 7,00% entre os grupos, esta não foi estatisticamente significativa. Purcell et al. (2005) também encontraram resultados diferentes aos apresentados neste trabalho. Eles obtiveram taxas de prenhez de 72,30% e 63,00% para as receptoras que utilizaram FM e para o grupo controle, respectivamente. O interessante no estudo destes autores é que o aumento foi dependente da localização dos animais, que foram locados em fazendas diferentes dentro de uma mesma região. Em uma das locações o aumento na taxa de prenhez chegou a 32,00% e em outra houve um decréscimo de 3,00% na taxa de prenhez com a utilização do FM. Os autores não encontraram uma razão específica para explicar estes resultados. Schrick et al. (2001) encontraram em seu estudo, taxas de prenhez de 63,80% e 51,50% para os grupos FM e controle respectivamente. Uma diferença de 12,50% a favor do uso do FM como ferramenta para o aumento das prenheses ao final de um programa de TE.

Tabela 3. Taxa de prenhez geral dos animais nos dois tratamentos

Grupos	Nº de Animais	Taxa de prenhez geral Nº (%)
G1: Sem FM	242	121 (50,00)
G2: FM	95	54 (56,84)
Total	337	175 (51,93)

Merril et al. (2007), em um estudo visando analisar a efeitos da administração do FM sobre a taxa de prenhez em vacas de corte transportadas logo após a inseminação artificial (IA) obtiveram taxas de prenhez de 74,00% e 66,00% para as vacas que receberam FM e as que não receberam, respectivamente. Eles avaliaram a eficácia do FM em inibir a produção de $PGF_{2\alpha}$ e cortisol ocasionada pelo estresse do transporte. No estudo de Merril et al. (2007), assim como neste presente, o FM aumentou o percentual da taxa de prenhez geral, porém este aumento não foi estatisticamente significativo.

Em um trabalho preliminar, Silva et al. (2007), também visando avaliar o efeito da administração do FM sobre as taxas de prenhez de receptoras de embriões bovinos não encontrou diferença significativa entre os grupos estudados. Neste estudo, foram encontradas taxas de prenhez de 48,89% e 50,21% para o grupo que recebeu FM e o que não recebeu, respectivamente. Os autores sugeriram então a continuidade da pesquisa de uma forma mais direcionada, utilizando-se apenas de receptoras que apresentam algum grau de dificuldade para serem inovuladas.

Schrick et al. (2003) relatam que a taxa de prenhez pode diminuir quando se aumenta a dificuldade e o tempo requerido para transferência dos embriões, o que pode se dever ao fato do aumento da liberação de $PGF_{2\alpha}$ induzido pela prolongada manipulação uterina. Partindo deste princípio, no presente estudo, foram investigadas dentro dos grupos, também as receptoras que apresentaram algum grau de dificuldade para serem inovuladas. Durante o estudo foram identificadas 222 receptoras com cérvix classificada como de grau 1 (fácil passagem) e 115 classificadas como de grau 2 (algum grau de dificuldade pra passagem da

pipeta de inováção). Não houve diferença estatística para a utilização do FM em receptoras com cérvix de grau 1, ou seja, com cérvix de fácil passagem. A taxa de prenhez encontrada para estas receptoras foi de 54,35% e 50,00% para o grupo que não recebeu FM e para o que recebeu FM, respectivamente.

Para as receptoras que apresentaram cérvix grau 2 as taxas de prenhez foram de 36,21% para o grupo que não recebeu e de 61,40% para o grupo que recebeu aplicação do FM havendo, neste caso, diferença estatística significativa entre eles ($p=0,007$).

Tabela 4. Taxa de prenhez das receptoras nos dois tratamentos

GRUPOS	CERVIX 1		CERVIX 2	
	Nº de Animais	Taxa de prenhez geral n (%)	Nº de Animais	Taxa de prenhez geral n (%)
G1: Sem FM	184	100 (54,35)	58	21 (36,21) ^a
G2: FM	38	19 (50,00)	57	35 (61,40) ^b
TOTAL	222	119 (53,60)	115	56 (48,70)

Valores com letras distintas na mesma coluna diferem entre si ($p=0,007$) pelo teste χ^2 .

Estes resultados reforçam a hipótese do aumento da produção de $PGF_{2\alpha}$ endometrial em resposta a prolongada manipulação uterina requerida nos casos de fêmeas com cérvix mais difíceis de serem transpassadas. A manipulação do trato reprodutivo representa um trauma para o endométrio uterino podendo desencadear um processo inflamatório. Durante este processo alguns mediadores químicos como as citocinas e as $PGF_{2\alpha}$ são liberadas no local da injúria (NOTHNICK & PATE, 1990). Uma das mais importantes citocinas, o fator de necrose tumoral alfa (TNF_{α}), é capaz de induzir a liberação de $PGF_{2\alpha}$ pelas células luteais e endometriais (SKARZYNSKI et al., 2000). Sendo assim, Okuda et al. (2002) sugerem que o

TNF α pode ser o desencadeador da produção de PGF $_{2\alpha}$ endometrial durante a luteólise. Observa-se nos ruminantes um interessante mecanismo anatômico pelo qual a PGF $_{2\alpha}$ de origem endometrial atinge o ovário antes de ser metabolizada. Ghinter & Delcamo (1974) observaram que a artéria ovariana apresenta formato tortuoso e encontra-se enovelada à superfície da veia útero-ovariana nos bovinos. A través desse peculiar arranjo veno-arterial a PGF $_{2\alpha}$ passa do retorno venoso uterino à circulação arterial ovariana e chega ao CL. Ao interagir com seus receptores no CL, a PGF $_{2\alpha}$ bloqueia a síntese de progesterona e causa a luteólise funcional (CARAMBULA et al., 2002). Na literatura, há poucos relatos de dados sobre o uso do FM relacionado à dificuldade de inovação. Os resultados apresentados aqui são animadores e servem como base para futuros estudos.

Pôde-se verificar que o FM, neste estudo, não exerceu influência sobre a taxa de prenhez geral das receptoras, porém uma influência positiva foi observada sobre as taxas de prenhez das receptoras com algum grau de dificuldade para inovação. Nestes casos, o FM poderá ser de grande valia na inibição dos efeitos luteolíticos causados pela PGF $_{2\alpha}$.

Apesar da liberação de PGF $_{2\alpha}$ durante a transferência embrionária não necessariamente resultar em luteólise, a sobrevivência do embrião pode ser comprometida pela presença de pequenas concentrações de PGF $_{2\alpha}$ no lúmen uterino criando um ambiente desfavorável para o desenvolvimento do embrião. Logo, ainda há aspectos a respeito da liberação de PGF $_{2\alpha}$ e sua possível inibição que necessitam ser esclarecidos, reforçando assim, a necessidade de maiores investigações a respeito deste tema.

Este estudo é um dos primeiros a respeito deste tema em bovinos no Brasil, sendo assim, abrem-se novas perspectivas para outros a respeito do uso de um antiluteolítico na transferência de embriões no Brasil, que é um dos países do mundo onde a biotécnica de transferência de embriões em bovinos mais evoluiu nos últimos 10 anos e vem cada vez mais sendo usada como importante ferramenta nos programas de melhoramento animal.

3.4 CONCLUSÕES

No presente trabalho, a utilização do Flunixin Meglumine como inibidor da produção de PGF₂ não alterou as taxas gerais de prenhez das receptoras. Estes dados sugerem que é dispensável o uso deste antiinflamatório em todas receptoras de um programa de transferência de embriões. Contudo, os resultados demonstram que o uso do FM pode ser muito útil em receptoras que apresentam algum grau de dificuldade para passagem da cérvix no momento da inovação. O controle do fenômeno de regressão lútea precoce é um tema de grande relevância, que ainda precisa ser mais explorado para que maiores contribuições sejam obtidas e que melhores resultados nos programas de reprodução programada sejam alcançados.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro em forma de bolsa de estudo indispensável para a realização deste trabalho e à Empresa Ouro Fino pela colaboração na doação do antiluteolítico utilizado neste estudo.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTAN, C.M. **Mecanismos endócrinos e moleculares pelos quais o estradiol estimula a síntese de prostaglandinas F₂ alfa no endométrio de fêmeas bovinas**. 2004, 180 f. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

CARAMBULA, S.F.; MATIKANEM, T.; LYNCH, M.P.; FLAVEL, R.A.; DIAS GONCALVES, P.B.; TYLLI, J.L.; RUEDA, B.R. Caspase -3 is a pivotal mediator of apoptosis during regression of ovarian corpus luteum **Endocrinology**, v.143, n.4, p.1495-1501, 2002.

DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. **J. Reprod. Fertil.**, v.59, p.463-468, 1980.

FERGUSON, J.K.W. A Study of the mortality of intact uterus at term **Surg. Gynecology Obstet.** v.73, p.359-366, 1941.

GHINTER, O.J.; DELCAMPO, C.H. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and unilateral luteolytic effect of the uterus: cattle. **Am J Vet Res**, v.35, p.193-203, 1974.

HASLER, J.F. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.73, p.245-264, 2003.

HENRY, M.; NEVES, J.P. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2 ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. 49p.

HUMBLOT, P. Use of pregnancy specific proteins in progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and source of embryonic mortality in ruminants. **Theriogenology**, v.56, n.9, p.1413-1433, 2001.

MARQUES, V.B. **Atividade antiluteolítica no ambiente uterino durante o período crítico para o estabelecimento da gestação em bovinos**. 2006. 146p, Tese (doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo.

MERRILL, M.L.; ANSOTEGUI, R.P.; BURNS, P.D.; MACNEIL, M.D.; GEARY, T.W. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. **Journal Animal Science**. v.85, p.1547-1554, 2007.

NOTHICK, W.B.; PATE, J.L. Interleukin-1 beta is a potent stimulator of prostaglandin synthesis in bovine luteal cells. **Biology Reproduction**, v.43, p.898-903, 1990.

ODENSVIK, K.; GUSTAFSSON, H. Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer **Anim. Reprod. Sci.**, v. 36, p. 13–24, 1994.

OKUDA, K.; MIYAMOTO, Y.; SKARZYNSKI, D. J. Regulation of endometrial prostaglandin F₂ (alpha) synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle **Domest Anim Endocrinol**, v. 23, p. 255–264, 2002.

PURCELL, S. H.; BEAL, W. E.; GRAY, K. R. Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle. **Theriogenology**, v. 64, p. 867–878, 2005.

PURCELL, S. H. **Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle**. 2004. 80p, Dissertação (mestrado em Animal Science). Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, USA.

RIBEIRO FILHO, A. de L.; BITTENCOURT, R. F.; PORTELA, A. P. M.; FREITAS, D. S.; ALMEIDA, A. K.; SILVA, A. A. B.; SANTANA, R. C. M.; CHALHOUN, M. Efeito do protocolo de sincronização do ciclo estral sobre a resposta superovulatória em um programa de Transferência de Embriões Zebu ínos **Acta Scientie Veterinariae**. Vol 32 (suplemento), p. 207, Porto Alegre - UFRS, 2004.

ROWE, R. F.; DEL CAMPO, M. R.; CRISTER, J. K.; GUNTER, O. J. Embryo transfer in cattle: monosurgical transfer **Animal Journal Veterinary**. v. 41 p. 1024-1028, 1980.

SANTOS, J. E.; TCHATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L.; GALVÃO, K. L. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 82-83, p. 513-535, 2004.

SCENNA, F. N.; EDWARDS, J. L.; ROHRBACH, N. R.; HOCKETT, M. E.; SAXTON, A. M.; SCHRICK, F. N. Detrimental effects of prostaglandin F₂ (alpha) on preimplantation bovine embryos **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v. 73, p. 215–226, 2004.

SCENNA, F.N.; HOCKETT, M.E.; TOWNS, T.M.; SAXTON, A.M.; ROHRBACH, N.R.; WEHRMAN, M.E.; SCHRICK, F.N. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v. 78, p. 38–45, 2005.

SCHRICK, F.N.; HOCKETT, M.E.; TOWNS, T.M.; SAXTON, A.M.; WERT, N.E.; WEHRMAN, M.E. Administration of a prostaglandin inhibitor immediately prior to embryo transfer improves pregnancy rates in cattle. **Theriogenology**, v.55 (Suppl.), p.370, 2001.

SCHRICK, F.N.; SCENNA, F.N.; EDWARDS, J.L.; HOCKETT, M.E.; SAXTON, A.M. More evidence for a direct interaction between prostaglandin F_{2α} and development of bovine embryos. In: Proc. of CETA and AETA **Joint Annu Conv.** p.43-52, 2003.

SENGER, P.L. Principles and procedures for storing and using frozen bovine semen. In: MORROW, D.A. Current therapy in teriogenology. 2. ed. Philadelphia: Saunders Company, p.167-174, 1986.

SILVA, A.A.B.; FREITAS, D.S.; RIBEIRO FILHO, A.L.; CHALHOUB, M.C.; SANTANA, R.C.M.; PORTELA, A.P.M. Efeito da administração do flunixin meglumina sobre as taxas de prenhez de receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, p.1247, 2007.

SKARZYNSKI, D.J.; MIYAMOTO, Y.; OKUDA, K. Production of prostaglandin F_{2α} by cultured bovine endometrial cells in response to tumor necrosis factor alpha: cell type specificity and intracellular mechanisms. **Biology Reproduction**, v.62, p.1116–1120, 2000.

STRONGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. 3. ed. USA: Copyright, 1998. 180p

WANN, R.A.; RANDEL, R.D. Effect of uterine manipulation 35 days after parturition on plasma concentration 13,14-dihydro-15-ketoprostaglandin F_{2α} in multiparous and primiparous Brahman cows. **Jornal Animal Science**, v.68, p.1389-1394, 1990.

4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A utilização de um inibidor da síntese de prostaglandinas (FM), neste estudo, não afetou a taxa de prenhez geral das receptoras, sugerindo que o uso deste antiinflamatório em todas as receptoras de um programa de transferência de embriões não é necessário. Contudo, os resultados deste estudo demonstram que o uso do FM pode ser muito útil em receptoras que apresentam algum grau de dificuldade para passagem da cérvix no momento da inovação. Os resultados obtidos neste estudo são relevantes, já que é um dos primeiros no Brasil em abordar este tema em bovinos.

Mais estudos a respeito dos efeitos do Flunixin meglumine em receptoras bovinas necessitam ser realizados, principalmente nas condições climáticas, sistema de criação, de manejo e tipo de animais inerentes ao nosso país. Assim, resultados mais consistentes a respeito dos reais efeitos e de quais condições e situações esses efeitos são potencializados serão obtidos e poderão ser melhor comparados. Sendo o corpo lúteo uma estrutura fundamental para a manutenção da viabilidade e desenvolvimento dos embriões e consequentemente a manutenção da prenhez, sugere-se a continuidade dos estudos. O controle do fenômeno de regressão lútea precoce é um tema de grande relevância, que ainda necessita ser mais explorado para que maiores contribuições sejam obtidas e que melhores resultados nos programas de reprodução programada sejam alcançados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, T. J.; MİYAMOTO, A. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.127-140, 2004.

AGARWAL, S. P.; RAHMAN, S. A.; LAUMAS, K. R. Studies on steroid hormones: Progesterone concentration in the blood serum of zebu cows during oestrus cycle. **Indian Journal Animal Science**, v.47, n.11, p.715-719, 1977.

AJUMLAMA I, S.; ODENSVIK, K.; STABENFELDT, G.; KJANDAHL, H. Regulation of prostaglandin biosynthesis with flunixin meglumine in the bovine species **J. Vet. Med.**, v.37, p.16-22, 1990.

ANDERSON, L. E.; WU, Y. L.; TSAI, S. J. Prostaglandin F₂ alpha receptor in the corpus luteum, recent information on the gene messenger ribonucleic acid and protein **Biology of Reproduction**, v.64, n.4, p.1041-1047, 2001.

AKEL-OPEZ, R.; SEGURA-CORREA, J. C.; QUINTAL-FRANCO, J. Effect of flunixin meglumine on the corpus luteum and possible prevention of embryonic loss in Pelibuey ewes. **Small Ruminant Research**, v.59, p.83-87, 2005.

BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17 β , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows **Theriogenology**, v.42, p.1263-1274, 1994.

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

BAO, T.; PUCI, M. L.; CHAN, B. S.; LU, R.; ITO, S.; SCHUSTER, V. L. Prostaglandin transport PGT₁ is expressed in cells types that synthesize and release prostanooids. **Am J Physiology Renal Physiol.**, V. 282, p.1103-1110, 2002.

BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PNEIRO, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Rev. Bras. Rep. Anim.**, v.19, p. 9-22, 1995.

BARROS, C. M.; PLANTE, C.; THATCHER, W. W., et al. Regulation of bovine endometrial secretion of prostaglandins and synthesis of 2',5' oligoadenylate synthetase by interferon-t molecules. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 25, p. 146-152, 1991.

BATRA, S. Effect of estrogen and progesterone treatment on calcium uptake by the myometrium and smooth muscle of the lower urinary tract. **European Journal of Pharmacology**, v. 127, p. 37-42, 1986.

BAZER, F. W.; OTT, L. T.; SPENCER, T. E. Pregnancy recognition in ruminants, pigs and horses: signals from the trophoblast. **Theriogenology**, v. 41, p. 79-94, 1994.

BERTAN, C. M. **Mecanismos endócrinos e moleculares pelos quais o estradiol estimula a síntese de prostaglandinas F₂ alfa no endométrio de fêmeas bovinas**. 2004. 180 f. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

BNELLI, M. Estratégias antiluteóticas para melhorar a sobrevivência embrionária em bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE O CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL DE RUMINANTES, 2000. São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo, SP, 2000. P. 99-114.

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

BARNBAUMER, L.; CODINA, J.; MATTERA, R.; CERONE, R. A.; HILDEBRANDT, J. D.; SUNYER, T.; ROAS, F.; CARON, M. C.; LEFKOWITZ, R. J.; LYNGAR, R.

Regulation of hormone receptors and adenylyl cyclases by guanine nucleotide binding N proteins. **Ret Prog Horm Res.**, v. 41, p. 41-94, 1985.

BÖRKMANN, N. Placentation. //: Ulmann HD, Brown EM (Ed.). **Textbook of Veterinary Histology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 351-369, 1976..

BÓ, G. A.; BARUSSELI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBUTO, R.; TRIBUTO, H.; MAPLETOFT, R., J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 53-72, 2002.

BOWEN, J. A.; BURGHARDT, R. C. The molecular and cellular mechanisms of implantation in the domestic animal. **Seminars in Cell and Developmental Biology**. v. 11; p. 93-104, 2000.

CARAMBULA, S. F.; MAITIKANEN, T.; LYCHM P.; FLAVEL, R. A.; DIAS GONÇALVES, P. B.; TYLLI, J. L.; RUEDA B. R. Caspase-3 is a pivotal mediator of apoptosis during regression of ovarian corpus luteum. **Endocrinology**, v. 143, n. 4, p. 495-501, 2002.

CARLINI, C. R.; GUMARÃES, J. A.; RIBEIRO, J. M. C. Platelet release reaction and aggregation induced by canabixin, a convulsant protein: evidences for the involvement of the platelet lipoxygenase pathway. **British Journal of Pharmacology**, v. 84, n. 2, p. 551-560, 1985. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/laprotx/eicosanoids.htm> > Acesso em setembro de 2007.

CHAGASE SILVA, J.; DINIZ, P.; LOPES DA COSTA, L. Luteotrophic effect, growth and survival of whole versus half embryos and, their relationship with plasma progesterone concentrations of recipient dairy heifers. **Animal Reproduction Science**, 2007 (No prelo).

CHAGASE SILVA, J.; LOPES DA COSTA, L.; Luteotrophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryo survival. **Theriogenology**, v. 64, n. 1, p. 49-60, 2005.

CHAGAS E SILVA, J.; LOPES DA COSTA, L.; ROBALO SILVA, J. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. **Theriogenology**, v.58, p.51-59, 2002.

CHEN, G. T. C.; GETSIUS, S.; MACCALMAN, M. 17-Beta-estradiol potentiates the stimulatory effects of progesterone on cadherin-11 expression in cultured human endometrial cells. **Endocrinology**, v.139, p.3512-3519, 1998.

CHEGINI, N.; LEI, M.; RAO, C. V.; HANSEL, W. Cellular distribution and cycle phase dependence of gonadotropin and eicosanoid binding sites in bovine corpora lútea. **Biology Reproduction**, v.45, p.506-513, 1991.

COHN, S. N.; SCHOLOEMANN, S.; TESSNER, T.; SEIBRIT, K.; STENSON, W. S. Crypt stem cell survival in the mouse intestinal epithelium regulated by prostaglandins synthesized through cyclooxygenase-1. **Journal of clinical investigation**, v.99, p.1367-1379, 1997.

COLAZO, M. G.; MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.72, p.47-62, 2002.

DAILEY, R. A.; NSKEEP, E. K.; LEWIS, P. L. Pregnancy failures in cattle: a perspective on embryo loss. In: Proceedings of the XV III th INTERNATIONAL CONFERENCE ON REPRODUCTION OF FARM ANIMALS, Slovakia, p.1-8, 2002.

DANET-DESNOYERS, G.; WETZELSC.; THATCHER, W. W. Natural and recombinant interferon-t regulate basal and oxytocin-induced secretion of prostaglandins F2 alpha and E2 by epithelial cells and stromal cells in the endometrium. **Reproduction and Fertility Development**, v.6, p.193-202, 1994.

DEMCIUK, E.; KOZICKI, L. F.; PONTELLI, E. S.; SALLES, J. O. Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul. **Brazil J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.35, n.4, p.174-177, 1998.

DAVIS, S.R.; COLLIER, R.J.; MCMANARA, J.P. Effects of thyroxine and growth hormone treatment of dairy cows on mammary uptake of glucose, oxygen and other milk fat precursors. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 80-89, 1988.

DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. **J. Reprod. Fertil.**, v. 59, p. 463-468, 1980.

DOMÍNGUEZ, J.C.; PENA, S.J.; ANEL, L.; CARBAJO, M.; ALEGRE, B.P. Prostanoides luteolíticos y tecnología de la reproducción. Bovis - A la Veterinaria, n. 70 - **Tratado de Veterinaria Practica**, p. 49-65, 1996.

DUC-GORAN, P.; MIGNOT, T.M.; BOURGEOIS, C.; FERRÉ, F. Embryo-maternal interactions at the implantation site: a delicate equilibrium. **European Journal of Obstetric and Gynecologic and Reproduction Biology**, Amsterdam, v. 83, p. 85-100, 1999.

ELIASSON, R. The origin of male prostaglandins. **Acta Physiol Scand**, v. 46, suppl. 158, p. 1-73, 1959.

FARN, P.W.; MILES, J.; FARN, C.E. Pregnancy loss associated with embryo technologies in cattle (2004). Disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2004/WBC2004-Farinsimple.pdf> Acceso en: 04 de agosto 2007.

FERGUSON, J.K.W. A study of the mortality of intact uterus at term. **Surg. Gynecology Obstet.** v. 73, p. 359-366, 1941.

FERNANDES, C.A.C.; FIGUEROA, A.C.S.; OLMEIRA, E.R.; OBA, E.; VASCONCELOS, T.D. Efficiency of different progesterone analogs in the postpartum period of dairy cows. In: WORLD BIOMATRICS CONGRESS, 2006, Nice, France. Nice: **WBC**, p. 17, 2006.

FERNANDES, C A C.; OBA, E. A valiação econômica da bipartição em programas de transferência de embriões em bovinos. In: **Anais do XXI Congresso Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões**. Workshop. p. 881, 2007.

FERNANDES, C A C. **Efeito do tratamento com hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a taxa de gestação de novilhas mestiças usadas como receptoras de embrião**. 1994. 63f., Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

FERNANDES, C A C.; FIGUEIREDO, A. C. S. de. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 406-414, jul./set. 2007.

FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P. Transferência de embriões - a necessidade do conhecimento prévio do valor genético do material a ser transferido - Parte 1. Disponível em: < <http://www.angus.org.br/tecnologia>. 2001 > Acesso em agosto 2007.

FERRERA, S. A.; VANE, J. R.; Prostaglandins: their disappearance from and release into the circulation. **Nature**, v. 216, p. 868-873, 1967.

FIELDS, M. J.; FIELDS, P. A. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous and pregnancy. **Theriogenology**, v. 45, p. 1295-1325, 1996.

GARCIA, W. R. **Efeito dos protocolos de sincronização de ovulação na taxa de prenhez em vacas leiteiras mestiças mantidas a pasto no verão**. 2003. 85f., Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

GEARY, T. Management strategies to reduce embryonic loss. Range Beef Cow Symposium XIX, Rapid City, South Dakota, 2005. Disponível em: < <http://beef.unl.edu/beefreports/symp-2005-09-XIX.htm> > Acesso em setembro 2007.

GEISERT, R.D.; MORGAN, G.L.; SHORT, E.C. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle **Reprod. Fert. Develop.**, v.4, p.301-305, 1992.

GHINTER, O.J.; DELCAMPO, C.H. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and unilateral luteolytic effect of the uterus: cattle **Am J Vet Res**, v.35, p.193-203, 1974.

GRAVES-HOAGLAND, R.L.; HOAGLAND, T.A.; WOODY, C.O. Relationship of plasma -carotene and vitamin A to luteal function in postpartum cattle **J Dairy Sci.**, v.72, p.1854 - 1858, 1989.

HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animals**. 6. ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1992, 573p.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 513p.

HANSEL, W.; ALILA, H.W.; DOWD, J.P.; MILVAE, R.A. Differential origin and control mechanisms in small and large bovine luteal cells **Journal of Reproduction & Fertility**, v.43, p.77-89, 1991.

HANSEN, P.J. Rescue of the corpus luteum from luteolysis by bovine trophoblast protein-1: an example of maternal recognition of pregnancy **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.3, supl.1, p.42-65, 1991.

HANSEN, P.J.; EALY, A.D. Effects of heat stress on the establishment and maintenance of pregnancy in cattle. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1991, Belo Horizonte. **Anais..** Belo Horizonte: CBRA, 1991. p.108-119.

HAUPTMANN, R.; SWETLY, P. A novel class of human type 1 interferons **Nucleic Acids Res.**, v.13, p.4739-4749, 1985.

HOYER, P.B.; NISWENDER, G.D. Adenosine 3',5' monophosphate-binding capacity in small and large ovine luteal cells **Endocrinology**, v.119, n.4, p.1822-1829, 1986.

HURLEY, W.L.; DOANNE, R.M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction **J Dairy Sci.**, v.72, p.784-804, 1969.

HUSSAIN, A.M.; DANIEL, R.C.W. Bovine normal and abnormal reproductive and endocrine functions during the postpartum period: a review **Reprod. Dom. Anim.**, v.26, p.101-111, 1991.

BGE. 2005. Disponível em: < <http://www.bge.gov.br> >. Acesso em agosto 2007.

NSKEEP, E.K. Factors that affect embryonic survival in the cow: application of technology to improve calf crop. In: Fields, M.J.; Sand, R.S.; Yelich, J.Y. (Eds.), Factors Affecting Calf Crop **Biotechnology of Reproduction**. CRC Press, Boca Raton, FL, p.255-275, 2002.

ISACHENKO, V.V.; SOLER, C.; OSTASHKO, F.I.; ISACHENKO, E.F. Improvement of attachment rate of bovine embryos after transfer with trophoblastic fragments. **Theriogenology**, v.42, p.339-344, 1994.

KLISCH, K.; PFARRER, C.; SCHULER, G. Tripolar cytokinetic mitosis and formation of foetal-maternal syncytia in the bovine placenta: different modes of the generation of multinuclear cells **Anatomy and Embryology**, v.200, p.229-237, 1999.

KLISCH, K.; SCHULER, G.; MIGLIANO, M.A.; LEISER, R. Genomemultiplication in trophoblast giant cells of sheep, goat, water buffalo and deer: an image cytometric study **Reproduction of Domestic Animals**, v.35, p.145-48, 2000.

KOBAYASHI, S.; MIYAMOTO, A.; BERISHA, B.; SCHAMM, D. Growth hormone, but not luteinizing hormone, acts with luteal peptides on prostaglandin F₂alpha and progesterone

secretion by bovine corpora lutea in vitro **Prostaglandins Lipid. Mediat.**, v. 63, p.79-92, 2001.

KOTWICA, J.; SKARZYŃSKI, D.; BOGACKI, M. The use of an oxytocin antagonist to study the function of ovarian oxytocin during luteolysis in cattle. **Theriogenology**, v. 48, p.1287-1299, 1997.

LAMMING, G.E.; MANN, G.E. Progesterone concentration affects the development of the luteolytic mechanism in the cow **J. Reprod. Fert.**, Abstract, v.11, p.8-17, 1993.

LAND, R.B.; HILL, W.G. The possible use of superovulation and embryo transfer in cattle to increase response to selection. **Animal Production**, v. 21(1) p. 1-12, 1975.

LARSON, S.F.; BUTLER, W.R.; CURRIE, W.B. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p.1288-1295, 1997.

LAU, T.; GOW, G.B.; FARCLOUGH, R.J. Differential effects of progesterone treatment on the oxytocin-induced prostaglandin response and the levels of endometrial oxytocin receptors in ovariectomized ewes. **Biol. Reprod.**, v. 46, p.17-22, 1992.

LAWSON, R.A.S.; CAHILL, L.P. Modification of the embryo-maternal relationship in ewes by progesterone treatment early in the oestrous cycle. **J. Reprod. Fert.**, v.67, p.473-475, 1983.

LEI, V.M.; CHEGININ, N.; RAO, C.V. Quantitative cell composition of human and bovine corpora lutea from various reproductive states. **Biol. Reprod.**, v. 44, p.1148-1196, 1991.

LEVY, N.; KOBAYASHI, S.; ROTH, Z.; MIYAMOTO, A.; MEDAN, R. Administration of prostaglandin F2 alpha during the early bovine luteal phase does not alter the expression of ET-

1 and its type A receptor: a possible cause for corpus luteum refractoriness **Biol Reprod** , v.63, p.377-382, 2000.

LEWIS, G.S.; CALDWELL, D.W.; REXROAD, J.R.C.E. Effect of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle **J. Dairy Sci.** , v.73, p.66-72, 1990.

MALUF, D.Z **Avaliação da reutilização de implantes contendo progestágenos para controle farmacológico do ciclo estral e ovulação em vaca de corte.** 2002.60 f.Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. Effects of treatment with buserelin on plasma concentrations of oestradiol and progesterone and cycle length in the cow **Br. Vet. J.** , v.151, n.4, p.427-432, 1995.

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.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; FRAY, M.D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin **Anim. Reprod. Sci.** , v.37, p.121-131, 1995.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.; WATHES, D.C. The regulation of interferon-t production and uterine hormone receptors during early pregnancy **J. Reprod. Fert.** , v.59, p.317-328, 1999.

MARQUES, V.B **Atividade antiluteolítica no ambiente uterino durante o período crítico para o estabelecimento da gestação em bovinos** . 2006. 146p, Tese (doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo.

MASLAR, IA.; POWERS-CRADDOCK, P.; ANSBACHER, R. Decidual prolactin production by organ cultures of human endometrium: Effects of continuous and intermittent progesterone treatment. **Biol. Reprod.**, 34, 741-750, 1986.

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

MEDAN, R.; LEVY, N. Endothelin-1 receptors and biosynthesis in the corpus luteum: molecular and physiological implications. **Dom Anim Endocrinol**, v 23, p 287-298, 2002.

MEDAN, R.; MILVAE, R. A.; WEISS, S. Intraovarian regulation of luteolysis. **Journal of Reproduction and Fertility**, (suppl), v 54, p 217-228, 1999.

MELANIE, J.; STARBUCK, R. A.; DAILEY, E.; NSKEEP, K. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p. 27-39, 2004.

MERRILL, M. L.; ANSOTEGUI, R. P.; BURNS, P. D.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. **Jornal Animal Science**, v 85, p. 1547-1554, 2007.

MILVAE, R. A. Inter-relationships between endothelin and prostaglandin F₂ alpha in corpus luteum function. **Rev Reprod**, v 5, p. 1-5, 2000.

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

MİYAMOTO, A.; TAKEMOTO, K.; ACOSTA, T. J.; OTHANI, M.; YAMADA, J.; FUKUI, Y. Comparative activities of growth hormone and luteinizing hormone in the direct stimulation of local release of progesterone from microdialyzed ovine corpora lutea in vivo. **J. Reprod. Dev.**, V 44, p 273-280, 1998.

MORRIS, C A.; DAY, A M.; PETERSON, A J. An experiment to measure the dose response relationship of ovulation rate to FSH in cows selected with history of twinning. **New Zealand Vet. J.**, v.36, p.189-191, 1988.

NASU, K.; NARAHARA, H.; MATSUI, N.; KAWANO, Y.; TANAKA, Y.; MIYAKAWA, I. Platelet-activating factor stimulates cytokine production by human endometrial stromal cells. **Mol. Hum. Reprod.**, v.5, n.6, p.548-553, 1999.

NATION, D P.; MALMO, J.; DAVIS, G M. Accuracy of bovine pregnancy detection using transrectal ultrasonography at 28 to 35 days after insemination. **Aust. Vet. J.**, v.81, p.63-65, 2003.

NI SWENDER, G D.; JENDEL, J L.; MCGUIRE, W J.; BELFLORE, C J.; WILTBANK, M C. Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy. **Biol. Reprod.**, v.50, p.239-247, 1994.

NI SWENDER, G D.; NETT, T M. The corpus luteum and its control. In: KNOBIL E., NEILL J. (Eds.) **The physiology of reproduction**, New York: Raven Press. P.489-525, 1988.

NODEN, D M.; DE LAHUNTA, A. **The Embryology of Domestic Animals - Developmental Mechanisms and Malformations**. Williams & Wilkins, Baltimore: 1985, 367p.

NOMURA, T.; LU, R.; PUCIL, M L.; SCHUSTER, V L. The two-step model of prostaglandin signal termination: in vitro reconstitution with prostaglandin transport and prostaglandin 15-dehydrogenase. **Mol. Pharmacol.**, v.65, p.973-978, 2004.

NOTHNICK, W B.; PATE, J L. Interleukin-1 beta is a potent stimulator of prostaglandin synthesis in bovine luteal cells. **Biology of Reproduction**, v.43, p.898-903, 1990.

O'SHEA, J.D.; RODGERS, R.J.; D'OCCHIO, M.J. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow **J. Reprod Fertil**, v.85, p.483-487, 1989.

ODENSVIK, K.; CORT, N.; BASU, S.; KANDAHL, H. Effect of flunixin meglumine on prostaglandin F_{2a} synthesis and metabolism in the pig **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v.12, p.307-311, 1989.

ODENSVIK, K.; DUCHENS, M.; GUSTAFSSON, H. Does mechanical manipulation of the reproductive organs cause a prostaglandin release in the heifer during embryo transfer? **Acta Vet Scand**, v.34, p.219-221, 1993.

ODENSVIK, K.; GUSTAFSSON, H. Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer **Anim. Reprod. Sci.**, v.36, p.13-24, 1994.

OKUDA, K.; UENOYAMA, Y.; LEE, K.W.; SAKUMOTO, R.; SKARZYNSKI, D.J. Progesterone estimation by prostaglandin F₂ alpha involves the Protein Kinase C pathway in cultured bovine luteal cells. **Journal of Reproduction and Development**, v.44, n.1, p.79-84, 1998.

OKUDA, K.; MIYAMOTO, Y.; SKARZYNSKI, D.J. Regulation of endometrial prostaglandin F₂ (alpha) synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, n.1-2, p.255-264, 2002.

PATE, J.L.; KEYES, P.L. Immune cells in the corpus luteum: friends or foes? **Reproduction**, v.122, p.665-676, 2001.

PATE, J.L. Cellular components involved in luteolysis. **J. Anim. Sci.**, v.72, p.1884-1890, 1994.

PATE, J.L.; TOWNSON, D.H. Novel local regulators in luteal regression **J. Anim. Sci.**, v.72, sp.13, p.31-42, 1994.

PELLEGRINI MASINI, A.; POPPENG, R.H.; SWEENEY, R.W. Disposition of flunixin meglumine injectable preparation administered orally to healthy horses **J. vet. Pharmacol. Therap.**, v.27, p.183-186, 2004.

PEREIRA, R.J.; SOHNREY, B.; HOLTZ, W. Nonsurgical embryo collection in goats treated with prostaglandin F₂ alpha and oxytocin **Journal of Animal Science**, v.76, n.2, p.360-363, 1998.

PEREIRA, J.C.C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 2 ed. Belo Horizonte, FEP, MVZ, 1999. 480p.

PETERS, A.R. Hormonal control of the bovine oestrus cycle. I. The natural cycle **Brazilian Veterinarian Journal**, v. 141, p.564-575, 1985.

POYSER, N.L. Prostaglandins in reproduction **Research Studies Press Chichester**, 1981.

PURCELL, S.H. **Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle**. 2004. 80p, Dissertação (mestrado em Animal Science). Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. USA.

PURCELL, S.H.; BEAL, W.E.; GRAY, K.R. Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle **Theriogenology**, v.64, p.867-878, 2005.

RAO, C.V.; ESTERGREEN, F.R.; CARMAN, J.R.; MOSS, G.E. Receptors for gonadotrophin and prostaglandin F₂ in bovine corpora lutea of early, mid and late luteal phase **Acta Endocrinol**, v.91, p.529, 1979.

REMSEM, L.G.; ROUSSEL, J.D.; KARHALOO, A.K. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. **Theriogenology**, v.18, n.3, p.365-372, 1982.

ROBERTS, R.M.; LIU, L.; ALEXENKO, A. New and atypical families of type I interferons in mammals: comparative functions, structures, and evolutionary relationships. **Prog Nucleic Acids Res Mol Biol**, v.56, p.287-325, 1997.

ROBERTS, R.M.; XIE, S.; MATHIALAGAN, N. Maternal recognition of pregnancy. **Biol. Reprod.**, v.54, p.294-302, 1996.

RYAN, D.P.; SNIDERS, S.; CONDON, T. Endocrine and ovarian responses and pregnancy rates in dairy cows following the administration of a gonadotropin-releasing hormone analog at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. **Anim. Reprod. Sci.**, v.34, p.179-191, 1994.

SAKAMOTO, K.; EZASHI, T.; OKUDAASHITAKA, E.; HOUTANI, T.; SUGMOTO, T.; ITO, S.; HAYASHI, O. Molecular cloning and expression of a DNA clone of the bovine Prostaglandin F₂ receptor. **J Biol Chem**, v.269, p.3881-3886, 1994.

SAKAMOTO, K.; MIWA, K.; EZASHI, T.; SUGMOTO, T.; ITO, S.; HAYASHI, O. Expression of mRNA encoding the prostaglandin F₂ receptor in bovine corpora lutea throughout the oestrous cycle and pregnancy. **J Reprod Fertil**, v.103, p.99-105, 1995.

SALVADOR, F. CNA: exportação de carne vai superar US\$ 10 bi no ano. Portal Exame. 26/07/2007. Disponível em: <http://portalexame.abril.com.br/ae/economia/m0134661.html>
> Acesso em 08 de agosto 2007.

SCENNA, F.N.; EDWARDS, J.L.; ROHRBACH, N.R.; HOCKETT, M.E.; SAXTON, A.M.; SCHRICK, F.N. Detrimental effects of prostaglandin F₂ alpha on preimplantation bovine embryos. **Prostaglandins Other Lipid Mediat**, v.73, p.215-226, 2004.

SCENNA, F.N.; HOCKETT, M.E.; TOWNS, T.M.; SAXTON, A.M.; ROHRBACH, N.R.; WEHRMAN, M.E.; SCHRICK, F.N. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v. 78, p. 38-45, 2005.

SCHÄFER-SOMLI, S. Cytokines during early pregnancy of mammals: a review **Animal Reproduction Science**, v. 75, p. 73-94, 2003.

SCHLAFKE, S.; ENDERS, A.C. Cellular basis of interaction between trophoblast and uterus at implantation **Biology of Reproduction**, v. 12, p. 41-65, 1975.

SCHRICK, F.N.; HOCKETT, M.E.; TOWNS, T.M.; SAXTON, A.M.; WERT, N.E.; WEHRMAN, M.E. Administration of a prostaglandin inhibitor immediately prior to embryo transfer improves pregnancy rates in cattle. **Theriogenology**, v. 55 (Suppl.), p. 370, 2001.

SCHRICK, F.N.; SCENNA, F.N.; EDWARDS, J.L.; HOCKETT, M.E.; SAXTON, A.M. More evidence for a direct interaction between prostaglandin F_{2α} and development of bovine embryos. In: Proc. of CETA and AETA **Joint Annu Conv.** p. 43-52, 2003.

SCHUSTER, V.L. Molecular mechanism of prostaglandin transport **Annu Rev Physiol**, v. 60, p. 221-242, 1998.

SCHUSTER, V.L. Prostaglandin transport **Prostagl Other Lipid Mediat**, v. 68-69, p. 633-647, 2002.

SHELTON, K.; PARKINSON, T.J.; HUNTER, M.G. Prostaglandin E-2 as a potential luteotrophic agent during early pregnancy in cattle **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 90, p. 11-17, 1990.

SILKE, V.; DISKIN, M G.; KENNY, D A.; BOLAND, M P.; MEE, JF.; SREENAN, JM.;
Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.**, v.71, p.1–12, 2002.

SILVA, A A B.; FREITAS, D S.; RIBEIRO FILHO, A L.; CHALHOUB, M C.; SANTANA, R C M.; PORTELA, A P M. Efeito da administração do flunixin meglumina sobre as taxas de prenhez de receptoras de embriões bovinos **Acta Scientiae Veterinariae** v.35, p.1247, 2007.

SILVA, W J.; LEWIS, G S.; MCCracken, J A.; THATCHER, W W.; WILSON, L.
Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F₂ during luteolysis in ruminants. **Biol. Reprod.**, v. 45, p.655–663, 1991.

SKARZYNSKI, D J.; MIYAMOTO, Y.; OKUDA, K. Production of prostaglandin F₂ (alpha) by cultured bovine endometrial cells in response to tumor necrosis factor alpha: cell type specificity and intracellular mechanisms. **Biology Reproduction**, v.62, p.1116–1120, 2000.

SKOPETS, B.; LI, B.; THATCHER, W W.; ROBERTS, R M.; HANSEN, P J. Inhibition of lymphocyte proliferation by bovine trophoblast protein-1 (type I trophoblast interferon) and bovine interferon-t-1. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.34, p.81-96, 1992.

SMITH, M W.; STEVENSON, J S. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F₂ alpha and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. **J. Anim. Sci.**, v. 73, p.3743–3751, 1995.

SOUZA, C J H.; MORAIS, J C F. **Manual de sincronização de cios em ovinos e bovinos**. Bagé, Empresa Pecuária Sul, 1998.75p.

SPENCER, T E.; BANZER, F W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 2, p. 49-63, 2004.

SREENAN, JM.; DISKIN, M G. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. **Theriogenology**, v.27, n.1, p.99-113, 1987.

STEVENSON, J.S.; PHATAK, A.P.; RETTMER, I. Post insemination administration of oestrogen: follicular dynamics, duration of cycle, hormonal responses, and pregnancy rates. **J. Dairy Sci.**, v.76, p.2536-2547, 1993.

STRONGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. 3.ed. USA: Copyright, 1998. 180p.

TAMASSIA, L.F.M.; HADDAD, C.M. Prova de ganho de peso para bovinos de corte, **Pecuária de Corte**, p.56-64, 2000.

TESUKA, N.; ALI, M.; CHWALISZ, K. Changes in transcripts encoding calcium channel subunits of rat myometrium during pregnancy. **Animal Journal Physiology**, v.269, p.1008-1017, 1995.

THATCHER, W.W.; BNELLI, M.; BURKE, J.; STAPLES, C.R.; AMBROSE, J.D.; COELHO, S. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. **Theriogenology**, v.47, p.131-140., 1997.

THATCHER, W.W.; HANSEN, P.J.; PLANTE, C.; BADNGA, L.; VAN CLEEFF, J.; DANET-DESNOYERS, G.; SAVIO, J.D.; MIRANDO, M.A.; BAZER, F.W. Understanding and exploiting the physiology and endocrinology of reproduction to enhance reproductive efficiency in cattle. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v.50, p.109-121, 1990.

THIBER, M. Stabilization of numbers of in vivo collected embryos in cattle but significant increases of in vitro bovine produced embryos in some parts of the world. Data Retrieval Committee Annual Report Disponível em <www.iets.org/pdf/dataretrieval/december2004.pdf> Acesso em julho 2007.

THIBER, M. Transfers of both in vivo derived and in vitro produced embryos in cattle still on the rise and contrasted trends in other species in 2005 **Embryo Transfer Newsletter**, n. 24, p. 12-18, 2006.

THIBER, M. The animal embryo transfer industry in figures: a report from the IETS data retrieval committee. **IETS Newsletter**, v.19, n.4, 2001.

TSAFRIRI, A.; LINDNER, H.R.; ZOR, U. Physiological role of prostaglandins in the induction of ovulation **Prostaglandins**, v.2, p.1-11, 1972.

TSAI, S.; WILT BANK, M.C. Prostaglandin F₂ induces expression of prostaglandin G/H Synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biol Reprod**, v.57, p.1016-1022, 1997.

USDA. World beef trade overview 2003. Disponível em: < <http://www.fas.usda.gov> > Acesso em 10 fev. 2007.

VALLET, J.L.; LAMMING, G.E. Ovine conceptus secretory proteins and bovine recombinant interferon decrease endometrial oxytocin receptor concentrations in cyclic and progesterone treated ovariectomized ewes **J. Endocrinology**, v.131, p.475-482, 1991.

VIANA, F.C. Transferência de embriões: I- Principais aspectos epidemiológicos da interação agentes infecciosos/embriões bovinos. II- Normas internacionais de importação/exportação de embriões **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.14, n.4, p.263-277, 1990.

WARNICK, W., Early embryonic death (EED) posted on AABP-L. Disponível em: <<http://www.napoleonvet.com/dairy.htm>> Acesso em julho 2007.

WEBB, R.; WOAD, D.G.; ARMSTRONG, D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms **Domestic Animal Endocrinology**, v.5339, p.1-9, 2002.

WEN -JUN , L IU ; HANSEN , P J. Progesterone induced secretion of dipeptidyl peptidase IV (cluster differentiation antigen-26) by the uterine endometrium of the ewe and cow that costimulates lymphocyte proliferation. **Endocrinology** , v.136, p.779-787, 1995.

WILT BANK , M C .; BELF ORE , C J .; N ISW ENDER , G D . Steroidogenic enzyme activity after acute activation of protein kinase (PK) A and PKC in ovine small and large luteal cells. **Mol Cell Endocrinol** , v.97, p.1-7, 1993.

WILT BANK , M C .; SH IAO , D R .; G N THER , O J. Prostaglandin F₂ Receptors in the early bovine corpus luteum **Biol Reprod** , v.52, p.74-78, 1995.

WILT BANK , M C . Cell types and hormonal mechanisms associated with mid-cycle corpus luteum function **J. Anim. Sci.** , v.72, p.1873-1883, 1994.

WOOD ING , F B P. Current topic: the syncytiotrophoblastic placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production **Placenta** , v. 13, p.101-113, 1992.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)