

Artículo original:

EVALUACIÓN DE MORFOLOGIA, ECOTEXTURA Y FUNCIÓN DEL CUERPO LÚTEO EM PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

Avaliação da morfologia, ecotextura e função do corpo lúteo em receptoras de embriões bovinos

Siqueira, L.G.B.(1*); L.S.A. Camargo(1); J.F. Fonseca(2); J.H.M. Viana(1) **INTRODUÇÃO**

(1) *Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil. CEP:36038-330*

(2) *Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil*

*E-mail: lgsiqueira@cnpgl.embrapa.br

Palabras clave:

Cuerpo luteo, embriones, vacunos, progesterona

Um dos fatores mais importantes para o sucesso ou fracasso de um programa de transferência de embriões (TE) é a seleção e triagem de receptoras. O cuidado na seleção dos animais utilizados pode ser decisivo para que se obtenham altas taxas de gestação (Viana, 1996), o que, por sua vez, tem grande impacto financeiro do processo, pois a aquisição e manutenção do plantel de receptoras representam grande parte dos custos econômicos de um programa de TE (Looney et al., 1996). Em programas de produção in vitro de embriões, a demanda por um grande número de receptoras sincronizadas é ainda maior, pois a grande maioria destes embriões são transferidos a fresco (IETS, 2010).

A seleção e identificação de receptoras de alta qualidade não é uma tarefa simples (Jones e Lamb, 2008). Além dos critérios de seleção usuais (aspectos sanitários, nutricionais, patologias reprodutivas, etc) uma receptora deve estar em condição hormonal e uterina compatíveis com o estágio de desenvolvimento do embrião a ser transferido, ou seja, deve haver uma estreita sincronia entre a fase do ciclo estral da receptora e da doadora no momento da transferência de embriões (Hasler et al., 1987). Neste sentido, a presença de um corpo lúteo (CL) funcional, produzindo quantidades adequadas de progesterona, é condição sine qua non para o estabelecimento e manutenção da gestação. A taxa de aproveitamento de receptoras é reflexo direto da eficiência na sincronização, i.e., maior número de receptoras aptas, apresentando CL no dia da TE, contribui para um maior número final de gestantes em relação às inicialmente sincronizadas (taxa de gestantes/tratadas).

O Corpo Lúteo – formação, desenvolvimento e função

Em mamíferos domésticos, após a ruptura do folículo na ovulação ocorre o desenvolvimento e formação de uma glândula endócrina transitória especializada na secreção de progesterona (Frankel, 1903; Fields e Fields, 1996), necessária ao estabelecimento e manutenção da gestação (Niswender et al., 1994). Em várias espécies animais, a vida útil desta glândula, o corpo lúteo (CL), é controlada principalmente pelo hormônio luteolítico uterino, a prostaglandina F₂. O CL, por sua vez, regula a extensão do ciclo estral (Hafez, 1995).

O desenvolvimento de um corpo lúteo funcional nos dias seguintes à ovulação implica em grandes mudanças morfológicas e funcionais. Este processo, conhecido por luteogênese, envolve a transformação de um folículo pré-ovulatório em uma estrutura altamente vascularizada e capaz de secretar grandes quantidades de progesterona (Smith et al., 1994; Niswender et al., 2000; Schams e Berisha, 2004). A formação do CL é iniciada por uma série de mudanças morfológicas, endócrinas e bioquímicas nas células da teca interna e da granulosa do folículo pré-ovulatório. O desenvolvimento normal do CL e a sua capacidade de produzir progesterona (P₄) durante o ciclo estral e gestação, além de fatores de crescimento, fatores angiogênicos e substâncias vasoativas, são dependentes da vascularização, i.e., do suprimento sanguíneo (Acosta e Myamoto, 2004).

Estudos sobre vascularização do corpo lúteo (Niswender et al., 1994; Fraser e Wulff, 2003) sugerem que o CL inicia a sua organização por meio de intensa atividade angiogênica na qual vasos sanguíneos invadem o espaço antral do folículo e há a formação de uma extensa e densa rede capilar que permite às células produtoras de hormônio obter oxigênio, nutrientes e precursores hormonais. Esta rápida vascularização das camadas celulares originárias das células granulosas pode estar relacionada à existência de atividade angiogênica no fluido folicular (Schams e Berisha, 2004), a qual, aparentemente, é induzida pela lise da membrana basal que separa células da teca e granulosa durante o período peri-ovulatório (Thibault, 1993). Durante o processo de luteinização, há significativa hipertrofia das células da granulosa, hiperplasia das células tecais (Niswender et al., 1994) e proliferação de células fibroblásticas (Gonçalves et al., 2001). Segundo Luck e Zhao (1995), um extenso remodelamento tecidual está envolvido no processo de luteinização (semelhante ao observado nos processos cicatriciais e em neoplasias), caracterizado por hiperplasia, hipertrofia e migração celular, e por intensa angiogênese, com migração e proliferação de células endoteliais e desenvolvimento de rede capilar. Existe alta relação entre a concentração de P₄ plasmática e a massa e volume do corpo lúteo (Maciel et al., 1992). A rede vascular é tão extensa que a maioria das células esteroidogênicas parece estar justaposta a



um capilar sanguíneo (Dharmarajan *et al.*, 1985; Fields *et al.*, 1989). O processo de angiogênese, característico da luteinização (Smith *et al.*, 1994) é também responsável pelo padrão hipocogênico do corpo lúteo à ultra-sonografia (Tom *et al.*, 1998).

O fluxo sanguíneo para o corpo lúteo é maior que para qualquer outro tecido no corpo (Wiltbank, 1994). No diestro, de 65 a 95 % do fluxo sanguíneo do ovário é destinado ao corpo lúteo, e existe uma estreita relação anatômica entre as células luteais e endoteliais. O fluxo sanguíneo está diretamente relacionado à produção de progesterona, pois determina a disponibilidade de hormônios, nutrientes e substratos, e a remoção da progesterona produzida. Fatores que modulam o fluxo sanguíneo ovariano podem aumentar (LH, PGI₂) ou reduzir (PGF₂, catecolaminas) a esteroidogênese luteal.

O CL maduro é composto por pelo menos dois tipos de células esteroidogênicas (células luteais pequenas e grandes), que diferem morfológica e funcionalmente e também na sua origem folicular. As células luteais pequenas originam-se das células da teca e respondem ao hormônio luteinizante (LH) com aumento na secreção de P₄, via ativação da proteína quinase A. As células luteais grandes são originárias das células da granulosa, contém receptores para PGF₂ e, aparentemente, fazem a mediação das ações luteolíticas deste hormônio, além de serem responsáveis por aproximadamente 80% da progesterona secretada *in vivo*, também via proteína quinase A (Smith *et al.*, 1994; Fields e Fields, 1996; Niswender *et al.*, 2000). Grande parte do parênquima do CL é constituído por estas células luteais esteroidogênicas, no entanto, células de suporte respondem por aproximadamente 20% do volume e incluem elementos vasculares (células endoteliais e pericitos), macrófagos, células musculares lisas e fibroblastos (Niswender *et al.*, 1994).

As células endoteliais, uma vez diferenciadas, normalmente permanecem funcionais por períodos de 2 a 3 anos, porém no CL, um ciclo não fértil resulta em luteólise estrutural e estes vasos sanguíneos recém-formados regredem em algumas semanas. Se houver gestação, a vida útil do CL e de sua vascularização é prolongada. Desta forma, em um curto espaço de tempo, o CL passa por um período de angiogênese, regressão controlada da vascularização no ciclo não fértil, ou manutenção dos vasos sanguíneos por ocasião da gestação (Fraser e Wulff, 2003). Após a luteogênese, o volume do corpo lúteo atinge seu valor máximo antes do pico de concentração de P₄, e a variação na produção desta, observada após o 7º dia do ciclo, parece ser decorrente da maturação funcional do corpo lúteo, e não do aumento na massa de tecido luteal (Viana *et al.*, 1999b).

Iniciada a luteólise, há uma queda na progesterona sanguínea, diminuição do peso luteal, redução do tamanho das células luteais pequenas e grandes e interrupção da vascularização luteal (Niswender *et al.*, 1994). Durante o processo de luteólise, a redução na concentração plasmática de progesterona resulta em valores basais em apenas 24 horas, enquanto a regressão do tecido luteal ocorre mais lentamente (Viana *et al.*, 1999a). Esta queda inicial da concentração de P₄ no sangue não ocorre devido à perda de células esteroidogênicas, visto que, o número de células luteais não diminui antes da concentração de P₄, mas sim devido ao decréscimo no fluxo sanguíneo com conseqüente diminuição da capacidade esteroidogênica de cada célula luteal individualmente (Niswender *et al.*, 2000). Mesmo sendo a PGF₂ o hormônio que inicia a luteólise funcional, mecanismos adicionais parecem ser necessários para a completa lise do corpo lúteo. Embora a luteólise englobe uma série de eventos sequenciais, a distinção entre mudanças funcionais e estruturais ajuda no entendimento de todo o processo.

A regressão funcional do CL é caracterizada pelo decréscimo na produção de progesterona, e a regressão estrutural se manifesta como uma degradação do tecido luteal (Pate, 1994). A Figura 1 ilustra as mudanças no tamanho do CL, área da cavidade (quando presente) e nas concentrações de progesterona ao longo de um ciclo estral em bovinos.

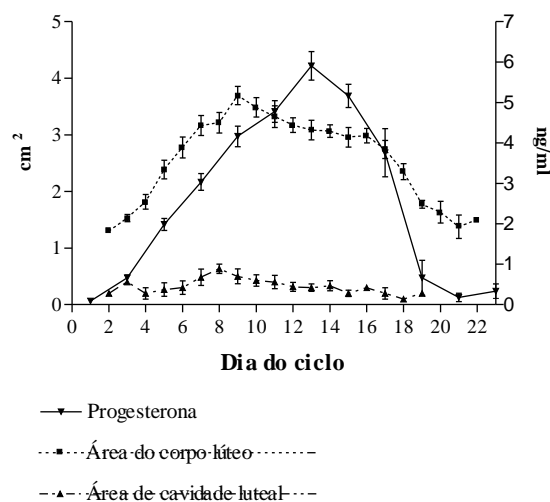


Figura 1. Representação gráfica das relações entre área do CL, área das cavidades (quando presentes) e a concentração de progesterona ao longo do ciclo estral de vacas (Viana *et al.*, 1999).

Uso de ultrasonografia em reprodução animal – avaliação de morfologia e ecotextura do CL

Desde meados da década de 80, no século passado, avanços em diagnóstico por imagem vêm revolucionando e aprimorando o uso de biotécnicas em reprodução animal. A ultra-sonografia bidimensional em tempo real (B-mode) tem sido largamente utilizada em pesquisas relacionadas à reprodução animal, em áreas distintas, variando desde áreas de fisiologia básica (p.ex. dinâmica folicular ovariana; Fortune *et al.*, 1988; Ginther *et al.*, 1989a; Fortune, 1993; Wiltbank *et al.*, 2002) até áreas de biotecnologia aplicada (p.ex. aspiração folicular por via transvaginal; Carlin *et al.*, 1999, Goodhand *et al.*, 1999). O crescente uso do ultra-som permitiu aos pesquisadores elucidar fenômenos reprodutivos de extrema importância no ciclo estral, possibilitando o estabelecimento e/ou adequação de protocolos de manipulação hormonal da função reprodutiva, como superovulação, sincronização de estro e indução da ovulação. O uso da ultra-sonografia também tornou possível o monitoramento do desenvolvimento da glândula luteal (CL) seqüencialmente (Pierson e Ginther, 1987; Kastelic e Ginther, 1989), permitindo a avaliação do tamanho, forma, localização e consistência do corpo lúteo (Fig. 2). Somente após a introdução da ultra-sonografia em tempo real foi possível estudar eventos fisiológicos de maneira seriada, sem interrupção ou distorção da função do órgão, permitindo a visualização das mudanças que ocorrem no tecido vivo (Singh *et al.*, 2003). Estudos ultrasonográficos demonstraram que a área de tecido luteal (Kastelic *et al.*, 1990) e a ecotextura (Singh *et al.*, 1997) estão diretamente relacionados com as concentrações de progesterona circulante e glandular. No entanto, o exame de ultra-som, por si só, não elimina completamente os erros de avaliação do CL (Pieterse *et al.*, 1990).



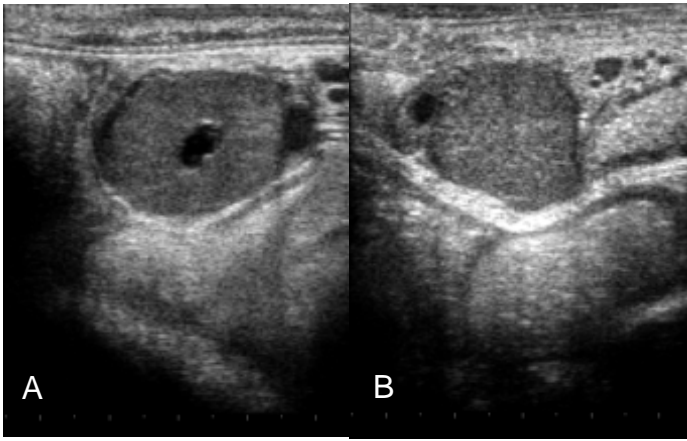


Figura 2. Imagens ultrasonográficas (7,5 MHz) de corpos lúteos bovinos 12 dias após o estro. O padrão hipocogência da glândula é bem característico, permitindo sua fácil identificação, visualização, e mensuração de tamanho e forma. A presença de cavidades centrais preenchidas por fluido é comum em bovinos, como se observa na imagem A.

O uso de recursos como a análise computacional de imagens ultra-sonográficas se mostra promissor na avaliação da função ovariana e permitiu a abertura de novas linhas de pesquisa (Singh *et al.*, 2003). A análise computacional de imagens é uma técnica baseada na identificação, quadro a quadro (pixel), da intensidade do retorno da onda ultra-sonográfica. A densidade e as características do tecido podem ser observadas por ultra-som, mas não quantificadas pelo olho humano, levando a diferentes percepções individuais e, conseqüentemente, variações na interpretação da imagem (Pierson e Adams, 1995). Este tipo de análise quantifica, numericamente, a tonalidade de cinza de cada pixel em uma imagem ou região analisada (Fig. 3), gerando uma matriz de valores que podem ser usados para avaliar de forma bastante objetiva a ecotextura do tecido ou órgão em exame (Singh *et al.*, 1998). A imagem ultra-sonográfica permite uma estimativa da concentração de progesterona (sanguínea e luteal), além das características histomorfológicas e hemodinâmicas do corpo lúteo (Towson e Ginther, 1989; Singh *et al.*, 1997) e a quantificação da ecotextura do CL nas diferentes fases do ciclo estral parece ser um indicador do status fisiológico e funcional da glândula luteal (Singh *et al.*, 1997; Tom *et al.*, 1998b; Davies *et al.*, 2006; Siqueira *et al.*, 2009; Fig. 4).

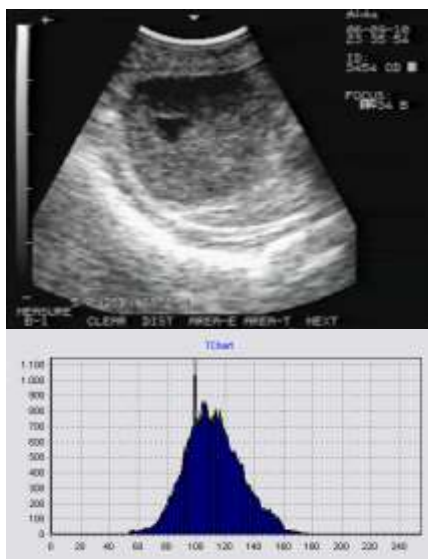


Figura 3. Exemplo de metodologia para a mensuração da ecotextura. Uma região é selecionada na imagem do CL (A) e o software quantifica a intensidade de brilho de cada pixel compondo a imagem, gerando valores numéricos que podem ser representados por histogramas em escala de 0 a 255 (eixo X, imagem B). Adaptado de Siqueira *et al.*, 2006.

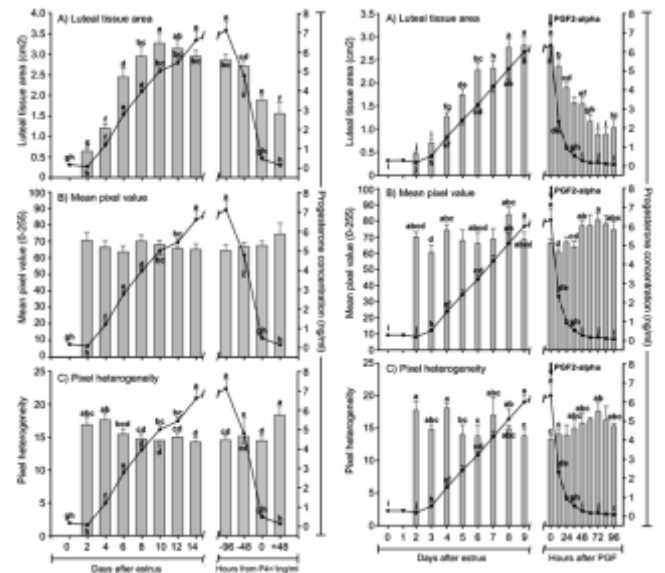


Figura 4. Relação entre área, ecotextura do CL (valor médio de pixels e heterogeneidade) e concentração plasmática de progesterona ao longo do ciclo estral natural (A) e após luteólise induzida por PGF2 (B) em novilhas (Siqueira *et al.*, 2009).

As possíveis aplicações práticas desta tecnologia são evidentes, como no caso da avaliação da qualidade luteal em receptoras no dia da transferência de embriões. A concentração de progesterona plasmática até o dia da TE (dia 7) pode ser utilizada para a rejeição de receptoras com função luteal anormal (Chagas e Silva *et al.*, 2002). Se for possível estimar a produção de progesterona por meio da análise de uma imagem ultra-sonográfica do corpo lúteo, a seleção e a triagem de receptoras podem se tornar muito mais eficientes. A rigorosa seleção de receptoras tem grande importância em programas de TE, e todo método que auxilie e aumente a acurácia deste processo deve ser levado em consideração.

A possibilidade de estimar a produção de progesterona por meio da análise de imagem ultra-sonográfica do corpo lúteo tornaria a seleção e triagem de receptoras muito mais eficientes, com grande impacto nos casos em que a manutenção de gestação é de grande importância (clones, animais transgênicos ou de alto valor econômico, etc.). A implementação destas novas tecnologias de análise de imagem ainda requer estudos específicos, visando o estabelecimento de padrões ideais dos valores de pixel que refletiriam a maior/menor capacidade esteroidogênica do corpo lúteo e, conseqüentemente, a maior/menor chance de estabelecimento da gestação, assim como avaliando o impacto de diferenças metodológicas (Siqueira *et al.*, 2006; 2007).

Seleção e avaliação de receptoras de embriões

A avaliação de receptoras tem como objetivos a seleção de fêmeas aptas a receberem embriões e identificar a localização do CL, para transferência no corno ipsilateral ao ovário contendo o CL. O método tradicional de sincronização e seleção de receptoras inclui tratamento (ou não) com análogos da PGF2 (Mahon e Rawle, 1987; Stroud e Hasler, 2006), detecção de estro, e palpação retal (ou ultrasonografia) sete dias após o estro para localização do CL. As maiores limitações para a avaliação de receptoras estão relacionadas às dificuldades para avaliação da função luteal, falta de clareza quanto a critérios a serem adotados (concentração de P4, área do CL, etc), e os impactos que a seleção



terá na eficiência de sincronização, i.é., na taxa de uso de receptoras (n de transferidas/tratadas; gestantes/transferidas; gestantes/tratadas).

A correta seleção de receptoras se inicia com avaliações das condições gerais dos animais. Características físicas de aprumos (pernas e pés), úbere, etc e a idade devem ser consideradas. O exame ginecológico deve excluir fêmeas com patologias no trato reprodutivo (ovários, ovidutos, cérvix) e a anamnese deve investigar o histórico reprodutivo do animal. Apesar de novilhas serem preferenciais, o uso de vacas com excelente histórico reprodutivo (alta fertilidade) também pode ser adotado (Jones e Lamb, 2008). Ou seja, é importante que o avaliador esteja ciente de que, além das características relacionadas ao CL, existem outras fontes de variação que influenciam os resultados da TE (taxas de gestação).

A relação entre tamanho do CL, concentração plasmática de progesterona, e taxas de gestação em receptoras de embriões ainda não está claramente definida e, por isso, é objeto de vários estudos (Hasler *et al.*, 1980; Remsen e Roussel, 1982). Ainda não há consenso em relação aos efeitos de altas (>6,0 ng/mL) e baixas (<2,0 ng/mL) concentrações de P4 sobre a taxa e gestação (Nelson e Nelson, 1985; Niemann *et al.*, 1985; Northey *et al.*, 1985; Nogueira *et al.*, 2004). Alguns autores afirmam que a aptidão de uma receptora pode ser determinada pela detecção de estro e pela presença de um CL palpável no dia da TE (D7), independente do tamanho ou qualidade deste CL e da concentração de P4, pois taxas de gestação satisfatórias foram reportadas em receptoras apresentando concentrações sistêmicas de P4 muito baixas (<1 ng/mL) ou muito altas (>20 ng/mL) (Spell *et al.*, 2001; Siqueira *et al.*, 2009). Ainda é difícil determinar se a concentração circulante de P4 pode ser utilizada para prever taxas de gestação, uma vez que uma concentração sanguínea mínima de P4 que é necessária para a gestação em bovinos ainda é desconhecida (Lucy, 2001). O uso de ultrasonografia B-mode permite não só a mensuração do tamanho do CL, mas também a avaliação e quantificação objetiva de sua ecotextura (Singh *et al.*, 1997; Tom *et al.*, 1998; Singh *et al.*, 2003). Estas características do CL, identificadas tanto por palpação retal quanto por ultrasonografia transretal antes da TE (D7), podem ser utilizadas para determinação da aptidão de fêmeas que receberão embriões (Nogueira *et al.*, 2003; Nelson e Nelson, 1985; Niemann *et al.*, 1985; Spell *et al.*, 2001). No entanto, a mensuração da área do CL e a quantificação de sua ecotextura no dia da TE (D7) não foram indicadores úteis de chance de prenhez, visto que não houve diferença nestes parâmetros entre receptoras que se tornaram gestantes e as que falharam em estabelecer gestação (Siqueira *et al.*, 2009). No dia da TE, sete dias após o estro, o CL ainda está em formação. Por este motivo, a avaliação do CL neste dia talvez seja muito precoce para identificar diferenças de ecotextura e área entre CL funcionais e não-funcionais. Em estudo anterior, nosso grupo não conseguiu identificar o padrão desejável de ecotextura que poderia prever gestação em receptoras. Tanto o tamanho do CL, a aparência ultrasonográfica (ecotextura) e os parâmetros funcionais (P4 circulante) não foram úteis para prever as chances de uma receptora se tornar gestante ou não após a TE (Siqueira *et al.*, 2009).

Os atributos necessários para fazer de uma fêmea uma receptora de embrião apta englobam vários tipos de características. A princípio, a presença de um CL seria suficiente para determinar aptidão. Contudo, qual seria o tamanho mínimo deste CL, qual a concentração adequada de progesterona e o padrão de ecotextura desejável ainda não estão bem definidos (Spell *et al.*, 2001; Siqueira *et al.*, 2009). Devido às grandes variações nos valores de P4 circulante em receptoras, a concentração mínima necessária para prenhez ainda não está muito bem definida.

Concentrações anormais (muito baixas ou muito altas) parecem ser prejudiciais ao estabelecimento da gestação (Remsen e Roussel, 1982; Nogueira *et al.*, 2004) e, portanto, parece haver uma média ótima de P4 entre 2,5 e 3,0 ng/mL (Remsen e Roussel, 1982). Mesmo assim, os resultados de estudos anteriores são controversos, visto que diferentes faixas de concentrações de P4 (baixas, média e altas) não afetaram a taxa de prenhez em alguns estudos (Spell *et al.*, 2001; Siqueira *et al.*, 2009). O uso de ferramentas para aumentar o número de CLs ou formar CLs acessórios, aumentando a concentração de P4, por meio de, por exemplo, aplicação exógena de eCG, produziu resultados controversos, com aumento das taxas de prenhez em alguns estudos (Tribulo *et al.*, 2002; Nasser *et al.*, 2004), mas diminuição em outro (Nogueira *et al.*, 2004).

Em resumo, não há evidências de que a concentração plasmática de progesterona no dia 7 (dia da TE) possa ser utilizada de forma confiável para prever a chance de prenhez de receptoras (Hasler *et al.*, 1980; Remsen e Roussel, 1982; Spell *et al.*, 2001; Siqueira *et al.*, 2009). Não houve diferença nos atributos de ecotextura do CL (valor médio de pixels e heterogeneidade) entre receptoras que se tornaram gestantes ou não (Siqueira *et al.*, 2009). Quanto ao tamanho do CL (área ou diâmetro), é difícil recomendar uma área mínima a ser adotada como critério de aptidão (Siqueira *et al.*, 2009), embora tem sido freqüente a adoção de área mínima em 2,0 cm² e/ou diâmetro mínimo de 15 mm (Tribulo *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2002; Nogueira *et al.*, 2004). Todas estas dificuldades em estabelecer um único critério de seleção de receptoras aptas podem ser devido à existência de uma relação pouco clara entre tamanho do CL, concentrações plasmáticas de P4 e taxas de gestação (Siqueira *et al.*, 2009). Mesmo assim, a avaliação do CL, seja por palpação ou por ultrasonografia, contribui substancialmente para a tomada de decisão quanto à aptidão das receptoras no dia da TE. As tecnologias de diagnóstico por imagem estão em constante evolução, portanto provavelmente serão grandes ferramentas de avaliação/seleção de receptoras em um futuro próximo.

Há evidências bastante sólidas de que concentrações anormais de P4 no dia da TE (muito baixas ou muito altas), fora de limites máximos e mínimos razoáveis, podem ser utilizadas para excluir receptoras de um programa de TE (Remsen e Roussel, 1982; Chagas e Silva *et al.*, 2002). Assincronia maior do que ± 1 dia entre o ciclo da doadora e das receptoras resulta em taxas de gestação diminuídas (Hasler *et al.*, 1987). A identificação de CLs não evidentes à palpação ou menores do que ~15 mm na ultrasonografia também são critérios de exclusão de receptoras (Spell *et al.*, 2001; Tribulo *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2002; Nogueira *et al.*, 2004). Ainda, o tipo de embrião a ser transferido afeta a taxa de gestação. Embriões transferidos a fresco resultam em taxas de gestação maiores do que embriões congelados/descongelados (Spell *et al.*, 2001; Purcell *et al.*, 2005); e embriões produzidos in vivo, após superovulação, resultam em maiores taxas de gestação do que embriões produzidos in vitro (Siqueira *et al.*, 2009). Por fim, além de todos os fatores relacionados à morfologia e função do CL, a seleção eficiente e um manejo ótimo de receptoras contribuem para a obtenção de altas taxas de gestação após a TE (Stroud e Hasler, 2006). Condições gerais de saúde (livre de doenças), nutrição (escore de condição corporal adequado) e metabolismo (não lactante vs lactante; dias pós-parto) devem ser também considerados como fatores muito importantes que afetam as taxas de gestação de receptoras em programas de TE (Mahon e Rawle, 1987; Looney *et al.*, 2006).



CONCLUSÕES

A avaliação morfológica e funcional do CL é de grande importância em programas de TE e o recente desenvolvimento de novas técnicas/ferramentas de diagnóstico como a ultrasonografia B-mode, a análise quantitativa da ecotextura e o Doppler poderão contribuir substancialmente para a otimização no uso de receptoras. Não existem ainda evidências definitivas que estabeleçam um único parâmetro que deva ser utilizado como critério de inclusão/exclusão de receptoras em programas de TE, nem tampouco os pontos de corte que poderiam prever gestação estão bem definidos (área mínima, ecotextura desejável, P4 ideal, etc). Contudo, as tecnologias de diagnóstico por imagem estão em evolução e têm muito a contribuir para uma seleção mais eficiente, conjugando medidas indicadoras, direta ou indiretamente, da função luteal. É importante ressaltar que, além de fatores relacionados ao CL, as condições gerais de manejo e manutenção das receptoras (nutrição, ganho de peso, ECC, bem-estar, etc) e o tipo de embrião a ser transferido (fresco vs congelado, *in vivo* vs *in vitro*) também afetam significativamente as taxas de gestação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, T.J.; A. Myamoto. 2004. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Anim Reprod Sci*, 82-83:127-140.
- Carlin, S.K.; A. S. Garst; C.G. Tarraf; T.L. Bailey; M.L. Mcgilliard; J.R. Gibbons. 1999. Effects of ultrasound-guided transvaginal follicular aspiration on oocyte recovery and hormonal profile before and after GnRH treatment. *Theriogenology* 1999;51: 1489-1503.
- Chagas y Silva, J.; L. Lopes da Costa; J. Robalo Silva. 2002. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology*; 58:51-9.
- Davies, KL; P.M. Bartlewski; R.A. Pierson; N.C. Rawlings. 2006. Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: A comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. *Anim Reprod Sci*, 96:165-175.
- Dharmarajan, A.M.; N.W. Bruce; G.T. Meyer. 1985. Quantitative ultrastructural characteristics relating to transport between luteal cell cytoplasm and blood in the corpus luteum of the pregnant rat. *American J of Anatomy*;172:87-99.
- Frankel, L. 1903. Die function des corpus luteum. *Arch Gynaekol*; 80:190-191.
- Fraser, HM; C. Wulff. 2003. Angiogenesis in the corpus luteum. *Reprod Biol and Endocrin*;1:1-8.
- Fields, M.J.; W. Dubois; K.H. Brackett; R.F. Faulkner; B.A. Ball; J.M. Martin; M. Drost.; P.A.Fields. 1989. In-vivo effect of prostaglandin F₂ treatment on secretory granules in the corpus luteum of the late pregnant cow. *J Reprod and Fert*, Suppl 37:215-223.
- Fields, MJ; P.A. Fields. 1996. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during estrous cycle and pregnancy. *Theriogenology*;45:1295-1325.
- Fortune, J.E.1993. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility? *Anim Reprod Sci*;33:11-125.
- Ginther, O.J.; L. Knopf; J.P. Kastelic. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fert*,87:223-230.
- Gonçalves, PBD; J.R. Figueiredo; V.J.F. Freitas.2001. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. 1ª ed. Editora Varela, São Paulo, 2001.
- Goodhand, KL; R.G. Watt; M.E. Staines; J.S.M. Hutchinson; P.J. Broadbent. 1999. In vivo oocyte recovery and in vitro embryo production from bovine donors aspirated at different frequencies or following FSH treatment. *Theriogenology*; 51:951-961.
- Hafez, ESE. 1995. Reprodução animal. 6ª edição. Editora Manole, São Paulo, 1995.
- Hasler, JF; R.A. Bowen; L.D. Nelson; G.E. Seidel Jr, 1980. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. *J Reprod Fert*, 58:71-7.
- Hasler, JF; A.D. McCauley; R.H. Lathrop; R.H. Foote.1987. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*; 27:139-68.
- International Embryo Transfer Society. 2010. Embryo Transfer Newsletter. [Fonte:<www.iets.org>]
- Jones, A.L.; G.C. Lamb. 2008. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology*; 69:107-115.
- Kastelic, J.P.; R.A. Pierson; O.J. Ginther. 1990a. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*; 34:487-498.
- Kastelic, J.P.; D.R. Bergfelt; O.J. Ginther. 1990b. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*; 33:1269-1278.
- Looney, C.R.; J.S. Nelson; H.J. Schneider; D.W. Forrest. 2006. Improving fertility in beef cows recipients. *Theriogenolog* 65:201-9.
- Luck, M.R.; Y. Zhao. 1995. Structural remodeling of reproductive tissues. *Journal of Endocrinology*;146:191-195.
- Lucy, M.C.2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle:Where it will end?. *J Dairy Sci*; 84:1277-93.
- Maciel, M.; H. Rodriguez-Martinez; H. Gustafsson. 1992. Fine structure of corpora lutea in superovulated heifers. *Zentralbl Veterinarmed A*. 39:89-97 [Abstract].
- Mahon, G.D.; J.E. Rawle. 1987. The export of deep-frozen bovine embryos. *Theriogenology*; 27:21-35.
- Moreno, D.; L. Cutaia; H. Tribulo; R. Tribulo; M.L. Villata; M. Caccia; G.A. Bo. 2002. Effect of time of prostaglandin administration on pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. *Theriogenology*, 57(552) [abstract]
- Nasser, L.F.; E.L. Reis; M.A. Oliveira; G.A. Bó; P.S. Baruselli. 2004. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients. *Theriogenology*; 62:1283-90.
- Nelson, L.D.; C.F. Nelson. 1985. Effect os estrus detection and corpus luteum development on pregnancy rates in bovine embryo recipients. *Theriogenology*; 23(212) [abstract].
- Niemann, H.; B. Sacher; F. Elsaesser. 1985. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. *Theriogenology*; 23:631-9.
- Niswender, G.D.; J.L. Juengel; W.J. Mcguire; C.J. Belfiore; M.C. Wiltbank. 1994. Luteal Function: The estrous cycle and early pregnancy. *Biol of Reproduction*; 50: 239-247.



- Niswender, G.D.; Juengel, J.L.; Silva, P.J.; Rollyson, M.K.; McIntush, E.W. 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews*; 80:1-29.
- Nogueira, M.F.G.; D.S. Melo; L.M. Carvalho; E.J. Fuck; L.A. Trunca; C.M. Barros. 2004. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2 and eCG? *Theriogenology*; 61:1283-90.
- Northey, D.L.; F.L. Barnes; W.H. Eyestone; N.L. First. 1985. Relationship of serum progesterone, luteinizing hormone and the incidence of pregnancy in bovine embryo recipients. *Theriogenology*; 23(214) [abstract]
- Pate, J.L. 1994. Cellular components involved in luteolysis. *J Anim Sci*; 72:1884-1890.
- Pierson, R.A.; O.J. Ginther. 1987. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*; 28:929-936.
- Pierson, R.A.; Adams, G.P. Computer-assisted image analysis, diagnostic ultrasonography and ovulation induction: strange bedfellows. *Theriogenology* 1995;43:105-112.
- Pieterse, M.C.; M.A.M. Taverne; A.M. Kruip; A.H. Willemse. 1990. Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *The Veterinary Record*; 126:552-554.
- Purcell, S.H.; W.E. Beal; K.R. Gray. 2005. 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*; 64:867-78.
- Remsen, L.G.; J.D. Roussel. 1982. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology*; 18:365-72.
- Schams, D.; B. Berisha. 2004. Regulation of corpus luteum function in cattle – An overview. *Reproduction in domestic animals*; 39:241-251.
- Singh, J.; R.A. Pierson; G.P. Adams. 1997. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *J Reprod and Fertil*; 109:35-44.
- Singh, J.; R.A. Pierson; G.P. Adams. 1998. Ultrasound image attributes of bovine ovarian follicles and endocrine and functional correlates. *J Reprod and Fertil*; 112:19-29.
- Singh, J.; G.P. Adams; R.A. Pierson. 2003. Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. *Anim Reprod Sci*; 78:371-99.
- Siqueira, LGB; Viana, JHM; Souza, ED; Camargo, LS; Amorim, LS; Fonseca, JF; Fernandes, CAC; Torres, CAA. Aferição de ecogenicidade luteal com o uso de diferentes transdutores de ultra-som. *Acta Scientiae Veterinariae* 2006;34:281.
- Siqueira, L.G.B.; J.H.M. Viana; E. Souza; L.S.A. Camargo; J.F. Fonseca; C.A.C. Fernandes; C.A.A. Torres. 2007. Use of computer assisted ultrasound image analysis in embryo recipient selection. *Reprod, Fertil and Develop*; 19:323-324.
- Siqueira, L.G.B.; C.A.A. Torres; E.D. Souza; P.L.J. Monteiro Jr; E.K. Arashiro; L.S.A. Camargo; C.A.C. Fernandes, CAC; J.H.M. Viana. 2009. Pregnancy rates and corpus luteum-related factors affecting pregnancy establishment in bovine recipients synchronized for fixed-time embryo transfer. *Theriogenology* 72:949-58.
- Smith, M.F.; E.W. McIntush; G.W. Smith. 1994. Mechanisms associated with corpus luteum development. *J Anim Sci*. 72:1857-1872.
- Spell, A.R.; W.E. Beal; L.R. Corah; G.C. Lamb. 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*; 56:287-97.
- Stroud, B.; J.F. Hasler. 2006. Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. *Theriogenology*; 65:65-76.
- Thibault, C.; M.C. Levasseur; R.H.F. Hunter. 1993. Reproduction in mammals and man. 5a Ed. Editora Ellipses, 1993.
- Tom, J.W.; R.A. Pierson; G.P. Adams. 1998. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. *Theriogenology*; 49:1345-52.
- Townson, D.H.; O.J. Ginther. 1989. Ultrasonic echogenicity of developing corpora lutea in pony mares. *Anim Reprod Sci*; 20:143-153.
- Tribulo, H.; D. Moreno; L. Cutaia; G. Gatti; R. Tribulo; M. Caccia; G.A. Bó. 2002. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices, and eCG, and transferred without estrus detection. *Theriogenology*; 57(571) [abstract]
- Viana, J.H.M. 1996. Avaliação ultra-sonográfica de estruturas ovarianas em doadoras e receptoras de embrião. 120f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Viana, J.H.M.; A.M. Ferreira; A.M. Sá; L.S.A. Camargo. 1999. Características da dinâmica folicular após luteólise natural ou induzida em vacas da raça Gir. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*; 51:251-256 (a).
- Viana, J.H.M., A.M. Ferreira; A.M. Sá; L.S.A. 1999. Camargo. Função luteal em vacas da raça Gir. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 1999;51:257-262 (b).
- Kastelic, J.P.; O.J. Ginther. 1989. Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers. *J of American Vet Medic Association*, 194:922-928.
- Wiltbank, M.C. 1994. Cell types and hormonal mechanisms associated with mid cycle corpus luteum function. *J of Anim Sci*. 72:1873-1883.
- Wiltbank, M.C.; A. Gümen; R. Sartori. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*; 57:21-52.

