

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Avaliação do hCG em protocolos de IATF em vacas no pós-parto

Samuel Marcos de Paiva
Magister Scientiae

VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025

SAMUEL MARCOS DE PAIVA

Avaliação do hCG em protocolos de IATF em vacas no pós-parto

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Jose Domingos Guimaraes

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

P149a Paiva, Samuel Marcos de, 1999-
2025 Avaliação do hCG em protocolos de IATF em vacas no
pós-parto / Samuel Marcos de Paiva. – Viçosa, MG, 2025.
1 dissertação eletrônica (36 f.): il. (algumas color.).

Orientador: José Domingos Guimarães.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Veterinária, 2025.

Referências bibliográficas: f. 28-37.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.377>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bovinos - Inseminação artificial. 2. Corpo lúteo.
3. Prenhez. 4. Hormônios. 5. Gonadotropina coriônica.
I. Guimarães, José Domingos, 1963-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.208245

SAMUEL MARCOS DE PAIVA

Avaliação do hCG em protocolos de IATF em vacas no pós-parto

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Samuel Marcos de Paiva
Autor

Jose Domingos Guimaraes
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A meus pais.

Aos meus amigos, que tive a oportunidade de conhecer durante esse tempo, que sempre estiveram ao meu lado apoiando-me e ajudando-me.

Aos meus professores, que dedicaram seu tempo e sabedoria durante essa jornada, agradeço pela confiança, paciência e por toda contribuição durante todo meu processo de formação.

Ao meu professor orientador Prof. Dr. José Domingos Guimarães, agradeço por todos os ensinamentos e por se destacar como exemplo, tanto no âmbito profissional quanto no pessoal.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

PAIVA, Samuel Marcos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Avaliação do hCG em protocolos de IATF em vacas no pós-parto.** Orientador: Jose Domingos Guimaraes.

O objetivo deste trabalho consiste em determinar os efeitos da aplicação de hCG no oitavo e décimo dia do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), observando o efeito no diâmetro, no aspecto e na perfusão sanguínea do corpo lúteo (CL), na perfusão sanguínea do endométrio, inclusive analisando a taxa de prenhez de vacas de corte no pós-parto. No experimento, foram usados três grupos de vacas de corte, de acordo com o protocolo hormonal: no primeiro dia de protocolo (D0), administraram-se 2 mg de benzoato de estradiol intramuscular (i.m) por meio da inserção de um dispositivo intravaginal que continha 0,5 g de progesterona (P4). Oito dias após a aplicação do experimento (D8), foi administrado 150 µg de cloprostenol (análogo de prostaglandina F2a), i.m, 0,5 mg de cipionato de estradiol, i.m. sendo retirado o dispositivo intravaginal de P4. Após 48 horas da retirada do dispositivo intravaginal de P4, realizou-se a inseminação artificial, utilizando sêmen oriundo de central comercial. As vacas do grupo 1 receberam apenas o protocolo doravante mencionado, e foram administrados, no D8, 300 UI de Gonadotrofina Coriônica equina (eCG), i.m. Já no grupo 2, no oitavo dia do protocolo, os animais receberam 1500 UI de Gonadotrofina Coriônica humana (hCG), i.m. Com o grupo 3, foram administrados 1500 UI de hCG no dia da inseminação (D10), i.m.. No 16° dia, após a inseminação artificial, os animais foram avaliados por ultrassonografia Color Doppler. No grupo 3, o CL apresentou o diâmetro e a massa luteal superiores aos demais grupos. No entanto, não houve diferença significativa em relação à perfusão sanguínea do corpo lúteo entre os grupos. Na avaliação do endométrio, observou-se que o corno uterino ipsilateral ao ovário com o CL, se manteve com a perfusão sanguínea elevada em relação ao corno uterino oposto. A administração de hCG no momento da inseminação artificial induz a ovulação, favorece no aumento do diâmetro, perfusão sanguínea e aspecto da massa luteal. A perfusão sanguínea do endométrio aumenta de acordo com o desenvolvimento do folículo dominante, sendo maior no corno uterino, em que está localizado o folículo dominante, permanecendo maior até o momento da ovulação e após a formação do corpo hemorrágico, posteriormente corpo lúteo.

Palavras-chave: bovino; inseminação; CL; prenhez; hormônios

ABSTRACT

PAIVA, Samuel Marcos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **HCG evaluation in FTAI protocols in postpartum cows.** Adviser: Jose Domingos Guimaraes.

The objective of this study is to determine the effects of administering hCG on the eighth and tenth days of the Artificial Insemination in Fixed Time (AIFT) protocol, by observing its impact on the diameter, appearance, and blood perfusion of the corpus luteum (CL), as well as on endometrial blood perfusion, and analyzing the pregnancy rate of postpartum beef cows. The experiment involved three groups of beef cows subjected to the following hormonal protocol: on day zero (D0), 2 mg of estradiol benzoate was administered intramuscularly (i.m.) along with the insertion of an intravaginal device containing 0.5 g of progesterone (P4). On day eight (D8), 150 µg of cloprostenol (a prostaglandin F2a analogue) and 0.5 mg of estradiol cypionate were administered i.m., and the P4 device was removed. Artificial insemination using thawed semen was performed 48 hours after the removal of the P4 device. Cows from Group 1 received only the standard protocol mentioned above, including the administration of 300 IU of equine Chorionic Gonadotropin (eCG) on D8. In group 2, 1500 IU of human Chorionic Gonadotropin (hCG) was administered i.m. on day 8. In group 3, 1500 IU of hCG was administered i.m. on the day of insemination (D10). On day 16 after insemination, the animals were evaluated via Color Doppler ultrasonography. Results showed that group 3 had greater CL diameter and luteal mass compared to the other groups. However, there was no significant difference in CL blood perfusion among the groups. Endometrial evaluation revealed that the uterine horn corresponded to the ovary with the CL maintained higher blood perfusion compared to the opposite horn. The administration of hCG at the time of insemination induces ovulation, enhances CL diameter, blood perfusion, and luteal tissue appearance. Moreover, endometrial blood perfusion increases in line with the development of the dominant follicle, being higher in the uterine horn where the dominant follicle is located and remaining elevated through ovulation and after the formation of the corpus hemorrhagicum, later the corpus luteum.

Keywords: cattle; insemination; CL; pregnancy; hormones

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

IATF	Inseminaco Artificial em Tempo Fixo
IA	Inseminaco Artificial
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (Gonadotropin-Releasing Hormone)
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina (equine Chorionic Gonadotropin)
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana (human Chorionic Gonadotropin)
CL	Corpo Lúteo
LH	Hormônio Luteinizante (Luteinizing Hormone)
BE	Benzoato de Estradiol
CE	Cipionato de Estradiol
PGF ₂ α	Prostaglandina F ₂ Alfa
P4	Progesterona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 Inseminação Artificial em Tempo Fixo – IATF	9
2.2 Ciclo Estral.....	11
2.3 Hormônios envolvidos no Ciclo Estral	13
2.4 Gonadotrofina Coriônica Humana	15
2.5 Efeito do estrogênio no útero	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Animais e local do experimento.....	17
3.2 Escore de condição corporal.....	18
3.3 Tratamento hormonal	18
3.4 Identificação de cio	20
3.5 Avaliações Ultrassonográficas	20
3.6 Diagnóstico de gestação.....	21
3.7 Análise estatística.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5 CONCLUSÃO.....	28
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 INTRODUÇÃO

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) consiste em uma biotecnologia reprodutiva que tem o objetivo de aumentar os índices reprodutivos dos rebanhos, por meio da indução e da sincronização da ovulação das fêmeas bovinas, processo desenvolvido por protocolos hormonais, os quais não possuem a necessidade de observação do cio, otimizando o manejo da fazenda (Gottschall *et al.*, 2009). A IATF, além de ser uma importante ferramenta atrelada ao melhoramento genético, também possibilita concentrar as inseminações e os nascimentos em épocas programadas, proporcionando lotes mais homogêneos e garantindo a redução do intervalo entre partos.

Atualmente, existem diversos protocolos utilizados na IATF que possuem variações hormonais, sendo os mais utilizados aqueles cuja base apresenta estrógenos e progestágenos, o que possibilita sincronizar a onda folicular. Vale ressaltar que o uso da prostaglandina, no momento da remoção do progestágeno, permite o término da fase progesterônica de forma sincronizada; inclusive, posteriormente, a indução da ovulação pode ser feita utilizando Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), estrógenos, Gonadotrofina Coriônica equina (eCG) ou Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) (Bó *et al.*, 2003).

Nesse sentido, a manutenção da gestação depende da concentração elevada de progesterona durante o período inicial. A produção de progesterona pelo corpo lúteo (CL), durante as primeiras três semanas de gestação, é um dos fatores fundamentais para o reconhecimento materno-embrionário, até mesmo para a implantação e o desenvolvimento placentário (Mann; Lamming, 1999; Carter *et al.*, 2008). Baixas concentrações e atraso no aumento de progesterona após a ovulação estão associados à diminuição do alongamento do blastocisto, acarretando perdas embrionárias e baixa taxa de concepção (Stronge *et al.*, 2005; Carter *et al.*, 2008).

A hCG, quando administrada em fêmeas bovinas, possui ação semelhante ao hormônio luteinizante (LH), uma vez que apresenta um prolongamento de sua ação e fica presente por até 60 horas no organismo bovino (Schmitt *et al.*, 1996). A hCG também induz a ovulação, auxilia na formação do CL, aumentando a síntese de progesterona e promovendo a formação de corpo lúteo acessório, especialmente quando aplicado no início da fase lútea e na presença de folículo dominante da primeira onda (De Rensis *et al.*, 2010). De acordo com Sianangama e Rajamahendram (1992), em fêmeas bovinas o hCG potencializa o efeito do LH, que, por sua vez, prolonga a vida do CL, aumentando, desse modo, a taxa de gestação em vacas inseminadas no protocolo de IATF.

O hCG induz a maturação e a ovulação do folículo dominante, e promove a luteinização do folículo ovulatório, levando ao desenvolvimento do CL. Estima-se que a alta concentração de LH pode levar a formação de um CL com maior quantidade de células luteínicas, o que gera aumento na concentração sérica de progesterona, ação que melhora a taxa de prenhez em vacas de corte inseminadas em tempo fixo.

Embora ainda não esteja estabelecido o uso da hCG nos protocolos de IATF, alguns pesquisadores associam esse hormônio ao corpo lúteo (Sianangama; Rajamahendran, 1992; Diaz *et al.*, 1998; De Rensis *et al.*, 2008). Nesse contexto, alguns trabalhos demonstram que a administração de hCG em diferentes dias do ciclo estral, no qual se inicia o protocolo de sincronização, pode melhorar a taxa de prenhez em vacas de diferentes categorias e raças (Nishigai *et al.*, 2002; Funston *et al.*, 2005; Hanlon *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2005).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Inseminação Artificial em Tempo Fixo – IATF

A IATF diz respeito a uma biotecnologia que tem o objetivo de sincronizar a ovulação das fêmeas, possibilitando realizar a inseminação artificial (IA) sem a observação de cio. Além disso, a IATF tem como vantagem concentrar a concepção e a parição das vacas dentro de uma estação reprodutiva e, assim, aumentar a eficiência produtiva nos rebanhos (Gottschall *et al.*, 2009).

Existem diversos protocolos hormonais utilizados na IATF em bovinos, os quais objetivam: induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular; controlar a duração do crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório; e induzir a ovulação sincronizada simultaneamente nos animais protocolados (Bó *et al.*, 2002; Baruselli *et al.*, 2006).

Vários fatores podem influenciar a fertilidade de vacas de aptidão leiteira e de corte, que são submetidas a IATF. Dentre eles, o indutor de ovulação, a concentração e a dose dos hormônios utilizados e o diâmetro do folículo dominante no momento da inseminação surgem como aspectos de relevância. Com relação aos indutores de ovulação, a qualidade e tipo do fármaco, bem como o momento de sua aplicação, podem ser fatores determinantes na fertilidade de vacas submetidas ao protocolo de IATF (Vieira *et al.*, 2005; Walsh *et al.*, 2011).

De acordo com Saacke (2008), um indutor de ovulação ideal é aquele que garante a ovulação de forma concentrada. Em programas de IATF, a ovulação concentrada, associada à inseminação até 12 horas antes da ovulação, é ponto-chave para o sucesso da IATF (Saacke, 2008). Nessa lógica, no Brasil, os indutores de ovulação mais usados são o benzoato de estradiol

(BE) e o cipionato de estradiol (CE), os quais se diferenciam por sua meia-vida (Sales *et al.*, 2012; Torres Júnior *et al.*, 2014). Torres Júnior *et al.* (2014) defendem que esse fator consiste em uma provável razão para a maior sincronia das ovulações de vacas tratadas com BE em comparação ao CE. Contudo, Sales *et al.* (2012) defendem que tanto utilizando BE quanto CE as ovulações podem se dispersar em uma janela de 48 horas, com amplitude de até 96 horas. Portanto, levando em consideração que oócitos têm viabilidade média de 6 a 12 horas (Stanford *et al.*, 2002), ressalta-se que, para se obterem altos índices de prenhez em programas de IATF, é importante que a inseminação artificial seja realizada no momento próximo da ovulação, mais especificamente entre 6 e 12 horas antes (Saacke, 2008).

Partindo desse princípio, é evidente que o pico pré-ovulatório de LH desencadeia a ovulação, a qual, em vacas zebuínas, ocorre quando o folículo adquire diâmetro médio de 12 mm (Sartori *et al.*, 2001). No momento de pico do LH, existe uma sincronia entre o crescimento folicular e o tamanho reduzido do folículo dominante, tornando-se desafios no aumento das taxas de ovulação e de concepção da IATF (Siqueira *et al.*, 2008).

Nessa perspectiva, protocolos de sincronização de estro, os quais utilizam o GnRH para iniciar nova onda de crescimento folicular ou, principalmente, para promover a ovulação do folículo dominante no momento da IA, têm sido desenvolvidos em bovinos de aptidão para corte e leite (Binversie *et al.*, 2012). O Ovsynch, um dos protocolos pioneiros na utilização de GnRH para o controle do ciclo estral e ovulação, consiste na aplicação de GnRH no primeiro dia do protocolo de IATF, PGF₂ α no dia 7 e 48h após nova aplicação de GnRH. Com esse protocolo, as ovulações ocorrem cerca de 28 a 30 horas após a aplicação da segunda dose do GnRH em vacas leiteiras (Liu *et al.*, 2018).

Evidencia-se, também, que a administração de eCG pode melhorar a eficácia dos protocolos de IATF, pelo fato de que o uso de eCG, no momento da remoção do dispositivo intravaginal de P4, pode ser uma alternativa para aumentar a taxa de ovulação e de prenhez (Baruselli *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2013). De acordo com Sá Filho *et al.* (2010), a eCG pode aumentar o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF, melhorar a taxa de ovulação e expandir as concentrações plasmáticas de progesterona durante a fase luteal subsequente. Quando administrada nas fêmeas bovinas, a eCG, estimula o crescimento folicular e induz a ovulação, mesmo em fêmeas que tenham comprometimento na liberação de gonadotrofinas (Baruselli *et al.*, 2008).

Inclusive, a hCG surge como uma alternativa para melhorar a taxa de ovulação e, conseqüentemente, a taxa de prenhez, devido à sua atividade semelhante ao LH, porém com

ação prolongada. Seu efeito luteotrófico ocorre por meio da ligação dos receptores de LH às células lúteas, que permanece por até 30 horas após a aplicação (De Rensis *et al.*, 2008). Além de induzir a maturação de folículos e a ovulação, o hCG, quando administrado durante o diestro, na presença de folículos pré-ovulatórios, pode induzir a formação de corpos lúteos acessórios, prolongando o ciclo estral (Diaz *et al.*, 1998; De Rensis *et al.*, 2008). Ressalta-se, também, que o hCG possui alta ação luteinizante que permite prolongar a vida útil do CL e aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona (De Rensis *et al.*, 2008).

2.2 Ciclo Estral

O ciclo estral da fêmea bovina possui duração média de 21 dias, com variação entre 18 a 24 dias, sendo dividido em estro, metaestro, diestro e proestro (Do Valle, 1991; Ginther *et al.*, 1996).

O estro, provocado pelo aumento significativo das concentrações de estrógeno produzido pelo folículo pré-ovulatório, é a fase em que a fêmea apresenta sinais de receptividade sexual, caracterizados pela manifestação do cio e pela aceitação ao macho. Esse processo tem duração curta, de 12 a 18 horas (Do Valle, 1991). Nessa lógica, as fêmeas, estando em cio, geralmente apresentam comportamento homossexual (aceitação de monta por outras fêmeas), aumento da frequência de micção, mugidos frequentes, redução de apetite, inclusive corrimento mucoso vaginal de coloração clara e viscosa (Baruselli *et al.*, 2007).

A fase de metaestro ocorre após o estro, e é caracterizada como um período no qual ocorre a ovulação, tendo duração de até 5 dias (Hafez; Hafez, 2004). Nos bovinos, a ovulação ocorre em torno de 12 a 16 horas após o término do estro. Durante essa etapa, também ocorre a formação do corpo hemorrágico, o qual se desenvolve a partir do processo de luteinização das células remanescentes do folículo ovulatório, dando origem, posteriormente, ao corpo lúteo (Barros *et al.*, 1995).

O diestro é a fase mais longa do ciclo estral, com duração de 10 a 14 dias (Grunert *et al.*, 2025). Nessa etapa, o CL está funcional, produzindo alta concentração de progesterona; o endométrio fica mais espesso e com maior atividade glandular; a cérvix regride, a musculatura genital relaxa, ocorre a diminuição da perfusão sanguínea e a hipertrofia do epitélio vaginal (Benites, 2006).

Quando não ocorre o reconhecimento materno-embrionário, o endométrio começa a secretar de forma pulsátil a prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), desencadeando a lise do CL (Kallings *et al.*, 1993). É dessa forma que toda a fase se encerra, iniciando um novo ciclo estral.

O proestro caracteriza-se pela fase que antecede o estro, com início após a regressão do CL, e possui duração média de 3 a 5 dias (Ferreira, 2010). Nesse processo, ocorre aumento da frequência dos pulsos de secreção do hormônio luteinizante (LH), levando à maturação final do folículo dominante e ao aumento do estradiol, o qual desencadeará o comportamento de estro (Hafez; Hafez, 2004).

Existem algumas particularidades reprodutivas entre as raças *Bos primogenitus indicus* e *Bos primogenitus taurus*, as quais devem ser levadas em consideração quando do emprego de biotecnologias da reprodução, como a inseminação artificial em tempo fixo. De acordo com Bó *et al.* (2003) fêmeas zebuínas (*Bos primogenitus indicus*) apresentam estro com duração mais curta, geralmente em torno de 10 horas, o que dificulta sua detecção. Além disso, cerca de 30 % desses animais iniciam e encerram o estro durante o período noturno (Pinheiro *et al.*, 1998).

Ademais, há diferenças quanto à dinâmica folicular entre zebuínos e taurinos (Martins, 2007). Em taurinos, tem-se a predominância de 2 ondas foliculares, enquanto, nas fêmeas zebuínas, há maior incidência de 3 ondas; inclusive, fêmeas zebuínas apresentam, a cada onda folicular, um pool folicular com maior número de folículos na onda, sendo de 33,4 ($\pm 3,2$) nas fêmeas zebuínas e 25,4 ($\pm 2,5$) nas fêmeas taurinas (Baruselli *et al.*, 2007; Martins, 2007). A duração média do ciclo estral é de 21 dias, podendo variar de 18 a 24 dias para ambas as raças (Ginther *et al.*, 1996).

Outra diferença fisiológica entre *Bos primogenitus taurus* e *Bos primogenitus indicus* está relacionada ao crescimento folicular. Em taurinos com duas ondas, são descritos diâmetros foliculares para os folículos dominantes de 16,5 e 17,1 milímetro (mm) para a primeira e segunda onda, respectivamente (Ginther *et al.*, 1989). Já em zebuínos, os diâmetros relatados foram de 11,3 e 12,1 mm (Figueiredo *et al.*, 1997). O diâmetro pré-ovulatório dos zebuínos está em torno de 10 a 12 mm (Borges *et al.*, 2003); já nos taurinos, o diâmetro do folículo de Graaf chega de 15 a 20 mm (Wolfenson *et al.*, 2004).

O corpo lúteo dos zebuínos variam de 17 a 21 mm de diâmetro (Figueiredo *et al.*, 1997), enquanto que, em taurinos, os diâmetros oscilam entre 20 e 30 mm (Ginther *et al.*, 1989; Kastelic *et al.*, 1990). De maneira análoga, a concentração de progesterona produzida pelo CL é inferior em zebuínos em relação aos taurinos (Segerson *et al.*, 1984).

2.3 Hormônios envolvidos no Ciclo Estral

Os hormônios são mensageiros químicos, produzidos e secretados pelas glândulas endócrinas, estando localizados em diferentes áreas do corpo, as quais regulam e controlam os processos fisiológicos do organismo animal. A ação do hormônio, no tecido alvo, depende de estruturas conhecidas como receptores, cujo hormônio deve se ligar para exercer sua função (Ferreira, 2010).

A atividade gonadal está sob controle tanto do hipotálamo como da glândula hipofisária anterior (também chamada de adenohipófise). Vale inferir que o hipotálamo possui grupos de neurônios, coletivamente chamados de núcleos, os quais secretam hormônios peptídicos importantes para o controle da atividade hipofisária. Os neurônios da área ventromedial, de eminência média e núcleo arqueado, são responsáveis pela síntese e liberação tônica de GnRH, e os núcleos pré-óptico, área hipotalâmica anterior e supra-quiásmático sintetizam e liberam o hormônio GnRH, estimulador de síntese e de liberação das gonadotropinas, ocasionando, desse modo, a secreção pulsátil pré-ovulatória, que, por sua vez, alcança a hipófise anterior, por meio do sistema porta-hipotálamo-hipofisário (Fink *et al.*, 1988; Frandson *et al.*, 2005).

Nessa perspectiva, o GnRH consiste em um peptídeo produzido em neurônios especializados do hipotálamo a partir de um polipeptídeo precursor do processamento enzimático, sendo empacotado em grânulo de armazenamento, o qual é transportado pelos axônios (Fink *et al.*, 1988). A liberação do GnRH ocorre de forma pulsátil pelo hipotálamo – ou pode ser controlada por hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e peptídicos (inibina) –, cujos alvos são sítios específicos localizados na hipófise anterior, responsáveis por estimular ou inibir a produção de gonadotrofinas (Frandson *et al.*, 2005). Após a secreção, o GnRH é liberado pelo hipotálamo, alcançando a adenohipófise pelo sistema porta hipotalâmico-hipofisário e, assim, estimulando a produção e a liberação das gonadotrofinas, por intermédio do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e do Hormônio Luteinizante (LH) (Cunningham, 1999).

O FSH é um hormônio glicoproteico, produzido e secretado pelas células gonadotróficas na adenohipófise. Sua principal função é estimular o crescimento e o desenvolvimento dos folículos ovarianos (Dukes, 2006). Segundo Baruselli *et al.* (2007) o aumento da concentração plasmática de FSH estimula a emergência de uma onda, que se caracteriza pelo desenvolvimento de mais de 30 folículos em fêmeas zebuínas. Quando o folículo dominante alcança entre 4 a 5 mm (*Bos primigenius indicus*) de diâmetro, o FSH atinge seu pico máximo de concentração (Baruselli *et al.*, 2007). Quando o FSH se reduz para níveis basais, há a seleção

do futuro folículo dominante, enquanto os outros folículos sofrem atresia (Ginther *et al.*, 1997). Desse modo, o folículo dominante sintetiza a inibina, um hormônio glicoproteico secretada pelas células da granulosa dos folículos, enviando um *feedback* negativo para liberação de FSH, por meio de um efeito direto na hipófise (Frandsen *et al.*, 2005). Portanto, o FSH inibe o desenvolvimento de folículos antrais, mantendo seu *status* de dominância (Cunningham, 1999). Dessa forma, como consequência, ocorre a divergência ou também chamada desvio folicular, que gera mudanças nas taxas de crescimento folicular, entre dominantes e subordinados (Ginther *et al.*, 1996).

O estrógeno (E₂) é um hormônio esteroide, sintetizado pelas células foliculares antrais (teca e granulosa) (Hafez; Hafez, 2004). O E₂ atua nos centros controladores da onda pré-ovulatória, provocando o efeito de *feedback* positivo no hipotálamo, estimulando a liberação de GnRH. Com a presença do folículo pré-ovulatório, ocorre a indução da manifestação do estro e posteriormente a ovulação do folículo dominante (Buratini, 2007).

Após a etapa de divergência, quando a concentração de progesterona é reduzida, haverá aumento nos pulsos de LH, hormônio glicoproteico produzido e secretado pelas células gonadotróficas na adenohipófise, fazendo com que ocorra a maturação final e ovulação do folículo dominante (Borges *et al.*, 2004; Fortune *et al.*, 2004). Por outro lado, na presença de alta concentração de progesterona, o folículo dominante pode se tornar anovulatório, pois promove redução da pulsatilidade do LH, entrando em atresia e perdendo o status de dominância, iniciando nova onda folicular (Ginther *et al.*, 1989). Após a ovulação, ocorre o desenvolvimento da formação do CL, uma estrutura glandular transitória, tendo como a principal função a síntese da progesterona, sendo esse hormônio essencial para a manutenção da gestação (Borges *et al.*, 2004).

Quando não há fecundação ou não há reconhecimento materno, o endométrio uterino sintetiza e libera, de forma pulsátil, a prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) (Kallings *et al.*, 1993), a qual é um ácido graxo não saturado, derivada do ácido araquidônico, a partir de diversas reações enzimáticas. Sua principal função é promover a perda funcional e estrutural do CL, denominando assim a luteólise (Nakamura; Sakamoto, 2001). Na ocorrência de fecundação, o embrião produz uma proteína chamada de *interferon tau* (INF-τ), modulando o reconhecimento materno, cuja função é evitar a luteólise pelo bloqueio da PGF_{2α}. Dessa forma, o CL é denominado de *corpus luteum verum* (corpo lúteo verdadeiro) (Gonçalves *et al.*, 2008).

Desde modo, a progesterona é um esteroide, produzido e secretado pelas células luteínicas do corpo lúteo. Sua ação, no útero, aumenta a secreção das glândulas do endométrio

e inibe a motilidade do miométrio, preparando o ambiente uterino para a implantação do embrião (Hafez; Hafez, 2004). No hipotálamo, a P4 exerce efeito de *feedback* negativo, ocupando os receptores hipotalâmicos, reduzindo a secreção de GnRH, inibindo o pico pré-ovulatório e impedindo a ovulação em casos de fase lútea do ciclo estral ou no caso do reconhecimento materno-embriônico, a manutenção da gestação (Hafez; Hafez, 2004).

2.4 Gonadotrofina Coriônica Humana

A Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) consiste em um membro dos hormônios glicoproteicos, sendo sintetizada pelas células trofoblásticas embrião entre 2 a 8 dias após a fecundação. Depois desse período, a hCG é produzida principalmente pelas células sinciciais placentárias humana (De Medeiros; Norman, 2009). Os hormônios glicoproteicos são constituídos por duas subunidades distintas, α e β . A sequência de aminoácidos da subunidade α são comuns entre os hormônios glicoproteicos; no entanto, a sequência para a subunidade β são individuais e determinam a atividade biológica. Todavia, existe alta similaridade entre o hCG e as subunidades β -LH (80%) das fêmeas bovinas (Schmitt *et al.*, 1996; De Rensis *et al.*, 2008).

Nos animais domésticos, a hCG é utilizada devido à sua atividade semelhante ao hormônio LH, e por sua ação mais duradoura que o LH endógeno (Stenman *et al.*, 2006). A meia-vida do hCG, após a aplicação, é bifásica, apresentando uma fase rápida (entre 5 a 9 horas) e uma fase lenta (entre 24 a 33 horas) (Stenman *et al.*, 2006). Em vacas, as concentrações plasmáticas de LH aumentam significativamente por 30 horas após a administração de hCG, e não retornam às concentrações basais por 66 horas (Schmitt *et al.*, 1996).

A ação luteinizante do hCG nas células foliculares é reconhecida em várias espécies. Em vacas, a hCG potencializa o efeito do LH que, por sua vez, prolonga a vida do corpo lúteo, aumentando a produção de progesterona (Sianangama; Rajamahendram, 1992). Além disso, tal processo atua como catalizador da ovulação durante o ciclo estral e promove a formação de CL acessório, quando administrado no início da fase luteal e quando se encontra na presença de folículo pré-ovulatório (Santos *et al.*, 2004).

A manutenção da gestação depende da concentração elevada de progesterona durante o período inicial. O crescimento e o desenvolvimento do concepto requerem a ação da progesterona no útero, de modo a regular a função endometrial, incluindo reconhecimento da prenhez e preparação uterina para a implantação embrionária. Vale ressaltar que a alta concentração de progesterona, após a concepção, está associada ao alongamento do embrião e ao aumento da produção de IFN-t (Lonergan, 2011). Baixas concentrações e atraso no aumento

de progesterona, após a ovulação, estão relacionados à diminuição do alongamento do blastocisto, acarretando perdas embrionárias e baixas taxas de concepção (Stronge *et al.*, 2005; Carter *et al.*, 2008). A produção de progesterona pelo corpo lúteo de baixa qualidade, durante as primeiras três semanas de gestação, tem sido relacionada a falhas gestacionais no período inicial (Santos *et al.*, 2001).

Verifica-se que a concentração plasmática de P4 tem ligação com a capacidade do CL em produzir esse hormônio, inclusive com a sobrevivência embrionária. De acordo com Mann (2009) existe correlação entre o tamanho do CL e a concentração de P4, dependendo do dia do ciclo estral. Logo, o corpo lúteo apresenta aumento de tamanho até o 8° (ou 9°) dia pós-ovulação, indicando maturidade física da estrutura; contudo, a máxima concentração de P4 ocorre entre 13° a 16° dias pós-ovulação (Mann, 2009). Dessa maneira, durante o período de rápido desenvolvimento físico, o tamanho do CL é um importante indicador da produção de P4.

Alguns estudos demonstram que a administração de hCG, em diferentes dias do ciclo estral, pode melhorar a taxa de prenhez em vacas de aptidão leiteira (Hanlon *et al.*, 2005), inclusive a presença de vacas de aptidão para corte (Nishigai *et al.*, 2002), até mesmo as novilhas de aptidão leiteira (Silva *et al.*, 2005) e de aptidão corte (Funston *et al.*, 2005). A administração de hCG é utilizada com o intuito de aumentar as concentrações de progesterona endógena produzida pelo corpo lúteo. Além disso, infere-se que o aumento da concentração de progesterona ocorre pelo efeito luteotrófico do medicamento sobre o corpo lúteo primário, bem como pela indução da ovulação do folículo dominante da primeira onda de crescimento folicular. Esta, por consequência, leva à formação de corpos lúteos acessórios. Esse hormônio tem sido usado na tentativa de aumentar as taxas de prenhez ou diminuir as perdas gestacionais (Dahlen *et al.*, 2010; Fischer-Tenhagen *et al.*, 2010).

Neste contexto, Sianangama e Rajamahendran (1992) verificaram que a administração de hCG (entre o 5° e 16° dias após a inseminação) aumenta as taxas de sobrevivência embrionária e de prenhez. Esses resultados reforçam a hipótese de que o crescimento das concentrações endógenas de progesterona reduz a mortalidade embrionária em bovinos.

2.5 Efeito do estrógeno no útero

De acordo com a fase do ciclo estral, o útero é influenciado pela ação de diferentes hormônios, sendo que os estrógenos possuem papel importante no mecanismo de defesa e saúde uterina. Considerando os estudos de Dhaliwal *et al.* (2001), durante a fase estrogênica do ciclo

estral ocorre aumento do fluxo sanguíneo e da atividade dos polimorfonucleares nos órgãos reprodutivos, além de contrações miométrais e produção de muco cervical. As concentrações séricas de estradiol, antes da ovulação, promovem regulação no ambiente uterino em diferentes espécies (Groothuis *et al.*, 2007), contribuindo para melhor fertilidade da fêmea.

Outrossim, o padrão de expressão de receptores α para estrógeno é influenciado pela fase do ciclo estral e, conseqüentemente, pela concentração de estrógeno, demonstrando maior expressão durante o período de estro (Robinson *et al.*, 2001). Após a ligação aos seus receptores, o estrógeno atua regulando a expressão de uma série de genes e conseqüente produção de proteínas no ambiente uterino. Ulbrich *et al.* (2009) defendem a ideia de que a SERPINA14, que possui ação na preparação do útero antes da fertilização, é regulada positivamente pelo estrógeno nas glândulas endometriais durante o estro, melhorando a implantação embrionária e aumentando a taxa de concepção.

No estudo realizado por Sugiura *et al.* (2018), os autores observaram a espessura endometrial em vacas leiteiras, pós-parto, com estro natural ou induzido, e notaram que animais com estro induzido apresentaram maior espessura do endométrio antes do momento da ovulação. Tal crescimento, em ambos os grupos, foi observado quando as concentrações de progesterona diminuíram, havendo, em seguida, aumento das concentrações de estradiol, sendo evidente o efeito dessa substância sobre a espessura endometrial (Sugiura *et al.*, 2018).

Na pesquisa de Rawy *et al.* (2018), também se evidencia que vacas leiteiras foram submetidas a uma administração de 10 mg de benzoato de estradiol intramuscular no pós-parto, avaliadas com ultrassom Color Doppler, e apresentaram aumento do volume e da velocidade do fluxo sanguíneo, inclusive no diâmetro das artérias uterinas. Portanto, além das ações relacionadas à defesa uterina, o estrógeno atua na estrutura e na funcionalidade do útero.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e local do experimento

Este experimento está de acordo com os procedimentos descritos para uso de animais em pesquisa e ensino, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA-UFV), sob o protocolo 62/2023 e registro número 50558281243.

O experimento foi realizado em uma fazenda, localizada no município de Piranga, no Estado de Minas Gerais, Brasil (-20.6978536, -43.2263883). Foram utilizadas 51 vacas de corte lactantes, da raça Nelore (*Bos primogenitus indicus*), pluríparas, com intervalo do parto de 45 a 120 dias ao início do protocolo de IATF. Todos os animais foram mantidos em

pastagens predominantemente de *Urochloa brizantha*, com acesso livre à água e à suplementação mineral. Os dados foram coletados entre janeiro e março de 2024.

3.2 Escore de condição corporal

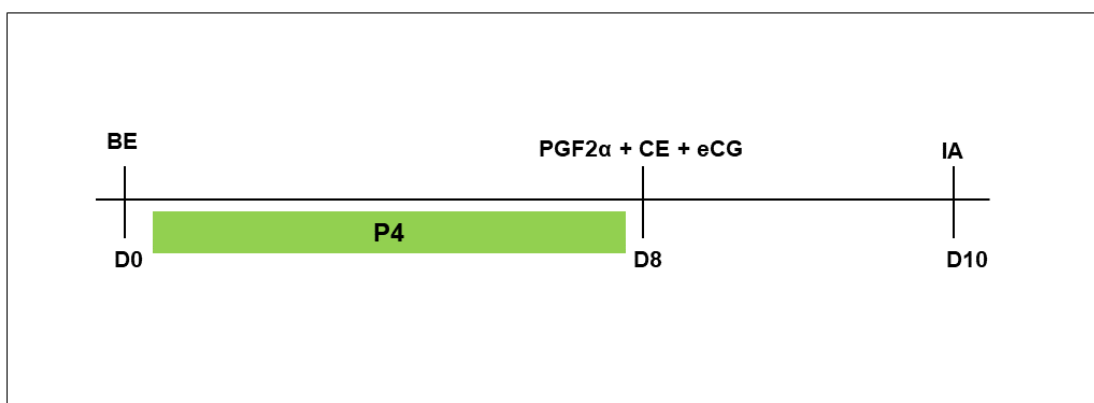
Os animais foram avaliados quanto ao escore de condição corporal (ECC) no início do protocolo de IATF, utilizando-se uma escala de 1 a 5, sendo 1 = muito magra; e 5 = obesa (Ayres *et al.*, 2009; Pfeifer *et al.*, 2017).

3.3 Tratamento hormonal

Neste experimento, foram usadas 51 vacas, sendo distribuídas aleatoriamente e de modo homogêneo em relação ao ECC, em três grupos de tratamento. O grupo 1 foi composto por 15, o grupo 2 por 20 e o grupo 3 por 16 vacas.

No grupo 1, as vacas receberam o dispositivo intravaginal contendo 0,5g de P4 (DIB, Zoetis®); também foram aplicados 2 mg de BE (RIC-BE, Tecnopec®) i.m, no primeiro dia do protocolo de IATF (D0). Oito dias depois (D8), o dispositivo intravaginal foi removido e as fêmeas receberam 150 µg de cloprostenol (ESTRON, Tecnopec®), 0,5 mg de cipionato de estradiol (CIPIOTEC, Tecnopec®) e 300 UI de eCG (NOVORMON, Zoetis®), todos via i.m. No D10 (48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal de P4), as vacas foram inseminadas. A Figura 1, abaixo, ilustra esse procedimento.

Figura 1 – Protocolo hormonal utilizado para a sincronização de estro, ovulação e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas do grupo 1.

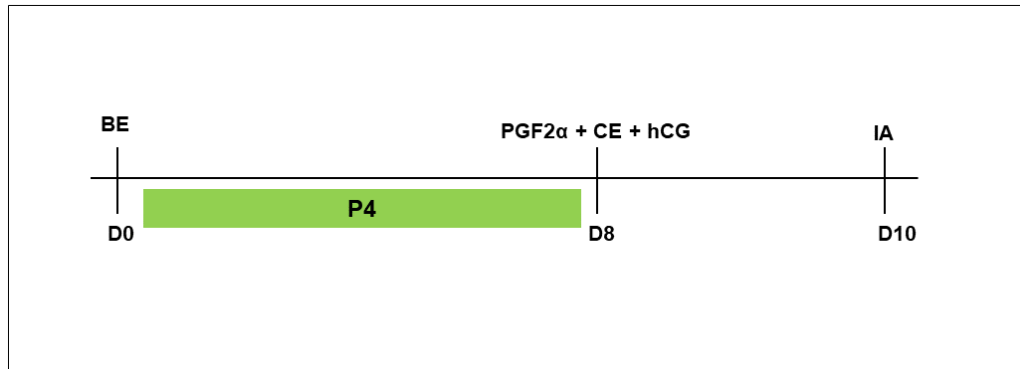


Fonte: Arquivos do autor (2025).

No grupo 2, no dia do início do protocolo (D0) as fêmeas receberam dispositivo intravaginal contendo 0,5g de P4, 2 mg de BE, via i.m.,. No D8, o dispositivo intravaginal foi

removido, e as fêmeas receberam 150 µg de cloprostenol, 0,5 mg de cipionato de estradiol e 1500 UI de hCG (CHORULON, MSD Saúde Animal®), via i.m. Após 48 horas da retirada do dispositivo intravaginal de P4 (D10) as vacas foram inseminadas.

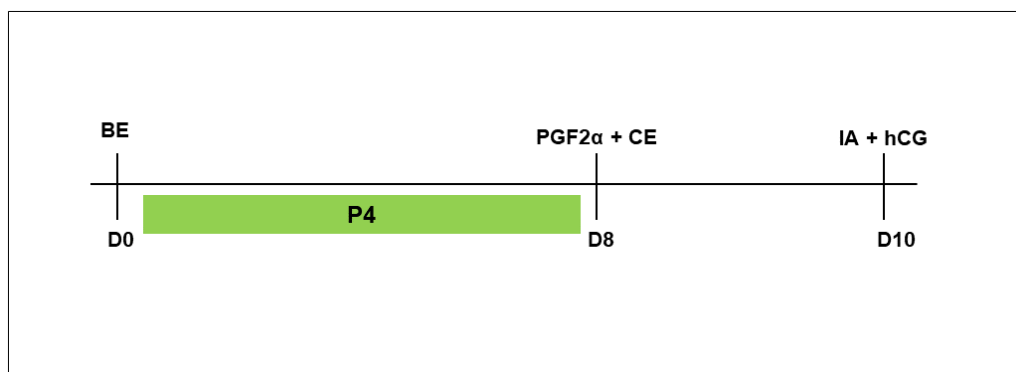
Figura 2 – Protocolo hormonal utilizado para a sincronização de estro, ovulação e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas do grupo 2.



Fonte: Arquivos do autor (2025).

E, por fim, as fêmeas do grupo 3, no início do protocolo (D0) receberam o dispositivo intravaginal contendo 0,5g de P4, 2 mg de BE, via i.m. No D8, o dispositivo intravaginal foi removido, e as fêmeas receberam 150 µg de cloprostenol, 0,5 mg de cipionato de estradiol, via i.m. No D10 (48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal - P4), as vacas foram inseminadas e receberam 1500 UI de hCG intramuscular.

Figura 3 – Protocolo hormonal utilizado para a sincronização de estro, ovulação e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas do grupo 3.



Fonte: Arquivos do autor (2025).

3.4 Identificação de cio

Para identificar a manifestação de estro, realizou-se a marcação com bastão de cor na inserção da cauda no D8 do protocolo de IATF, 48 horas antes da inseminação. No dia da inseminação (D10) foram observadas a marcação e a classificação das fêmeas: em positivo aquelas que se encontravam sem a marcação visível ou marcação borrada; e, em negativo, as fêmeas que permaneceram com a marcação intacta.

3.5 Avaliações Ultrassonográficas

Para a realização dos exames ultrassonográficos, utilizou-se o aparelho Mindray DP50-VET (DPS, China), com um transdutor linear transretal de 7,5MHz.

As vacas foram examinadas no D0 para avaliar a atividade ovariana (contagem do número de folículos e a presença ou ausência de corpo lúteo). No D8, executou-se a mensuração do diâmetro do folículo dominante e sua perfusão sanguínea, com auxílio do aparelho Ultrassom Color Doppler. O endométrio uterino também foi avaliado quanto a sua perfusão sanguínea: ambos os parâmetros foram reavaliados no D10, antes da realização da inseminação artificial. Após 16 dias da inseminação artificial, inferiu-se se havia presença do CL, do diâmetro luteal, perfusão sanguínea do CL e do endométrio.

Nas avaliações ultrassonográficas realizou-se a avaliação subjetiva da perfusão sanguínea do endométrio dos cornos uterinos. Para a obtenção da imagem, efetuou-se o escaneamento dos cornos uterinos direito e esquerdo, de modo que existisse uma imagem de um corte longitudinal com a probe localizada na metade de cada corno uterino. A classificação foi dada em escores de 0 a 4, de acordo com a imagem obtida de cada corno uterino, sendo zero (0): irrigação mínima; e quatro (4): irrigação máxima (Ginther 2007).

A avaliação do maior folículo foi realizada no 8° e 10° dia do protocolo de IATF. Para verificar o diâmetro do folículo dominante, obteve-se a média aritmética entre duas mensurações na secção transversal do folículo. A perfusão sanguínea foi realizada de modo subjetivo, e o escore foi determinado por percentual de irrigação sanguínea na área total do folículo (%VFOL) (Abdelnaby *et al.*, 2018).

A avaliação do corpo lúteo foi realizada por exame ultrassonográfico no 16° dia após a inseminação artificial. Para verificar o diâmetro luteal, obteve-se a média aritmética entre duas mensurações na maior secção transversal do CL. A avaliação da perfusão sanguínea do CL foi desenvolvida de modo subjetivo, e o escore de classificação foi dado de 0 a 4, sendo “zero” irrigação mínima, e “quatro” irrigação máxima (Ginther 2007; Pugliesi *et al.*, 2017).

3.6 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de exames ultrassonográficos, 30 dias após a IATF. Os indicadores de gestação desenvolvidos neste estudo foram a identificação da vesícula embrionária com o embrião e a presença de batimentos cardíacos. A taxa de prenhez foi definida com o número de vacas prenhes dividido pelo total de vacas submetidas à IATF em cada grupo experimental.

3.7 Análise estatística

Para a análise dos dados, foi utilizado o *Statistical Analysis System* (SAS OnDemand).

As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de Shapiro-Wilk e de Bartlett para a verificação da normalidade dos erros e da homogeneidade de variâncias, respectivamente. Os dados de diâmetro de corpo lúteo foram submetidos à transformação logarítmica ($y' = \log(y)$) para serem analisados e os resultados foram apresentados na escala original.

As variáveis de diâmetro do maior folículo, da perfusão sanguínea do maior folículo, do diâmetro do corpo lúteo, e do número de folículos foram submetidas à análise de variância (*GLM Procedure*), considerando o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

em que: Y_{ij} , resposta observada;

μ , constante;

T_i , efeito do tratamento;

e e_{ij} , erro aleatório.

As variáveis qualitativas de perfusão sanguínea do endométrio esquerdo e direito, a perfusão sanguínea do endométrio ipsilateral ao ovário com maior folículo ou corpo lúteo, bem como a perfusão sanguínea do corpo lúteo, inclusive o aspecto do corpo lúteo foi analisado por meio de medianas (*Npar1way Procedure*).

As taxas de gestação entre os tratamentos foram comparadas pelo teste exato de Fisher (*Freq Procedure*).

Correlações entre as variáveis foram notadas pelo coeficiente de correlação de Spearman (*Corr Procedure*). O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O escore de condição corporal variou de 2 a 3,25 nas vacas que foram submetidas ao protocolo de IATF, obtendo-se média de 2,74 (DP = 0,25). Ressalta-se que a avaliação do ECC de vacas pós-parto consiste em uma ferramenta de grande valor para selecionar vacas com maior capacidade de conceber quando submetidas aos programas de IATF. Em vacas da raça Nelore (*Bos primogenitus indicus*), a pontuação de ECC é dada em uma escala de 1 a 5 pontos (Ayres *et al.*, 2009; Pfeifer *et al.*, 2017). Nesse cenário, Sá Filho *et al.* (2010) e Sales *et al.* (2011) evidenciaram que vacas da raça Nelore em pós-parto, com ECC menor que 2,75, apresentaram menor prenhez por inseminação, quando comparadas com vacas de ECC acima de 2,75.

Nessa lógica, nesta investigação, a taxa de ocorrência de estro foi de 73,3% (11/15) no grupo 1; 75% (15/20) no grupo 2; e de 81,25% (13/16) no grupo 3. Não houve diferença entre os grupos experimentais em relação à manifestação de cio ($p > 0,05$), uma vez que esta depende de vários fatores, como manejo nutricional, ambiental, fatores fisiológicos de cada animal e protocolo hormonal utilizado.

Segundo Richardson *et al.* (2016), a manifestação de cio influencia diretamente a taxa de concepção, onde vacas que manifestam cio antes da IATF têm maior taxa de prenhez. Nakamura *et al.*, (2005) e Richardson *et al.* (2016) descrevem a importância do estradiol no ambiente uterino e na capacitação do sêmen; contudo, o estradiol está em maior concentração naqueles animais que demonstram cio no período do estro.

Dentre os animais submetidos à ultrassonografia ovariana do folículo maior no 8º dia do protocolo de IATF (D8), houve semelhança entre os grupos experimentais ($p > 0,05$), tanto no diâmetro quanto na avaliação Color Doppler (*vide* Tabela 1). Também foi realizada a ultrassonografia Color Doppler de ambos os cornos uterinos e analisada a perfusão sanguínea do endométrio, cujos grupos apresentaram como média o escore de 0,5 (*vide* Tabela 2) – com escore bastante semelhante na avaliação do endométrio ipsilateral ao folículo de maior diâmetro (*vide* Tabela 2).

O motivo pelo qual os resultados apresentarem semelhança entre os grupos se justifica na medida em que as fêmeas estiveram sob efeitos dos mesmos hormônios até o momento do protocolo de IATF. Para Ginther (1996), o diâmetro do folículo maior, na ocasião da seleção do folículo dominante em animais *Bos primogenitus indicus*, é de 5,5 a 6 mm, assim como o tamanho do folículo no momento da ovulação corresponde a 11 e 12 mm nas fêmeas zebuínas.

No décimo dia do protocolo de IATF, dia em que foi realizada a inseminação artificial em todos os animais, bem como a avaliação ultrassonográfica do folículo dominante e do endométrio, encontrou-se, na avaliação do diâmetro (DMF) e na perfusão sanguínea (PSMF) do folículo maior ou folículo dominante, uma diferença nos valores médios obtidos entre os grupos de acordo com os hormônios aplicados no D8, com os seguintes resultados: no grupo 1, foram administrados 300 UI de eCG. No D8, as fêmeas apresentaram DMF $12,97 \pm 0,81$ mm e PSMF de $16,36 \pm 3,57$ %.

No grupo 2, foram administrados 1500 UI de hCG. No D8, as fêmeas apresentaram DMF $9,63 \pm 1,75$ mm e PSMF $15,00 \pm 7,72$ %. Já no grupo 3, em que foi aplicado somente o CE e PGF2 α no D8 e 1500 UI no dia da inseminação ou D10, as fêmeas apresentaram DMF $13,19 \pm 0,76$ mm e PSMF $17,69 \pm 3,34$ % (*vide* Tabela 1).

Nessa avaliação, chama-se a atenção para o fato de, no grupo 2 (hCG, D-8), as fêmeas já estarem ovuladas no momento da inseminação artificial, que ocorreu 48 horas após a aplicação de hCG, corroborando o estudo de Prata *et al.* (2018), os quais observaram as ovulações precoces nas vacas da raça Nelore submetidas a protocolos de IATF que foram administrados 300 UI e 200 UI de hCG no D8 do protocolo.

No estudo de Cabrera *et al.* (2021) a ovulação induzida pela aplicação de 2500 UI de hCG, de modo intramuscular, no sétimo dia do ciclo estral em vacas leiteiras lactantes, ocorreu $33,7 \pm 0,6$ horas. Liu *et al.* (2019) verificaram que o tempo após a administração de hCG (3000 UI) a ovulação ocorreu $34,3 \pm 2,5$ horas após a aplicação. O aumento das taxas de ovulação – notadas em vacas tratadas com hCG – pode provavelmente ser atribuído à capacidade de o hCG exógeno atuar diretamente nos receptores foliculares de LH.

A avaliação da perfusão sanguínea do endométrio, realizada no 10^o dia do protocolo de IATF, mostrou-se como um parâmetro positivo para ser avaliado em relação ao endométrio ipsilateral ao folículo de Graaf ou ovulatório, estando mais irrigado. Ademais, houve, em todos os grupos experimentais, aumento crescente na irrigação endometrial entre o D8 e D10. O que pode explicar esse fato é o efeito do estrógeno no endométrio, aumentando sua atividade e perfusão sanguínea. O estudo de Angioni *et al.* (2011) mostra os efeitos do hCG no útero bovino, embora essa gonadotrofina já tenha sido testada em miométrio humano e suíno. No miométrio humano, o hCG exerce um efeito útero relaxante tanto durante a fase proliferativa e secretora do ciclo menstrual quanto na gravidez (Eta *et al.*, 1994; Doheny, 2003). Tal efeito também foi evidente no miométrio suíno, desenvolvido por Flowers *et al.* (1991).

De acordo com Feral *et al.* (1990), a hCG pode causar liberação de norepinefrina, aumentando a irrigação sanguínea do útero, mas apenas durante o proestro. Com exceção das prostaglandinas, que tendem a atuar localmente no tecido, todas essas substâncias podem potencialmente ter efeitos no fluxo sanguíneo uterino (Ferruz *et al.*, 1991). Desse modo, o hCG causa a síntese de estrogênio e progesterona no ovário, bem como o LH, atuando como vasodilatadores. Além disso, conforme descrito por Rao *et al.* (2001), o hCG libera fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que opera como vasodilatador e também como fator angiogênico.

No experimento de Angioni *et al.* (2011) os resultados mostram claramente que o hCG exerce efeito relaxante no útero bovino. Os autores ainda relataram a probabilidade de um papel funcional dos receptores uterinos de LH/hCG nessa espécie, como proposto anteriormente por outros autores (Shemesh *et al.*, 1994; Ziecik *et al.*, 2007). Essas observações corroboram os relatos de Shemesh *et al.* (2001), em que a expressão do receptor LH/hCG e seu mRNA, no miométrio bovino, é maior durante a fase lútea do que na fase folicular.

Na avaliação realizada 16 dias após a inseminação artificial, foram observadas as características do corpo lúteo nos diferentes grupos tratados (*vide* Tabela 1). Com relação ao diâmetro do corpo lúteo (DCL), notou-se que o grupo 3 (hCG D-10) apresentou o diâmetro lútea maior que os demais grupos tratados (eCG D-8 = $20,85 \pm 1,96$ mm, hCG D-8 = $16,13 \pm 0,62$ mm e hCG D-10 = $21,36 \pm 2,25$ mm). Segundo Ginther (1996) as fêmeas *Bos promogenitus indicus* podem apresentar corpo lúteo de 17 a 21 mm. Neste estudo, o grupo experimental que utilizou a aplicação de hCG no dia da inseminação (grupo 3) apresentou-se acima da média em relação ao diâmetro do CL. Evidentemente, o que pode ter favorecido o desenvolvimento do CL, no grupo 3, é o diâmetro folicular estar maior que os outros grupos no D10 ($13,19 \pm 0,76$ mm), inclusive a aplicação do hCG, no dia da inseminação, que faz um efeito semelhante ao hormônio LH e tornar-se mais duradouro.

O diâmetro do folículo de Graaf diz respeito a um parâmetro que tem correlação direta com o tamanho do CL a ser formado, com a produção de progesterona e com as taxas de prenhez alcançadas após a IATF (Vasconcellos *et al.*, 2001; Perry *et al.*, 2007). De acordo com Beg e Ginther (2006), o período de divergência folicular em bovinos ocorre quando os folículos apresentam diâmetro maior que 7,2 mm, caracterizando-se pela maior presença de receptores para o LH. Em consequência, fica estabelecida uma relação entre o tamanho do folículo, a presença de receptores de LH e a taxa de indução da ovulação quando se aplica hCG ou GnRH (Geg; Ginther, 2006).

Cunha (2022) verificou que o tratamento com gonadotrofina coriônica humana administrada 7 dias após a ovulação aumentou o crescimento do corpo lúteo em comparação com vacas controle. Corroborando, Binversie *et al.* (2012) verificaram que vacas tratadas com hCG aumentaram o volume de tecido lúteo, inclusive as concentrações de P4, quando comparadas com vacas que receberam GnRH. Assim, de acordo com De Rensis (2010) o aumento no diâmetro total do corpo lúteo se dá pelo fato de que o hCG, no organismo bovino, promove efeito LH de forma duradoura.

Em relação à perfusão sanguínea do CL (*vide* Tabela 2), os grupos tratados não apresentaram valores de escores diferentes entre si ($p > 0,05$), porém o grupo 2 (hCG-D8) teve a perfusão sanguínea bastante inferior aos demais grupos, sendo escore de 1,75.

O aspecto do CL, também avaliado após 26 dias do início do protocolo (D26), teve significância positiva, visto que, no grupo 3, todos os animais apresentaram sua massa luteal homogênea (*vide* Tabela 2).

A avaliação da perfusão sanguínea do endométrio ipsilateral ao CL, realizada 16 dias após a inseminação artificial (D26) apresentou maior perfusão ($p = 0,0171$). Além disso, o endométrio, cujo corno uterino estava presente o CL no ovário, manteve com irrigação elevada em relação ao endométrio oposto.

A taxa de gestação, realizada 30 dias após a inseminação artificial entre os grupos experimentais, desenvolvida por meio do teste exato de Fisher, obteve significância positiva ($p = 0,0015$). De acordo com a Figura 4, o grupo eCG-D8 obteve 28,6%, o hCG D-8 obteve 0%; e hCG D-10 recebeu 43,8% de gestação. O fato de se ter a administração de hCG no 8º dia do protocolo, no grupo 2, fez com que as vacas antecipssem a ovulação em relação ao horário de inseminação, resultando em 0% de gestação.

Entretanto, em comparação entre o grupo 1 e o grupo 3, realizada pelo teste exato de Fisher, não houve diferença entre si ($p = 0,4664$; Figura 5), embora, em números absolutos, no grupo 3, o valor médio se mostrasse maior que o valor médio obtido no grupo 1 para a taxa de prenhez. Provavelmente, o número amostral em ambos os grupos de tratamento foi determinante a não observância de diferença entre os grupos. Analisando uma simulação com esses mesmos resultados na taxa de prenhez nos dois grupos e com número amostral de 200 vacas, haveria diferença entre os grupos quando observado a mesma proporção de vacas gestantes.

Neste estudo, observou-se apenas uma tendência na elevação da taxa gestação no grupo 3: a aplicação de hCG no dia da inseminação artificial. Esse resultado também foi semelhante

ao descrito por Dahlen *et al.* (2010), os quais observaram apenas tendência positiva no índice de gestação. No estudo de Bors *et al.* (2022), os autores verificaram que a taxa de gestação aumenta significativamente em programas de IATF, quando o hCG é usado em vacas no período de estresse térmico. Os autores mostraram que a administração de hCG no momento da inseminação artificial pode melhorar as taxas de prenhez na primeira IA em vacas pluríparas no pós-parto imediato.

O diâmetro do corpo lúteo apresentou correlação positiva com a perfusão sanguínea do corpo lúteo ($r = 0,52$; $p = 0,0017$) e com o aspecto do corpo lúteo ($r = 0,37$; $p = 0,0329$). Ou seja, os animais que tiveram o CL com maior diâmetro também tiveram melhor irrigação sanguínea e aspecto homogêneo. Da mesma forma, a perfusão sanguínea e o aspecto do corpo lúteo foram positivamente correlacionados ($r = 0,52$; $p = 0,0015$). Em suma, os animais com CL de maior perfusão sanguínea também apresentaram sua massa luteal de melhor qualidade.

Tabela 1 – Médias e desvios-padrão do diâmetro folicular, perfusão sanguínea folicular, número de folículos e diâmetro de corpo lúteo, em vacas submetidas a diferentes protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo – IATF.

Parâmetros	Tratamentos			p-valor*
	Grupo 1 eCG D-08	Grupo 2 hCG D-08	Grupo 3 hCG D-10	
DMF em D8 (mm)	11,36 ± 0,82	12,87 ± 0,69	11,90 ± 0,80	0,3583
DMF em D10 (mm)	12,97 ± 0,81	9,63 ± 1,75	13,19 ± 0,76	0,1840
PSMF em D8 (%)	19,29 ± 2,77	15,70 ± 2,32	24,13 ± 2,68	0,0695
PSMF em D10 (%)	16,36 ± 3,57	15,00 ± 7,72	17,69 ± 3,34	0,9330
Nº Fol. Ov. Esq. em D8	11,47 ± 1,20	11,80 ± 1,04	13,06 ± 1,16	0,5970
Nº Fol. Ov. Dir. em D8	11,20 ± 1,05	9,25 ± 0,91	11,44 ± 1,01	0,2126
DCL em D26 (mm)	20,85 ± 1,96 _{ab}	16,13 ± 0,62 ^b	21,36 ± 2,25 ^a	0,0219

^{a,b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença entre si, pelo teste de Tukey. * Valor de p pelo teste F ;

DMF: diâmetro do maior folículo. PSMF: perfusão sanguínea do maior folículo. DCL: diâmetro do corpo lúteo.

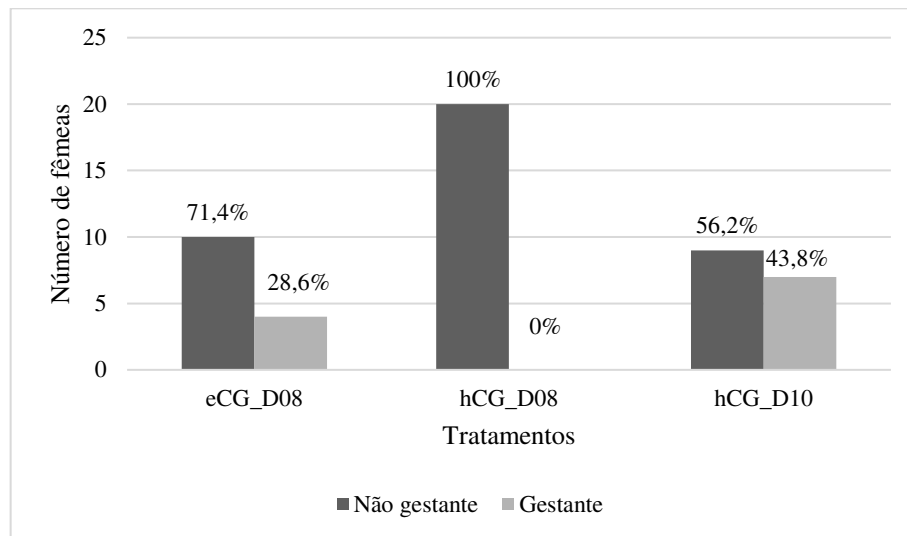
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 2 – Valores medianos (interquartil) de perfusão sanguínea de endométrio, perfusão sanguínea do corpo lúteo e aspecto do corpo lúteo, em vacas submetidas a diferentes protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo – IATF.

Parâmetros	Tratamentos			<i>p</i> -valor*
	Grupo 1 eCG D-08	Grupo 2 hCG D-08	Grupo 3 hCG D-10	
PSEE em D8	0.5 (0.5 - 1)	0.5 (0.5 - 1)	0.5 (0.5 - 1)	0,5527
PSED em D8	0.5 (0.5 - 2)	0.5 (0.5 - 1)	0.5 (0.5 - 0.5)	0,0099
PSEIp em D8	0.75 (0.5 - 1.5)	0.5 (0.5 - 1.25)	0.5 (0.5 - 0.5)	0,0243
PSEE em D10	1.5 (1 - 1.5)	0.5 (0.5 - 1)	1 (1 - 1.5)	0,0023
PSED em D10	1 (1 - 2)	0.5 (0.5 - 1)	1 (0.5 - 1.5)	0,0081
PSEIp em D10	1.5 (1 - 2)	1 (0.5 - 1.5)	1 (0.75 - 1.5)	0,5049
PSEE em D26	1 (0.5 - 2)	1 (0.5 - 1)	0.5 (0.5 - 1)	0,1586
PSED em D26	1 (1 - 2)	1 (0.5 - 1)	0.5 (0.5 - 1)	0,0113
PSEIp em D26	1.25 (1 - 2)	0.5 (0.5 - 1)	0.5 (0.5 - 1.25)	0,0171
PSCL em D26	2.5 (2.5 - 3)	1.75 (0.5 - 2.75)	3 (2 - 3.5)	0,2353
ACL em D26	3 (2 - 3)	2.5 (2 - 3)	3 (3 - 3)	0,0224

* Valor de *p* pela análise de medianas. PSEE: perfusão sanguínea endométrio esquerdo. PSED: perfusão sanguínea endométrio direito. PSEIp: perfusão sanguínea endométrio ipsilateral ao ovário com maior folículo ou corpo lúteo. PSCL: perfusão sanguínea do corpo lúteo. ACL: aspecto do corpo lúteo. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 4 – Taxas de gestação em vacas submetidas a diferentes protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo - IATF ($p = 0,0015$) pelo teste exato de Fisher.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5 CONCLUSÃO

Com o presente estudo, se verificou que a administração de hCG, 48 horas antes da inseminação artificial, impacta negativamente a taxa de prenhez, devido à ovulação antecipada no momento da inseminação artificial;

A administração da hCG, no momento da IATF, induz a ovulação, favorece o aumento do diâmetro, a perfusão sanguínea e o aspecto do corpo lúteo;

A perfusão sanguínea do endométrio aumenta de acordo com o desenvolvimento do folículo dominante, sendo maior no corno uterino ipsilateral ao folículo dominante, permanecendo maior até o momento da ovulação e após a formação do corpo lúteo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELNABY, E. A. *et al.* Dynamics of uterine and ovarian arteries flow velocity waveforms and their relation to follicular and luteal growth and blood flow vascularization during the estrous cycle in Friesian cows. **Theriogenology**, v. 121, p. 112-121, 2018.

ANGIONI, S. *et al.* In vitro activity of human chorionic gonadotropin (hCG) on myometrium contractility. **Gynecological Endocrinology**, v. 27, n. 3, p. 180-184, 2011.

AYRES, H. *et al.* Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v. 123, n. 2-3, p. 175-179, 2009.

BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PINHEIRO, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, n. 1-2, p. 9-22, 1995.

BARUSELLI, P. S. *et al.* Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise retrospectiva). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 228, 2004.

BARUSELLI, P. S. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em *Bos indicus*. **Anais**, 2006.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 205-211, 2007.

BARUSELLI, P. S. *et al.* Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 3, p. 146-167, 2008.

BARUSELLI, P. S. *et al.* Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, p. 308-314, 2019.

BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. **Reproduction**, v. 132, p. 365-377, 2006.

BENITES, N. R. Medicamentos empregados para sincronização do crescimento folicular e da ovulação para transferência de embriões. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**, 2006.

BINVERSIE, J. A.; PFEIFFER, K. E.; LARSON, J. E. Modifying the double-Ovsynch protocol to include human chorionic gonadotropin to synchronize ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 78, n. 9, p. 2095-2104, 2012.

BÓ, G. A. *et al.* Efeitos locais versus sistêmicos do estradiol-17 β exógeno na dinâmica folicular ovariana em novilhas com implantes de progestogênio. **Ciência da Reprodução Animal**, v. 59, n. 3-4, p. 141-157, 2000.

BÓ, G. A. *et al.* The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 53-72, 2002.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003.

BORGES, A. M. *et al.* Características da dinâmica folicular e regressão luteal de vacas das raças Gir e Nelore após tratamento com cloprostenol sódico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 85-92, 2003.

BORGES, A. M. *et al.* Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 346-354, 2004.

BORȘ, S. *et al.* Improving fertility in multiparous cows by inducing ovulation with gnrh agonist-gonadorelin or human chorionic gonadotrophin. **SCIENTIFIC PAPERS VETERINARY MEDICINE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE SERIA MEDICINĂ VETERINARĂ**, v. 48, p. 27. 2022.

BORȘ, S. *et al.* Inducing ovulation with human chorionic gonadotrophin improves cumulative pregnancy rates of dairy cows during the warm season. **SCIENTIFIC PAPERS VETERINARY MEDICINE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE SERIA MEDICINĂ VETERINARĂ**, v. 48, p. 23. 2022.

BURATINI JR, J. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 190-196. 2007.

BUTTREY, B. S.; BURNS, M.G.; STEVENSON, J. S. Ovulation and pregnancy outcomes in response to human chorionic gonadotropin before resynchronized ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 73, n. 4, p. 449-459. 2010.

CABRERA, E. M. *et al.* Replacing the first gonadotropin-releasing hormone treatment in an Ovsynch protocol with human chorionic gonadotropin decreased pregnancies per artificial insemination in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 8290-8300. 2021.

CARTER, F. *et al.* Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 368-375. 2008.

CUNHA, T.O. *et al.* Accessory corpus luteum induced by human chorionic gonadotropin on day 7 or days 7 and 13 of the estrous cycle affected follicular and luteal dynamics and luteolysis in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 3, p. 2631-2650. 2022.

CUNNINGAM, J. G. Ciclos Reprodutivos. *In*: AUTUMN, P.; GEORGE, H (Org.). **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1999. Cap. 36, p. 368-376.

DAHLEN, C. R. *et al.* Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 2337-2345. 2010.

DE MEDEIROS, S. F.; NORMAN, R. J. Human choriogonadotrophin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. **Human Reproduction Update**, v. 15, p. 69-95. 2009.

DE RENSIS, F. *et al.* Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. **Theriogenology**, v. 69, n. 9, p. 1077-1082, 2008.

DE RENSIS, F. *et al.* Reproductive performance of dairy cows with ovarian cysts after synchronizing ovulation using GnRH or hCG during the warm or cool period of the year. **Theriogenology**, v. 69, n. 4, p. 481-484, 2008.

DE RENSIS, F. *et al.* Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. **Theriogenology**, v. 73, n. 8, p. 1001-1008, 2010.

DIAS, E. A. R. *et al.* O uso de ECG influencia a taxa de concepção em vacas Nelore de diferentes condições corporais submetidas ao mesmo protocolo de IATF. **Boletim de Indústria Animal**, v. 70, n. 3, p. 215-220, 2013.

DHALIWAL, G. S.; MURRAY, R. D.; WOLDEHIWET, Z. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. **Animal Reproduction Science**, v. 67, n. 3-4, p. 135-152, 2001.

DO VALLE, E. R. *et al.* **O ciclo estral de bovinos e métodos de controle**. EMBRAPA-CNPGC, 1991.

DOHENY, H. C. *et al.* Human chorionic gonadotrophin relaxation of human pregnant myometrium and activation of the BKCa channel. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 9, p. 4310-4315. 2003.

ETA, E.; AMBRUS, G.; RAO, C. V. Direct regulation of human myometrial contractions by human chorionic gonadotropin. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 79, n. 6, p. 1582-1586. 1994.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da fêmea bovina: fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos)**. Juiz de Fora: Edição do Autor, 2010.

FÉRAL, C. *et al.* Stimulation by hCG of ovarian inactive renin synthesis in rabbit preovulatory theca cells. **Reproduction**, v. 89, n. 2, p. 407-414. 1990.

FERRUZ, J. *et al.* Liberação de noradrenalina do ovário de rata: modulação local pelas gonadotrofinas. **Biologia da reprodução**, v. 45, n. 4, p. 592-597. 1991.

FIGUEIREDO, R. A. *et al.* Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1489-1505, 1997.

FINK, G. Gonadotropin secretion and its control. **The physiology of Reproduction**, 1988, v. 1, p. 1349-1377.

FISCHER-TENHAGEN, C. *et al.* Eficácia de um tratamento com hCG 4 dias após AI para reduzir as perdas de prenhez em vacas leiteiras em lactação após ovulação sincronizada. **Reprodução em Animais Domésticos**, v. 45, p. 468-472. 2010.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 109-126, 2004.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Cap. 27, pag. 381-389.

FUNSTON, R. N. *et al.* Effect of administration of human chorionic gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1403-1405. 2005.

FLOWERS, B.; ZIECIK, A. J.; CARUOLO, E.V. Effects of human chorionic gonadotrophin on contractile activity of steroid-primed pig myometrium in vitro. **Reproduction**, v. 92, n. 2, p. 425-432. 1991.

GEARY, T. W., SALVERSON, R. R.; WHITTIER, J. C. Sincronização da ovulação usando GnRH ou hCG com o protocolo CO-Synch em vacas de corte amamentadas. **Revista de Zootecnia** v. 79, p. 2536-2541. 2001.

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

GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 1187-1194. 1996.

GINTHER, O. J. *et al.* Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v. 48, n. 1, p. 75-87, 1997.

GINTHER, O. J. Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography. **WI: Equiservices Publishing**, v.4, p. 258. 2007.

GONÇALVES, P. B. D. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Editora Roca, 2008.

GOTTSCHALL, C. *et al.* Antecipação da aplicação de prostaglandina, em programa de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 4, 2009.

GROOTHUIS, P. G. *et al.* Estrogen and the endometrium: lessons learned from gene expression profiling in rodents and human. **Human Reproduction Update**, v. 13, n. 4, p. 405-417, 2007.

GRUNERT, E. *et al.* Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia**, 2005.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Ciclos Reprodutivos. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (Org.). **Reprodução Animal**, 7. ed. Barueri, SP: Ed. Manole, 2004. cap. 4, p. 55-67.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed., p. 513, 2004. *In*: HAGIWARA, M.K. *et al* (Org.). Cunningham tratado de fisiologia veterinária. p. 1026-1032. 2014.

HANLON, D. W. *et al.* Supplementing previously treated anestrus dairy cows with progesterone does not increase first-service conception rate. **Theriogenology**, v. 63, p. 239-245. 2005.

KALLINGS, P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 9, p. 523-541. 1993.

KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. **Theriogenology**, v. 33, n. 6, p. 1269-1278, 1990.

LIU, T. C. *et al.* Effect of GnRH on ovulatory response after luteolysis induced by two low doses of PGF2 α in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 105, p. 45-50, 2018.

LIU, T. C. *et al.* Human chorionic gonadotropin (hCG)-induced ovulation occurs later but with equal occurrence in lactating dairy cows: comparing hCG and gonadotropin-releasing hormone protocols. **Journal of Reproduction and Development**, v. 65, n. 6, p. 507-514. 2019.

LONERGAN, P. K. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, v. 76, p. 1594-1601. 2011.

MANN, G. E. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. **Animal Reproduction Science**, v. 115, p. 296-299. 2009.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptor during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Bristol, v. 54, p. 317-328, 1999.

MARTINS, C. M. **Diferentes protocolos de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo em Bos taurus e Bos indicus**. 2007.

NAKAMURA, T.; SAKAMOTO, K. Reactive oxygen species up-regulates cyclooxygenase-2, p53, and Bax mRNA expression in bovine luteal cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 284, p. 203-210. 2001.

NAKAMURA, T. *et al.* Estrogen differentially regulates expression of Per1 and Per2 genes between central and peripheral clocks and between reproductive and nonreproductive tissues in female rats. **Journal of neuroscience research**, v. 82, n. 5, p. 622-630, 2005.

NISHIGAI, M. *et al.* Improvement of pregnancy rate in Japanese Black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. **Theriogenology**, v. 58, p. 1597-1606. 2002.

PERRY, G. A. *et al.* Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 684-689. 2007.

PFEIFER, L. F. M. *et al.* Development and validation of an objective method for the assessment of body condition scores and selection of beef cows for timed artificial insemination. **Livestock Science**, v. 197, p. 82-87, 2017.

PINHEIRO, O. L. *et al.* Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*Bos indicus* with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 α or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, n. 3, p. 667-681, 1998.

- PRATA, A. B. *et al.* Effect of different chorionic gonadotropins on final growth of the dominant follicle in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 111, p. 52-55, 2018.
- PUGLIESI, G. *et al.* Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 140-150, 2017.
- RAWY, M. *et al.* Effect of exogenous estradiol Benzoate on uterine blood flow in postpartum dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 192, p. 136-145, 2018.
- RAO, C. V.; ALSIP, N. L. Use of the rat model to study hCG/LH effects on uterine blood flow. *In: Seminars in Reproductive Medicine*, 2001, Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA, 2001. p. 075-086.
- RICHARDSON, B. N. *et al.* Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal reproduction science**, v. 166, p. 133-140, 2016.
- ROBINSON, R. S. *et al.* Expressão de receptores de ocitocina, estrogênio e progesterona em amostras de biópsia uterina ao longo do ciclo estral e início da gestação em vacas. **Reprodução**, v. 122, n. 6, p. 965-979, 2001.
- SAACKE, R. G. Insemination factors related to timed AI in cattle. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 479-484, 2008.
- SÁ FILHO, M. F. *et al.* Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v. 73, n. 5, p. 651-658, 2010.
- SÁ FILHO, M. F. *et al.* Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, n. 1-4, p. 23-30, 2010.
- SALES, J. N. S. *et al.* Fixed-Time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal reproduction science**, v. 124, n. 1-2, p. 12-18, 2011.
- SALES, J. N. S. *et al.* Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 78, n. 3, p. 510-516, 2012.
- SANTOS, J. E. P. *et al.* Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 2881-2894. 2001.
- SANTOS, J. E. P. *et al.* The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 513-535. 2004.

SARTORI, R. *et al.* Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 5, p. 1403-1409, 2001.

SCHMITT, E. J. P. *et al.* A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1915-1929. 1996.

SEGERSON, E. C. *et al.* Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v. 59, n. 4, p. 1026-1046, 1984.

SHEMESH, M. *et al.* Functional importance of bovine myometrial and vascular LH receptors and cervical FSH receptors. *In: Seminars in Reproductive Medicine*. Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.

SHEMESH, M. *et al.* Induction and regulation of the cyclooxygenase in the bovine endometrium. **Lipid Mediators in Health and Disease, Freund Publishing House Ltd., Tel Aviv, Israel**, p. 71-78. 1994.

SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. **Theriogenology**, v. 38, p. 85-96. 1992.

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

SIQUEIRA, L. C. *et al.* Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v. 38, p. 411-415, 2008.

STANFORD, J. B.; WHITE JR, G. L.; HATASAKA, H. Timing intercourse to achieve pregnancy: current evidence. **Obstetrics & Gynecology**, v. 100, n. 6, p. 1333-1341, 2002.

STENMAN, U. *et al.* The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. **Human Reproduction Update**, v. 12, p. 769-784. 2006.

STRONGE, A. J. H. *et al.* Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, n. 5, p. 1212-1224, 2005.

SUGIURA, T. *et al.* Relação entre a espessura endometrial bovina e as concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol no estro natural e induzido. **Revista de Reprodução e Desenvolvimento**, v. 64, n. 2, p. 135-143, 2018.

TORRES-JÚNIOR, J. R. S. *et al.* A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 151, n. 1-2, p. 9-14, 2014.

- ULBRICH, S. E. *et al.* Evidence for estrogen-dependent uterine serpin (SERPINA14) expression during estrus in the bovine endometrial glandular epithelium and lumen. **Biology of Reproduction**, v. 81, n. 4, p. 795-805, 2009.
- VASCONCELLOS, J. L. *et al.* Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. **Theriogenology**, v. 56, p. 307-314. 2001.
- VIEIRA, A. *et al.* Fatores determinantes do desempenho reprodutivo de vacas Nelore na região dos cerrados do Brasil Central. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 2408-2416, 2005.
- WALSH, S. W.; WILLIAMS, E. J.; EVANS, A. C. O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 123, n. 3-4, p. 127-138, 2011.
- WOLFENSON, David *et al.* Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. **Theriogenology**, v. 62, n. 6, p. 1042-1055, 2004.
- ZIECIK, A. J. *et al.* Novos papéis biológicos e possíveis funções aplicáveis do receptor LH/hCG. **Endocrinologia Molecular e Celular**, v. 269, n. 1-2, p. 51-60. 2007.